

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ
DOKTORA TEZİ

BAZI SÜT VE ÜREME ÖZELLİKLERİ İLE İLİŞKİLENDİRİLMİŞ BELİRLİ
SNPLERİN İKİ FARKLI SIĞIR IRKI İÇİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Vedat Karakaş

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Okan Ertuğrul

Temmuz 2017

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının; akademik kural ve etik ilkelere bağılı kalınarak hazırlandığını, çalışmada yararlanılan ve bu çalışma ürünü olmayan bütün bilgiler için kaynak yayınlara atıfta bulunulmuş olduğunu beyan ederim.

Doktora Öğrencisinin Adı Soyadı

Vedat Karakaş

İmzası

Prof. Dr. Okan Ertuğrul danışmanlığında, Vedat Karakaş tarafından hazırlanan bu çalışma 20/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Okan Ertuğrul İmza:

Üye :Prof. Dr. Aykut Özkul İmza:

Üye : Prof. Dr. Hilal Özdağ İmza:

Üye : Prof. Dr. Hatice Mergen İmza:

Üye : Doç. Dr. Bengi Çınar Kul İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Aykut Özkul

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

Bazı Süt ve Üreme Özellikleri ile İlişkilendirilmiş Belirli SNPlerin İki Farklı Sığır Irkı İçin Değerlendirilmesi

Vedat Karakaş

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Danışman: Prof. Dr. Okan Ertuğrul

Bu çalışma, üreme ve süt verimleri açısından birbirinden farklı iki ırk olan Siyah Alaca (Holstein) ve Yerli Kara sığır ırklarını, süt ve üreme ile ilgili fizyolojik yollarda görev alan bazı genlerde bulunan ve bir kısmı daha önceki çalışmalarda çeşitli üreme ve süt verim özellikleri ile ilişkilendirilmiş 58 SNP içeren bir panelle genotiplendirip allel ve genotip frekansları açısından karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Bahsedilen verim özellikleri açısından bariz derecede farklı olan bu iki ırkı kullanarak verimi etkileyen genler ve polimorfizmlere ilişkin çeşitli çalışmalarda elde edilen verileri desteklemek ve genetik bilginin seleksiyonda kullanılabilmesi çalışmalarına katkıda bulunmak hedeflenmiştir.

Çalışmada hayvan materyali olarak, 80 baş Yerli Kara ve 80 baş Siyah Alaca sığırı kullanılmıştır. Örnekler tesadüfi olarak seçilmiş, DNA izolasyonu ve genotiplendirme çalışmaları için kan alınmıştır. Kasp™ ticari adıyla bilinen allel spesifik PCR yöntemiyle çalışan genotiplendirme yöntemi kullanılmış ve elde edilen veriler değerlendirildiğinde 31 lokus polimorfik bulunmuştur. Bu 31 lokusun genotip ve allel frekansları Kikare testi ile karşılaştırılmış, 21 lokus allel frekansları açısından ($\alpha=0.01$; $df=1$; $\chi^2=6.635$), 17 lokus genotip frekansları açısından ($\alpha=0.01$; $df=2$; $\chi^2=9.210$), farklı bulunmuştur.

Çeşitli çalışmalardan seçilerek panele alınan 21 lokustan 2 tanesi her iki örnekte de polimorfizm göstermemiş, 8 tanesi ırklar arasında farksız bulunmuştur. 11 adet lokus ise genotip frekansları açısından farklı bulunmuştur. Bu SNPlerin 8 tanesi sütle ilişkili *CSN1S1*, *CSN1S2*, *LALBA*, *PRL*, *LTF*, *DGAT1* genlerinde 3 tanesi ise daha çok üreme ve büyüme ile ilişkili *GHI*, *IGF1*, *LHCGR* genlerinde bulunan SNPlerdir. En dikkat çekici farklılık

LHCGR genindeki rs41256848 kodlu SNP lokusunda görülmüştür. Yerli Kara ırkında bütün bireyler homozigot TT iken Siyah Alacada TT (0.368), GG (0.132) ve GT (0.500) genotiplerinin hepsi gözlenmiştir. GG genotipinin hem toplam embriyo sayısı hem de transfer edilebilir embriyo sayısı açısından üstün olduğu bildirilmiştir (1).

Sonuç olarak, seçilen genlerin ve bu genler üzerindeki SNPlerin, süt ve üreme parametreleri açısından sığırlarda varyasyon kaynağı olabileceğine dair önceki çalışmalarda elde edilen sonuçları destekleyici veriler elde edilmiştir.

2017, 130 sayfa

Anahtar kelimeler: Sığır, Siyah Alaca, Yerli Kara, Süt, Üreme, Genetik, SNP

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

Assessment of Certain SNPs Associated with Some Milk and Reproduction Traits for Two Different Cattle Breeds

Vedat Karakaş

Ankara University Biotechnology Institute

Supervisor: Prof. Dr. Okan Ertuğrul

This study was conducted to compare two different cattle breeds by genotyping and comparing genotype and allele frequencies of 58 SNPs, some associated to milk and reproduction traits by previous studies, lying on genes involving in physiological pathways of those traits. It was the target of this study to support previous suggestions on that these genes and polymorphisms could explain variations in milk and reproduction traits and to contribute to the efforts making genetic information useful in selection by taking those considerably different breeds regarding milk and reproduction, as animal material of the study.

80 heads of animal from each breeds, Anatolian Native Black Cattle and Holstein, and 160 heads in total were selected randomly. Whole blood samples were collected to blood tubes with EDTA and DNAs were extracted by standard phenol:chloroform:isoamylalcohol method. A commercial allele specific oligo based SNP genotyping system called Kasp™ was used to genotype all samples. 31 loci were found to be polymorphic. After chi-square test, 21 of them differed by allele frequencies ($\alpha=0.01$; $df=1$; $\chi^2=6.635$), 17 of them by genotype frequencies ($\alpha=0.01$; $df=2$; $\chi^2=9.210$) between two breeds.

Two of SNP loci in the panel picked up from different studies were nonpolymorphic and eight of them were not different in terms of genotype frequencies. However, eleven loci were found to be different. Eight of those SNPs were on the milk related genes *CSN1S1*, *CSN1S2*, *LALBA*, *PRL*, *LTF*, *DGAT1* and three of them were on the reproduction and growth related genes. The most remarkable difference was in the SNP rs41256848 on *LHCGR* gene. All individuals of Anatolian Black Cattle had TT genotype whereas Holstein individuals showed

all three genotypes (TT:0.368; GG:0.312; GT:0.500). It has been reported that GG individuals are superior to TT ones in terms of total number of embryos and transferable embryo numbers (1).

In conclusion, the results of this study support the suggestions on that variations between individuals regarding milk and reproduction traits could be explained by these genes and SNPs on those genes. Further studies are required to understand to which extent these phenotypic variations are caused by which genes or polymorphisms.

2017, 130 pages

Keywords: Cattle, Holstein, Anatolian Native Black, Milk, Reproduction, Genetics, SNP

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Henüz 17 yaşında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına bağlı bir araştırma enstitüsünde başlayan çalışma hayatımın tamamı araştırma organizasyonu içerisinde geçti. Laborant olarak başladığım süreç üniversite eğitimimi tamamlamamla birlikte araştırmacı kimliği altında devam etti. Buna uygun olarak bir araştırmacının mutlaka akademik anlamda gelişmesi ve lisansüstü eğitimine, en azından doktora derecesini alana kadar devam etmesi gerektiğine olan inancımdan dolayı girdiğim bu yolda nihayet bu aşamaya geldim. Çok ağır bir şekilde ilerlemiş olsam da aşağıda isimlerini de zikredeceğim birçok insanın da katkısı ile “Doktor” unvanını alma noktasına gelmenin mutluluğunu yaşıyorum. Yıllardır hayvancılık araştırmalarının içinde olmam hasebiyle tez konumu da bu alandan seçtim. Seleksiyon gibi, hayvancılık sektöründe çok önem verilen ve genetik bilgiye çok fazla ihtiyaç duyan ve de bu bilgi sayesinde klasik yöntemlerden çok daha hızlı bir ilerleme imkânının olduğu bir alanda uzmanlaşmanın hem kariyerim hem hizmet verdiğim kurum ve sektör açısından çok faydalı olacağına inanıyorum. Bundan sonra daha kaliteli, daha verimli araştırmalarla bu alandaki hizmetime devam etmek en büyük dileğimdir.

Oldukça uzun zaman alan bu süreçte, zaman zaman kızarak da olsa desteğini eksik etmeyen tez danışmanım Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı Başkanı iken emekli olan Prof. Dr. Okan Ertuğrul’a, hem beni öğrencisi olarak kabul ettiği hem de bitime kadar sabrettiği, bu yolu tamamlayıp devam etmem konusunda belki benden bile daha istekli olduğunu hissettirdiği için öncelikle ve özellikle teşekkür ederim. Tez İzleme Komitesi hocalarımdan ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Aykut Özkul’a, her daim teskin edici, bir öğrencisinden ziyade bir meslektaşısı gibi muhatap alan nezaket ve nezahet dolu yaklaşımı sebebiyle teşekkür ederim. Doktora programımda kendisinden ders de aldığım -bu süreçteki en sevdiğim derslerdi-Tez İzleme Komitesi hocalarımdan aynı zamanda Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Müdür Yardımcısı olan Prof. Dr. Hilal Özdağ’a, toplantılardaki yapıcı ve teşvik edici katkılarından, laboratuvarında çalışma imkânı vermesinden, derslerindeki ufuk açıcı yönteminden ve sadece bana değil ama bütün öğrencilerine arkadaş gibi yaklaşmasından dolayı teşekkür ederim. Tez Savunma Jürimin diğer değerli üyeleri Prof. Dr. Hatice Mergen ve Doç. Dr. Bengi Çınar Kul’a zamanlarını ayırarak savunma jürime katıldıkları ve verdikleri emek için teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez danışmanım Prof. Dr. Tülin Kutsal'a henüz yüksek lisans aşamasında vazgeçmek üzereyken beni motive edip doktora öncesi bu önemli aşamayı tamamlamamdaki paha biçilmez desteğinden dolayı teşekkür ederim. Çalıştığım kurumda bir dönem amirim de olmuş olan ve çok uzun yıllar beraber çalıştığımız, şu anda bir üniversitede öğretim görevlisi olarak akademik hayatına devam eden Yrd. Doç. Dr. Sema Yaman'a hem iş hayatımın hem akademik kariyerimin her aşamasında motive edici katkılarını, moral desteğini hiç esirgemediği için teşekkür ederim.

Prof. Dr. Hilal Özdağ hocamın öğrencilerinden Özge Cumaoğulları'na laboratuvar aşamasındaki çok değerli yardımlarından, bilgisini ve emeğini esirgemediğinden dolayı teşekkür ederim. Prof. Dr. Okan Ertuğrul hocamın öğrencileri Doç. Dr. Bengi Çınar Kul ve Dr. Nüket Bilgen ile bütün Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Doktora arkadaşım Didem Aydan'a hem literatürler konusundaki yardımlarından hem de doktoramı bitirmem konusundaki teşviklerinden dolayı teşekkür ederim. Doktora çalışmalarımın finans desteğini temin eden kurumum Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi ve bağlı bulunduğu Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğüne; örnek toplama ve anket çalışmaları sırasındaki destekleri ve yardımları için kurumumuz çalışanları Ziraat Mühendisi Dr. Engin Ünay, Veteriner Hekim Zülal Tavlı Yıldırım, Ziraat Sağlık Teknikeri Yüksel Doğan'a ve kurum müdürü Dr. Muharrem Satılmış nezdinde diğer tüm kurum çalışanlarına teşekkürü de bir borç bilirim.

Beni her zaman teşvik eden ve destekleyen, sabır ve güç timsali sevgili eşim Hatice Karakaş'a ve varlıkları bile tek başına motivasyon ve güç kaynağı olan sevgili yavrularım gözümün nurları Mert ve Arda'ya da, belki de onlara ayırmam gereken zaman ve enerjiden kısarık geldiğim bu noktadaki paylarından dolayı teşekkür ederim.

Son fakat en çok, bir ilkokul mezunu olarak bu serencamıma bir katkısı yokmuş gibi görünse de manen ve en güçlü şekilde, hiçbir şey yapamasa dualarıyla hep yanımda, arkamda, her daim destekçim olan sevgili annem Saadet Karakaş'a en derin, en minnet dolu teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1.SIĞIRLARDA ÜREME VE LAKTASYON	4
2.1.1.DİŞİ ÜREME SİSTEMİ VE FİZYOLOJİSİ.....	4
2.1.1.1.Östrus döngüsü.....	6
2.1.1.2.Diş Sığırlarda Üreme Fizyoloji.....	7
2.1.1.3.Hormonlar.....	8
2.1.2.MEME ANATOMİSİ VE LAKTASYON FİZYOLOJİSİ.....	12
2.1.2.1.Süt sentezi.....	15
2.1.2.2.Galaktopoesis.....	18
2.2.SİYAH ALACA VE YERLİ KARA SİĞİRLARI	19
2.2.1.SİYAH ALACA.....	20

2.2.2.YERLİ KARA	22
2.3.ISLAH VE SELEKSİYON	24
2.3.1.SELEKSİYON	24
2.3.2.GENETİK İLERLEME	26
2.3.3.VERİM KAYITLARININ ÖNEMİ	27
2.4.GENETİK BİLGİ VE SELEKSİYON	28
2.4.1.BELİRTEÇ DESTEKLİ SELEKSİYON VE GENOMİK SELEKSİYON	32
2.4.1.1.Moleküler Belirteçler.....	32
2.4.1.2.Bağlantı Dengesizliği ve QTL.....	33
2.4.1.3.SNP Genotiplendirme.....	37
2.4.1.4.Genomik Seleksiyon.....	40
2.4.2.ADAY GEN YAKLAŞIMI.....	42
3. GEREKÇE VE AMAC.....	42
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	50
4.1.MATERYAL.....	50
4.1.1.SİYAH ALACA	50
4.1.2.YERLİ KARA	50
4.2.YÖNTEM	51
4.2.1.SNP PANELİ.....	51
4.2.2.DNA İZOLASYONU.....	53
4.2.3.GENOTİPLENDİRME	53

4.2.4.ANKET ÇALIŞMASI	55
4.2.5.VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	56
4.2.5.1.Genotip Verileri.....	56
4.2.5.2.Anket Verileri.....	56
5. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	57
5.1.SNP GENOTİPLERİ	57
5.2.ANKET VERİLERİ	59
5.3.SNP GENOTİP VERİLERİNİN ANALİZİ.....	59
5.4.ANKET VERİLERİNİN ANALİZİ.....	65
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	66
6.1.TARTIŞMA.....	66
6.2.SONUÇ	77
7. KAYNAKLAR	79
EKLER	92
EK1:KASP™ ÇALIŞMA PRENSİBİ.....	92
EK2:AMİNOASİT KODLARI	93
EK3:NÜKLEOTİD VARYASYON KODLARI.....	94
EK4: SİYAH ALACA ÖRNEKLEMİNİN TÜRKVET SİSTEMİNDE KAYITLI KULAK KÜPE NUMARALARI	95
EK5:YERLİ KARA ÖRNEKLEMİNİN TÜRKVET SİSTEMİNDE KAYITLI KULAK KÜPE NUMARALARI	96

<u>EK6: YERLİ KARA HAYVAN MATERYALİNİN YETİŞTİRİCİLERİ VE LOKASYONLARI.</u>	<u>97</u>
<u>EK7: POLİMORFİZM BÖLGELERİNİN DİZİLERİ</u>	<u>98</u>
<u>EK8: GENOTİPLENDİRMEDE KULLANILAN FLORESAN BOYALAR VE PCR PROTOKOLLERİ</u>	<u>100</u>
<u>EK9: GENOTİPLENDİRMEDE KULLANILAN PCR PROTOKOLLERİ.....</u>	<u>101</u>
<u>EK10: YERLİ KARA HAYVANLARA AİT BİREYSEL VERİ TOPLAMAK AMACIYLA ÜRETİCİLERE YÖNELTİLEN SORULAR VE CEVAPLARI.</u>	<u>102</u>
<u>EK11: YERLİ KARA İRKİNİN BAZI VERİM ÖZELLİKLERİ HAKKINDA BİLGİ TOPLAMAK AMACIYLA ÜRETİCİLERE SORULAN SORULAR VE CEVAPLARI.</u>	<u>104</u>
<u>EK12: DNA EKSTRAKSİYON PROTOKOLÜ</u>	<u>106</u>
<u>EK13: PANELDE YERALAN GENLER VE SNPLER İLE İLGİLİ BAZI ÖZET BİLGİLER.....</u>	<u>108</u>
<u>ÖZGEÇMİŞ</u>	<u>110</u>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dişi sığır üreme organının anatomik yapısı (2).....	4
Şekil 2.2. Korpus Luteum (CL) (2)	5
Şekil 2.3. Yumurtalıktan çıkan oositin yumurtalık kanalı boyunca ilerleyişi (2)	6
Şekil 2.4. Foliküler faz sırasında hipotalamus, hipofiz ve ovaryum arasındaki ilişkiler(6)..	9
Şekil 2.5. Gebeliğin şekillenmediği 21 günlük östrus döngüsü (4).....	10
Şekil 2.6. 21 günlük östrus döngüsü süresince gerçekleşen anatomik ve hormonal değişimler (4).....	10
Şekil 2.7. Östrus döngüsü boyunca hormon konsantrasyonlarındaki değişimler (7)	11
Şekil 2.8. Sığır memesinin yapısı (9)	13
Şekil 2.9. Lobülün anatomik yapısı(9)	14
Şekil 2.10. Meme bezinde kan damarları ve miyoepitel hücreleriyle çevrili bir alveolus (11).....	15
Şekil 2.11. Süt lipitlerinin, proteinlerinin ve laktozun süt bezindeki alveollerini çevreleyen epitel hücrelerinden salgılanması (12).....	18
Şekil 2.12. Siyah Alaca ergin inek (14)	20
Şekil 2.13. Siyah Alaca ergin boğa (14)	21
Şekil 2.14. Yerli Kara ergin inek (23).....	22
Şekil 2.15. Yerli Kara ergin boğa (23).....	23
Şekil 2.16. Bir genin bütün elemanları ile yapısı (31).....	29
Şekil 2.17 Proteinlerin yapısal düzeyleri (32)	30
Şekil 2.18 Translasyon sonrası protein modifikasyonları (33).....	31
Şekil 2.19. DNA mikrodizininin çalışma prensibinin şematik gösterimi (37)	37
Şekil 2.20. RFLP şematik gösterimi (34)	38
Şekil 2.21. Tek Baz Uzaması (SBE) reaksiyonu ve deteksiyonu (38).....	38
Şekil 2.22. Allel Spesifik PCR (42).....	39
Şekil 4.1. SNPviewer programından bir örnek görüntü (rs29004487).....	53
Şekil 4.2. Validasyonda ortaya çıkan genotiplere çeşitli örnekler.	54
Şekil 5.1. KASPT™ SNP genotiplendirme sistemi kullanılarak yapılan genotiplendirmelerin kümelenme görüntüleri.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı türlerin süt kompozisyonları (11).....	16
Çizelge 2.2. 2015 yılı Avrupa bölgesi süt istatistikleri (Siyah Alaca) (15)	21
Çizelge 2.3. Çeşitli çalışmalarda elde edilmiş Siyah Alaca ırkına ait Laktasyon süt verimi (LSV), 305-gün süt verimi (305GSV), Laktasyon süresi (LS) ve Kuruda kalma süresi (KKS) değerleri	22
Çizelge 2.4. Çeşitli çalışmalarda elde edilmiş İlkine buzağılama yaşı (İBY), Buzağılama aralığı (BA), Servis periyodu (SP), Gebelik süresi (GS) ve Gebelik başına tohumlama sayısı (GBTS) değerleri.....	22
Çizelge 2.5. Bazı özelliklerin kalıtım dereceleri (29).....	25
Çizelge 2.6. Bazı süt özelliklerine ait kalıtım dereceleri (29)	26
Çizelge 2.7. Farklı kalıtım derecesindeki özelliklerde ve çeşitli sayıda akrabalardan yapılan damızlık değer tahmininin isabet dereceleri (29)	27
Çizelge 2.8. Özellik sınıflarına göre sığırlarda tespit edilmiş QTL sayıları.....	35
Çizelge 2.9. Özellik tiplerine göre sığırlarda tespit edilmiş QTL sayıları.....	36
Çizelge 2.10. Sığırlarda tespit edilmiş ilk 15 sırada yeralan QTL sayıları.....	36
Çizelge 2-11. Farklı istatistik modellerde gerçek ve tahmin edilmiş damızlık değerlerinin korelasyon ve regresyonları (43).	41
Çizelge 2-12. Fenotipik verilerin sayılarına göre bazı istatistik yöntemlerin isabet dereceleri (43).....	41
Çizelge 4.1. SNP lokusları hakkında bazı özet bilgiler.	51
Çizelge 4.2. Araştırmada kullanılan Yerli Kara materyali hakkında bireysel veri toplamaya yönelik anket formu.....	55
Çizelge 4.3. Yerli Kara ırkı hakkında yetiştiricilerden veri toplamaya yönelik anket formu	55
Çizelge 5.1. Polimorfizm göstermeyen lokuslar	57
Çizelge 5.2. Polimorfik lokusların ırklarda genotip sayıları	58
Çizelge 5.3. Her bir SNP için H_o (gözlenen heterozigotluk), H_e (beklenen heterozigotluk) ve PIC (polimorfik bilgi içeriği) (YK: Yerli Kara, SA: Siyah Alaca)	59
Çizelge 5.4. Her bir SNP için hem Yerli Kara (YK) hem de Siyah Alaca (SA) ırklarında genotip frekansları	60
Çizelge 5.5. Allel sayıları ve frekansları (YK: Yerli Kara, SA: Siyah Alaca).....	61
Çizelge 5.6. Genotip ve Allel frekanslarının iki ırkta χ^2 testi ile karşılaştırılması.....	62
Çizelge 5.7. Polimorfik bölgelerden elde edilen akrabalık katsayıları.....	63

Çizelge 5.8. 31 lokusla yapılan haplotip taramasında frekansı en yüksek ilk 5 haplotip....	64
Çizelge 5.9.31 lokuslu haplotip taramalarına ait bazı parametreler	64
Çizelge 5-10. Hayvan bazında sorulan sorular ve alınan cevapların tanımlayıcı istatistikleri	65
Çizelge 5.11. Üretici bazında sorulan sorular ve cevapların tanımlayıcı istatistikleri.	65
Çizelge 6.1. Nilsen ve arkadaşlarının çalışmasında bulunan allel frekansları ile karşılaştırma.	67



SİMGELER DİZİNİ

3'UTR	3' Untranslated Region
5'UTR	5' Untranslated Region
APEX®	Arrayed Primer Extension
BLUP	Best Linear Unbiased Prediction
CL	Corpus Luteum
dbSNP	SNP veribankası (NCBI)
df	degree of freedom, serbestlik derecesi
EDTA	Etilendiamintetraasetikası
FA	Fatty acid
FAO	Food and Agriculture Organization
FIL	Laktasyon Geri Besleme İnhibitörü
F_{is}	Akrabalık Katsayısı (Fixation Index/Inbreeding Coefficient)
GBLUP	Genomic BLUP
GLM	Generalized Linear Model
GWAS	Genome-Wide Association Study, Genom Boyu İlişkilendirme Çalışması
HAYSUD	Hayvancılık ve Su Ürünleri Araştırmaları Dairesi
He	Expected Heterozygosity
Ho	Observed Heterozygosity
ISAG	International Society for Animal Genetic Resources
IVP	In vitro Produced
KASP™	Kompetitive Allele Specific PCR
LD	Linkage Disequilibrium
LS	Least Square
MAS	Marker Assisted Selection, Belirteç Destekli Seleksiyon
NT	Nuclear Transfer

PIC	Polymorphic Information Content
PMID	PubMed-Indexed for MEDLINE (NCBI referans veritabanı)
QTL	Quantitative Trait Locus, Kantitatif Özellik Bölgesi
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RER	Rough Endoplasmic Reticulum,
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SA	Siyah Alaca (Holştayn/Holstein)
SBE	Single Base Extension (Tek Baz Uzaması)
SE	Standart Error
SER	Smooth Endoplasmic Reticulum,
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeats
STR	Short Tandem Repeats
TAGEM	Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
UHAEM	Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi
YK	Yerli Kara
α	Tip I hata
χ^2	Kikare

1. GİRİŞ

Genetik biliminin hızlı ilerleyişi ve teknolojinin bu alana girmesinin tıp bilimi başta olmak üzere canlı organizmaların dâhil olduğu araştırmalarda önemli etkileri olmuştur. Canlılarla uğraşan her bilim dalında olduğu gibi hayvanların araştırma materyali ve konusu olduğu bütün bilim dalları da genetik araştırmalar için verimli sahalara olarak öne çıkmış ve araştırmalar moleküler genetik araçlar kullanılarak yürütölmeye başlanmıştır. İnsan gıdasının önemli bir kaynağı olan hayvanlar ve hayvancılık faaliyetleri de bu sahalardan biridir.

Hayvancılığın birinci konusu verim artışıdır ki bu amaçla pek çok klasik yöntem yüzlerce yıldır uygulanmaktadır. Yeni nesilleri oluşturacak ebeveynlerin yani damızlık seçimi demek olan seleksiyon da başlıca yöntemlerden biridir. Fenotipik verim kayıtlarının tutulması ve bu kayıtlar üzerinden yapılan istatistik hesaplamalar ile damızlık değerinin tespit edilmesi, klasik seleksiyon yönteminin esasını oluşturur. Moleküler genetik teknolojilerin güçlenmesi, genetik bilginin giderek artması ve maliyetin düşmesi ile zor ve zaman alan klasik yöntemlerin alternatifi olabilecek umut verici genetik yöntemler üzerinde de çalışmalar yoğunlaşmıştır. Verimle ilişkili gen bölgelerinin tespit edilerek daha sonra bu bilgiden yararlanarak damızlık değer tespiti ve damızlık seçimi yöntemleri oldukça umut verici olmakla birlikte henüz klasik yöntemlerin yerini tam olarak alabilmiş değildir. Genetik bilginin her geçen gün artması ile yakın bir gelecekte bunun gerçekteşmesi mümkün olabilecektir.

Bu tezde hayvanlarda verimi etkileyen genler ve bu genlerdeki polimorfizmlerin ırklar arasındaki varyasyonları açıklayabileceğine ve bu noktadan hareketle genetik bilginin seleksiyon amacıyla kullanılabilmeğine vurgu yapılmıştır. Süt sığırıcılığında verimle birlikte fertilitede de dikkate alınması gereken bir konudur ve genetik araçlar sayesinde artık bunlar birlikte değerlendirilebilmektedir. Bir yönden seleksiyon yaparken bazı özellikler yönünden popölasyonun gerilemesi durumuna klasik yöntemlerde oldukça sık rastlanırken, genetik araçların devreye alınmasıyla seleksiyondaki bu yan etkilerin ortadan kaldırılabilme ve genetik ilerlemenin hızlanması imkânları doğmuştur.

Bu tezin konusu olan çalışmada birbirinden süt ve üreme özellikleri açısından bariz derecede farklı olan biri kültür diğeri yerli, iki sığır ırkı ve aralarındaki bu fark kullanılarak, fenotipik varyasyonu izah etmeye yönelik çabalara katkıda bulunulmaya çalışılmıştır. Elde edilen veriler ırklar arasındaki verim farklarının genler ve hatta polimorfizmler ile direkt ilişkilerinin kurulabileceği ve seleksiyon amacıyla bu ilişkilerin kullanılabileceği hipotezini destekler niteliktedir.



2. KURAMSAL TEMELLER

Bütün ekonomik faaliyetlerde olduğu gibi az girdi ile yüksek gelir elde etmek anlamına gelen verimlilik hayvancılık için de önemli bir kavramdır. Burada verim kavramı ile karıştırılmaması gereken verimlilik kavramı verimden farklı olarak maliyetleri ve kazancı gözetir. Verim ise daha çok hammaddenin ürüne dönüşüm oranını ifade eder. Verimlilik artışı için hayvancılık işletmelerinde yapılabilecek pek çok iyileştirme vardır ve bunlar daha çok çevresel faktörlerin iyileştirilmesini ifade eder. Verim artışı ise hayvan popülasyonunun genetik kapasitesinin çeşitli yöntemlerle artırılması yoluyla sağlanabilir.

Bu noktada karşımıza çıkan en önemli kavram ıslah kavramıdır ve bu amaçla uygulanan pek çok yöntemden biri de seleksiyondur. Gelecek nesilleri oluşturmak üzere yüksek kaliteli ebeveynlerin seçilmesi anlamına gelen seleksiyon, hangi verim özelliği açısından bir ilerleme sağlanmak isteniyorsa o özellikler açısından iyi olan hayvanların damızlık olarak seçilmesi şeklinde uygulanır. Süt sığırcılığında birincil olarak süt verimi dikkate alınmakla birlikte süt bileşenleri de önemli seleksiyon kriterleridir. Seleksiyonun düzgün uygulanabilmesi için verim kayıtlarının tutulması anahtar önemdedir.

Kuramsal temeller kısmında sığırlarda süt ve üreme fizyolojisinden, fizyolojik yollarda yer alan bazı önemli genlerden bahsedilmiştir. Islah ve seleksiyon kavramları hakkında da temel bilgiler verilmeye çalışılmıştır. Verim ve genetik ilişkisi söz konusu olduğunda karşımıza QTL (Quantitative Trait Loci) ve MAS (Marker Assisted Selection) kavramları çıkmaktadır ve kuramsal temeller başlığı altında bu konulara da değinilmiştir. Verimi etkileyen gen bölgelerinin DNA belirteçleri ile tespit edilmesi ve canlının verim kapasitesinin tahmin edilmesi prensibine göre uygulanan MASın bir ileriki düzeyi GWAS (Genome Wide Association Studies) özellikle moleküler araçların gelişmesiyle bütün genom üzerinden veri toplayarak verim kapasitesinin tahmini işinin daha isabetli yapılmasını ve genetik ilerlemenin hızlanmasını sağlayan günümüzün popüler yöntemlerinden biridir.

Bu tezde kısaca değineceğimiz bir diğer konu ise aday gen (Candidate Gene) yaklaşımıdır ki bu çalışma aslında küçük ölçekli bir aday gen/polimorfizm çalışmasına örnektir. Aday gen çalışmalarının ihtiyaç duyduğu en önemli temel, verimi etkileyen fizyolojik ve anatomik bilgilerdir. Bu bilgi ne kadar çok olursa aday genler ve polimorfizmler üzerinde yapılacak

çalışmalar daha sağlıklı olacaktır. Bu sebepten dolayı çalışmamızın konusu olan sığırlarda üreme ve laktasyonla ilgili anatomi ve fizyoloji hakkında bilgiler bu tezde sunulmaya çalışılan en öncelikli ve en kapsamlı kısmı teşkil etmiştir.

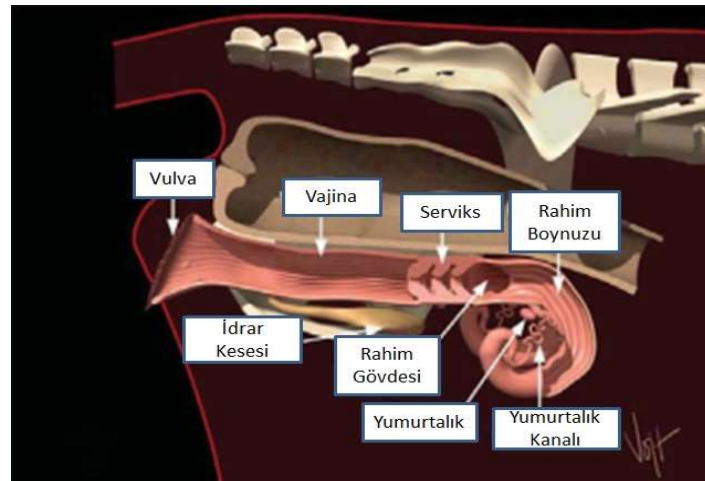
Seleksiyonun genetik kapasitenin artırılması ile ilgili olduğunu düşündüğümüzde moleküler düzeyde bilgiye erişmek bize bu konuda hızlı ilerleme şansı verebilir. Süt verimi gibi kayıtların ancak hayvan belli bir yaşa geldikten sonra elde edilebileceği, genetik bilginin ise teorikte embriyonik dönemde dahi ulaşılabileceği düşünüldüğünde eldeki imkânın değeri daha iyi anlaşılır.

2.1. SIĞIRLARDA ÜREME VE LAKTASYON

Üreme ve laktasyon aslında birbiri içerisine geçmiş fizyolojik yollardan oluşan süreçlerdir ve ayrı telaffuz edilmesi her ne kadar yanlış gibi görünse de hayvancılıkta farklı verim özellikleri olarak ele alındığından kuramsal temeller kısmında da farklı olarak ele alınarak izah edilmeye çalışılmıştır.

2.1.1. DIŞILERDE ÜREME SİSTEMİ VE FİZYOLOJİSİ

Dişi sığır üreme organının anatomisini inceleyecek olursak, iki yumurtalık (ovary), iki yumurtalık kanalı (oviduct), iki rahim boynuzu (uterine horn), rahim (uterine body), serviks (cervix), vajina (vagina) ve vulvadan (vulva) oluştuğunu görürüz. Şekil 2.1’de bu üreme organı kısımları görülmektedir.

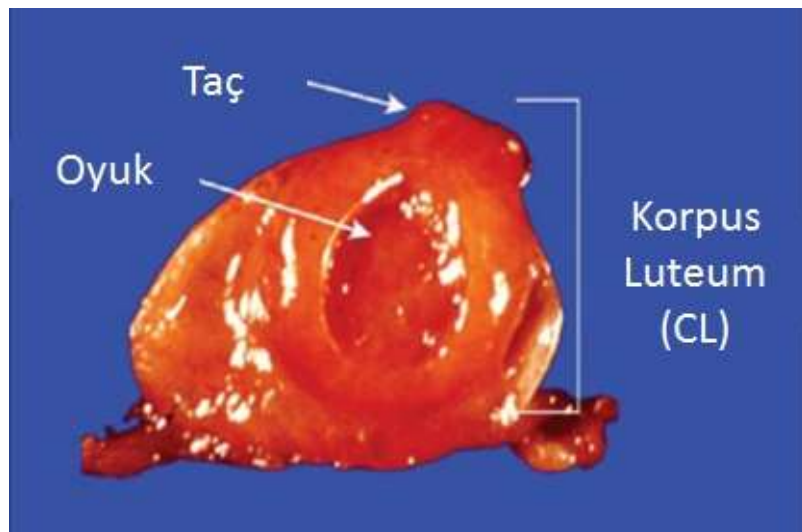


Şekil 2.1. Dişi sığır üreme organının anatomik yapısı (2)

Vulva üreme sisteminin dış açıklığıdır ve kızgınlık (östrus) dönemleri haricinde kuru ve buruşuk bir görünümündedir. Kızgınlığın takibinde vulvanın durumu önemli bir göstergedir. Kızgınlık yaklaştıkça şişmeye ve nemli kırmızı bir görünüm almaya başlar. Vajina vulvadan servikse kadar yaklaşık 15 cm uzunluğunda olup doğal çiftleşmede sperma vajinanın ön tarafına boşaltılır. Ayrıca doğum kanalı görevini de görür.

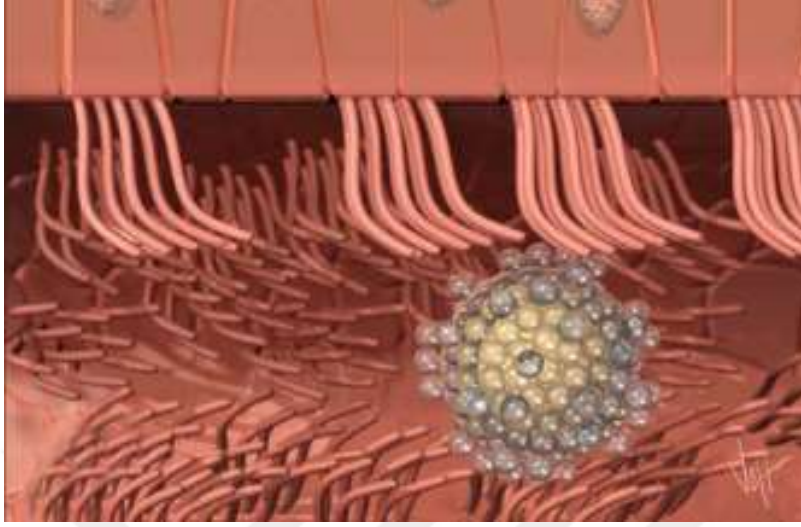
Serviks ince duvarlı, vajina ve rahim arasında bağlantıyı sağlayan bir organdır. Yapısı rahimi dış çevreden koruyacak şekilde gelişmiştir. Serviksin bir ucu vajinaya açılırken diğer ucu rahim gövdesine açılır. Rahim gövdesinden sonraki organlar çiftler halinde rahim boynuzları, ovaryumlar ve yumurtalık kanallarıdır. Rahimin en önemli görevi fötusun gelişimi için uygun bir ortam sağlamaktır. Yumurtalık kanalları fallop tüpleri (fallopian tubes) olarak da bilinir ve yumurtaları ovaryumdan döllenmenin gerçekleştiği bölgeye taşır. Ovaryumlar üreme sisteminin en önemli organıdır ve yumurta üretmek ve östrusun çeşitli aşamalarında östrojen ve progesteron salgılamak gibi iki önemli işlevi vardır.

Ovaryum üzerinde sıvı dolu foliküller ve korpus luteum (corpus luteum, CL) denilen iki yapı karşımıza çıkar. Ovaryumlardan birinin üzerinde diğerlerinden oldukça büyük dominant folikül denilen bir folikül bulunur ve yumurtlama işlemi en yüksek ihtimalle bu folikül tarafından gerçekleştirilir. Diğer foliküller zamanla yok olup yerini yenileri alır. Ovaryum üzerindeki diğer yapı Şekil 2.2’de görülen, bir önceki döngüde ovulasyonun gerçekleştiği korpus luteumdur. Eğer ikiz ovulasyon gerçekleşmemişse iki ovaryumdan sadece birinde oluşur.



Şekil 2.2. Korpus Luteum (CL) (2)

Ovulasyon sonucu oluşan oosit yumurtalık kanalı boyunca Şekil 2.3’de görülen tüysü yapılar tarafından itilerek döllemenin gerçekleşeceği rahim boynuzuna doğru ilerler.



Şekil 2.3. Yumurtalıktan çıkan oositin yumurtalık kanalı boyunca ilerleyişi (2)

2.1.1.1. Östrus Döngüsü

Sığırlar yaklaşık 270-280 günlük bir gebelik süresi ve yine yaklaşık 2 aylık anöstrus yani kızgın olmadan geçirdikleri süre hesap edildiğinde yılda ancak bir doğum yapabilirler (3). Bu yüzden her kızgınlık döngüsü önemlidir ve bu sürenin her başarısız serviste yani tohumlamada 21 gün kadar bir kayıp söz konusu olabilir. Bunun önüne geçebilmek için hem çevresel faktörleri hem de genetik faktörleri göz önünde bulundurmak gerekir.

Fertil olan dişi sığırlarda 18-21 günde tekrarlayan ve değişen hormon düzeylerine bağlı olarak üreme sisteminde pek çok değişikliğin meydana geldiği döngülere östrus döngüsü denir. Bu döngü sıfırıncı günden başlayarak şu şekilde ilerler:

Ovaryumlardan birinde olgun ve yumurtalık kanalına salınmaya hazır bir yumurta taşıyan 15-20 mm çapında bir folikül bulunur. Folikülü çevreleyen hücreler östrojen hormonu salgılar. Bu hormon sistemik dolaşıma salgılanır ve vücudun bütün organlarına ulaşarak vücutta çeşitli tepkilerin oluşmasına sebep olur.

Üreme sistemini ve nasıl çalıştığını iyi anlamak verimli bir hayvan yetiştiriciliği için önemlidir. Bir dişi sığırın sağlıklı bir kızgınlık döngüsüne sahip olması, çiftleşebilmesi, gebe kalması, doğum yapması ve yavrusunu besleyebilmesi ekonomik bir yetiştiricilik için

mutlaka göz önünde bulundurulması gereken özelliklerdir (4). Bu anlamda hayvanda göze çarpan her olumsuzluğun hem anatomik, hem fizyolojik hem de çevresel sebepleri olabilir ve bu sebepleri ortaya çıkarabilmek için başta da söylediğimiz gibi üreme sistemini ve üreme fizyolojisini iyi bilmek ve burada etkili olabilecek içsel ve dışsal faktörleri iyi anlamak gereklidir.

Üremenin iki temel organı aslında beyindedir ve hormonal ve sinirsel kontrol mekanizmaları ile üreme dahil pek çok süreci ve davranışı kontrol eden hipotalamus bu organlardan ilkidir. Vücut sıcaklığı, yeme ve içme güdülere, vücut sıvılarının içerik ve konsantrasyonları buradan kontrol edilir. Nöroendokrin bez olarak tanımlanan bu organ beyinden sinirsel uyarıları alır ve hormonal cevaplar oluşturarak ilişkili olduğu süreçleri kontrol eder (4).

Bir diğer organ hipofiz bezidir (pituitary gland). İçinde üremenin de olduğu, büyüme, metabolizma gibi süreçleri salgıladığı çeşitli hormonlarla kontrol eder. Arka (posterior) ve ön (anterior) hipofiz olmak üzere iki kısımdır. Her iki kısım farklı hormonlar salgılar.

2.1.1.2. **Dişi Sığırlarda Üreme Fizyolojisi**

Ovaryum, oogenesis denilen bir süreçle spermatogenesisin sürekli olmasının aksine, belirli döngüsel periyotlarda yumurta üretir. 20 – 21 gün süren bu döngüler östrus (kızgınlık) döngüsü olarak adlandırılır ve birçok farklı hormonun birlikte kontrol ettiği ve vücutta pek çok değişikliğe sebep olan bir olaydır. Bu süreçte ovaryum üzerinde folikül ve corpus luteum (CL) denilen iki temel yapı oluşur. Gelişme ve baskılanma fazları sürekli birbirini takip eden süreçler şeklinde devam eder (5).

Foliküller, primer folikül adı verilen ve içerisinde etrafı düz hücrelerle sarılı oositleri barındıran yapılardan oluşmaya başlar. Bu primer foliküller her bir ovaryumda binlerce sayıda bulunur. Gelişme fazı tamamlandığında bu hücre yumurtayı oluşturan ve Graf folikülü de denilen dominant foliküle dönüşür. Foliküler gelişimle birlikte vücutta, özellikle uterusda döllenme için uygun ortamı oluşturmak üzere başka değişiklikler de olur ve dişinin yumurtası ve erkeğin spermasının birleşeceği ve gebeliğin şekilleneceği bir süreç tamamlanmış olur (2).

Ovulasyondan sonra hipofiz hormonlarının kontrolünde yürüyen ve lüteinleşme (luteinization) denilen bir süreç sonunda ise corpus luteum (CL) denilen ikinci bir ovaryum yapısı oluşur. Bu yapı ovulasyondan sonra boşalan folikülde biriken pıhtımsı yapının dönüşümüyle östurusun beşinci gününe kadar oluşmuş olur. Beşinci günle onbeşinci gün arasında aktiftir ve progesteron hormonu salgılar (4). Yeni bir folikülün gelişme süreci başladığında ise baskılanıp corpus albican denilen pasif yapıya dönüşür.

Gebelik oluşmadığı sürece bu döngü bu şekilde devam eder. Gebelik şekillenecek olursa CL baskılanması gerçekleşmez ve progesteron salınımı gebeliğin sonuna kadar sürekli bir şekilde devam eder ve dolayısıyla yeni folikül ve yumurta gelişmez döngü durur.

Corpus luteumun canlı hamile olmasa bile olması gerektiği gibi baskılanmadığı nadir durumlara ya da kısa süreli östrus döngüsü gibi anormal durumlara rastlanabilir. Bazen kızgınlık olur fakat ovulasyon gerçekleşmez bazen ovulasyon gerçekleşir fakat kızgınlık görülmez. Bütün bu durumlar üreme verimini etkiler. Kızgınlığın toplulaştırılması amacıyla hayvanlara prostoglandin denilen bir hormon enjekte edilerek döngünün süresi kısaltılabilir. Böylece sürüdeki dişiler aynı dönemde kızgınlığa gelmeleri sağlanarak suni tohumlama işlemi aynı zamanda yapılır ve doğumlar da hemen aynı dönemlerde gerçekleşir. Sürü idaresi açısından kolaylık sağlayan bu uygulama sıkça kullanılır (4).

2.1.1.3. **Hormonlar**

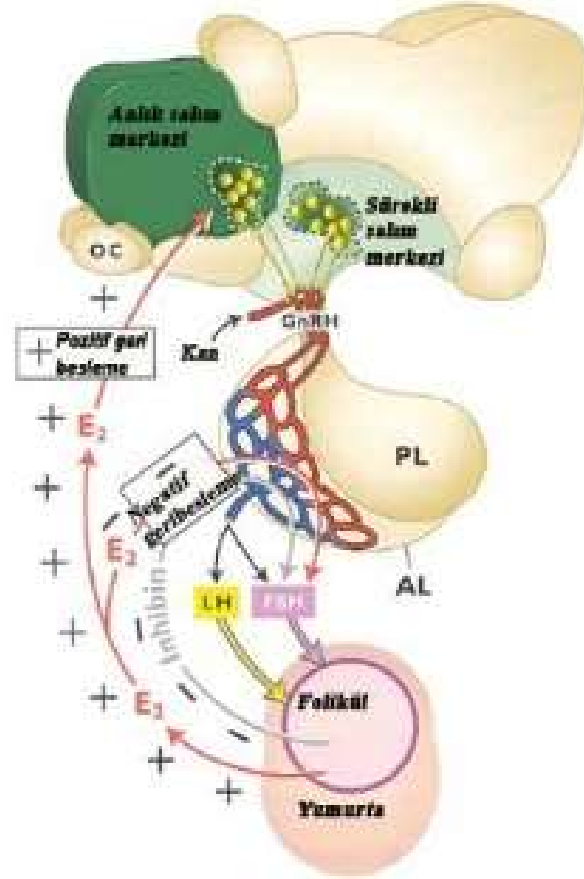
Reproduktif fizyolojiyi kontrol eden hormonlar endokrin bezlerdeki hücrelerden salınarak kana karışır ve hedef organlara ulaşarak fonksiyonlarını yerine getirirler.

Östrojen hormonu ovaryumlardaki Graf foliküllerinden salgılanır. Östrojen hormonu özellikle ikincil cinsiyet organlarının gelişimi ve fonksiyonunda görev alır. Henüz cinsel olgunluğa erişmemiş puberta öncesi dişileri ya da doğum sonrası hayvanları cinsel aktivite döngüsüne hazırlar Büyümenin tipini ve hızını kontrol eder. Kızgınlık davranışlarının başlamasında rol alır (2).

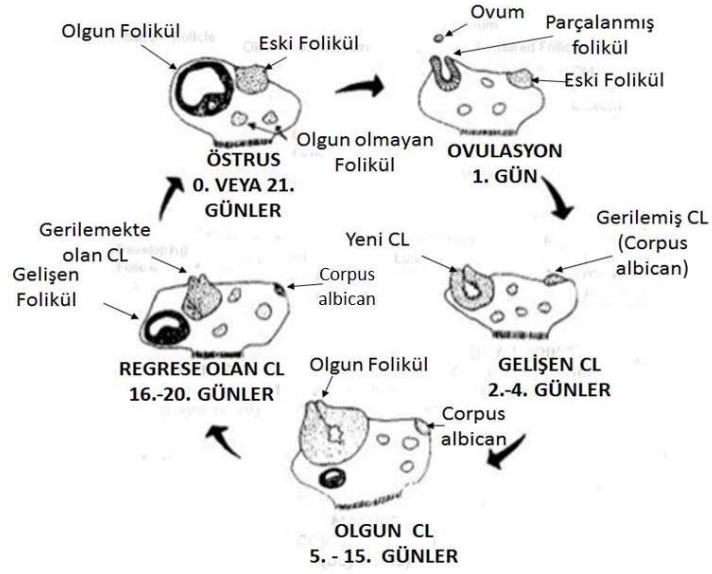
Progesteron hormonu corpus luteumdan salgılanır ve foliküllerin gelişimini ve östrojen salgılanmasını baskılar. Östrojenin düşük ve progesteronun yüksek düzeyi birlikte hayvanın östrus döngüsüne girmesini engeller. Bu iki hormon birlikte bulunurlar ve tahterevalli

hareketi şeklinde birinin miktarı artarken diğerkinki azalır. İkisinin birbirine oranları kızgınlık davranışlarının başlangıcını ve süresini belirler. Östrojen sperm taşınımına yardım edecek şekilde uterusun ovulasyon ve östrus dönemine yakın dönemde kasılmasına sebep olurken, progesteron gebelik durumunda sorun olmaması için uterusu gevşetici etki gösterir (5).

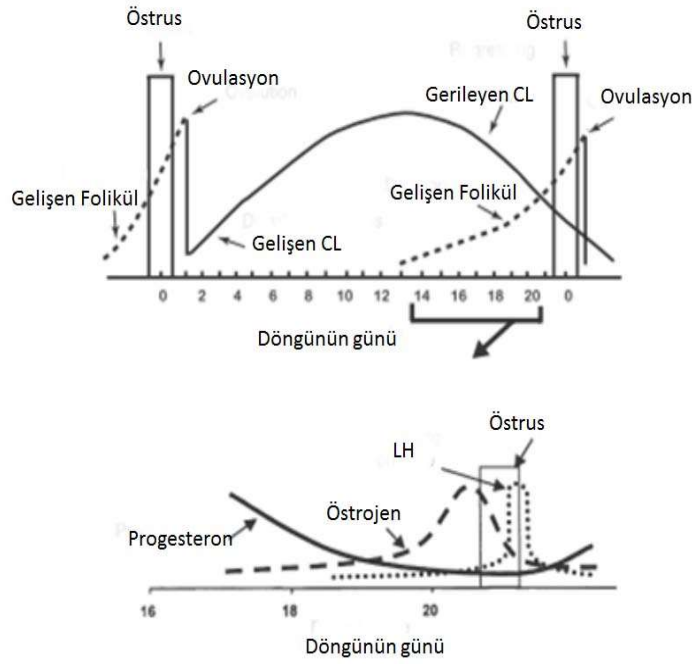
Ovaryum direkt olarak gonadotropik hormonlar denilen ve ön hipofizden salgılanan hormonların etkisi altındadır. *FSH* (follicle stimulating hormone) ve *LH* (luteinizing hormone) hipofizden salgılanarak kan yoluyla ovaryumlara ulaşır. *FSH* folikül gelişimini ve fonksiyonunu kontrol ederken, *LH* gelişmiş foliküllerin parçalanarak ovulasyonun gerçekleşmesini ve daha sonrasında CLnin oluşmasını kontrol eder. *FSH* ve *LH* salınımı ise hipotalamustan gelen ve bu hormonların salınması sinyalini veren GnRH (gonadotropic releasing hormone) ile düzenlenir (5, 6).



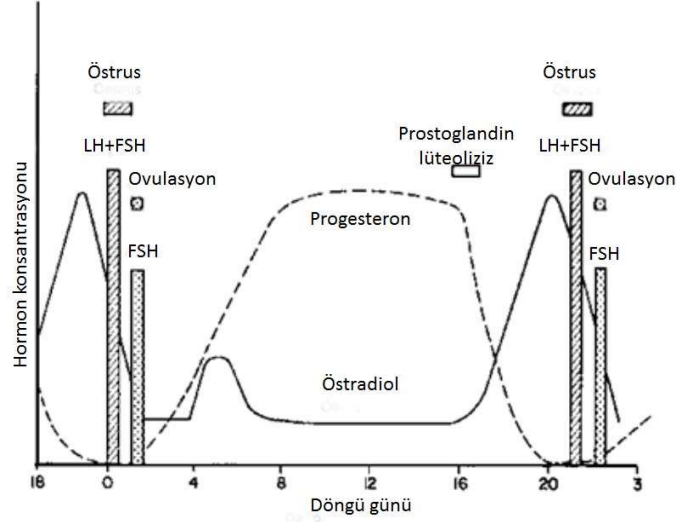
Şekil 2.4. Foliküler faz sırasında hipotalamus, hipofiz ve ovaryum arasındaki ilişkiler AL=Anterior Lobe, E2=Estradiol, OC= Optic Ciasma, PL=posterior Lobe (6)



Şekil 2.5. Gebeliğin şekillenmediği 21 günlük östrus döngüsü (4)



Şekil 2.6. 21 günlük östrus döngüsü süresince gerçekleşen anatomik ve hormonal değişimler (4)



Şekil 2.7. Östrus döngüsü boyunca hormon konsantrasyonlarındaki değişimler (7)

Genetik faktörler, üreme anatomisi ve fizyolojisinde rol alan proteinleri kodlayan genlerle birebir ilişkilidirler. Hem genom ölçekli bağlantı çalışmaları (GWAS) hem de aday gen çalışmaları üreme ile ilgili fenotipik özellikleri kontrol eden genleri veya gen bölgelerini (QTL) ya da bunlarla ilişkili belirteçleri, ilişki düzeylerini ve fenotipik varyasyona katkı derecelerini bulmak amaçlı yapılan çalışmalardır.

Meme bezlerinin gelişimi de östrojen ve progesteron hormonlarına bağlıdır. Östrojen kanal sisteminin büyümesini sağlarken progesteron süt salgılayan alveollerin gelişimi için gereklidir. Başka pek çok hormon ve hormon benzeri kimyasallar da üreme sisteminde önemli görevler alırlar. Çok çeşitli vücut dokularında salgılanan ve farklı fonksiyonları olan prostaglandinler de bu hormonlardandır. Prostaglandin F2 α (PGF2 α) östrus döngüsünde etkili olan doğal luteolitik ajan olan temel prostaglandindir ve rahim dokusu tarafından üretilerek östrus ileri aşamalarında CLnin baskılanmasını ve gebe olmayan dişilerde yeni östrus döngüsünün başlamasını sağlar (5, 7, 8).

Gebe bir inekte gelişen embriyodan prostogalandin salgılanmasını durdurmak üzere bir sinyal gönderilir ve CL gebelik boyunca aktif kalarak progesteron salgılamaya devam eder. Östrus döngüsünün 6.-16. günleri arasında uygulanacak olan PGF2 α enjeksiyonu CLnin normal olmayan regresyonuna sebep olur. İlk ve son 5 günde PGF2 α enjeksiyonu östrus senkronizasyonu için kullanılan araçlardan biridir. Östrojen, prostaglandin, progestin ve GnRH hormonları çeşitli kombinasyonlarda bu amaçla kullanılabilir. Östrus senkronizasyonu suni tohumlama ve embriyo transferi gibi yardımcı üreme tekniklerinin

daha ekonomik ve planlı programlı uygulanması için sıkça kullanılan ve büyük işletmelere avantaj sağlayan bir yöntemdir (5, 7, 8).

2.1.2. MEME ANATOMİSİ VE LAKTASYON FİZYOLOJİSİ

Hayvanlarda süt verimini ve süt kompozisyonunu etkileyen bir çok çevresel faktör olduğu bir gerçektir. Bununla birlikte genetik faktörün ne şekilde ve ne düzeyde süt verimine ve kompozisyonuna etki ettiğinin çözümlenmesi ve genetiğin etkisinin damızlık seçiminde dikkate alınabilmesi için hem meme yapısının hem de laktasyon fizyolojisinin iyi anlaşılabilmesi gerekir.

Laktasyon fizyolojisi aslında üreme fizyolojisi ile iç içe geçmiş bir süreçtir. Laktasyon fizyolojisindeki herhangi bir sorun üreme verimini de olumsuz etkileyecektir. Üreme sürecindeki bütün aşamalar başarılı olsa bile yeni doğanın ihtiyaçlarının en önemli kısmını karşılayacağı sütün üretilmemesi gibi bir sorun üreme sürecinde de sorun anlamına gelecektir.

Laktasyonu fizyolojik olarak 3 temel aşamaya bölebiliriz. Birincisi meme gelişimini ifade eden mamogenesis, ikinci olarak süt üretimini ifade eden laktogenesis ve sonuncu olarak da süt üretiminin belirli bir süre devam etmesini sağlayan galaktopoesis (9).

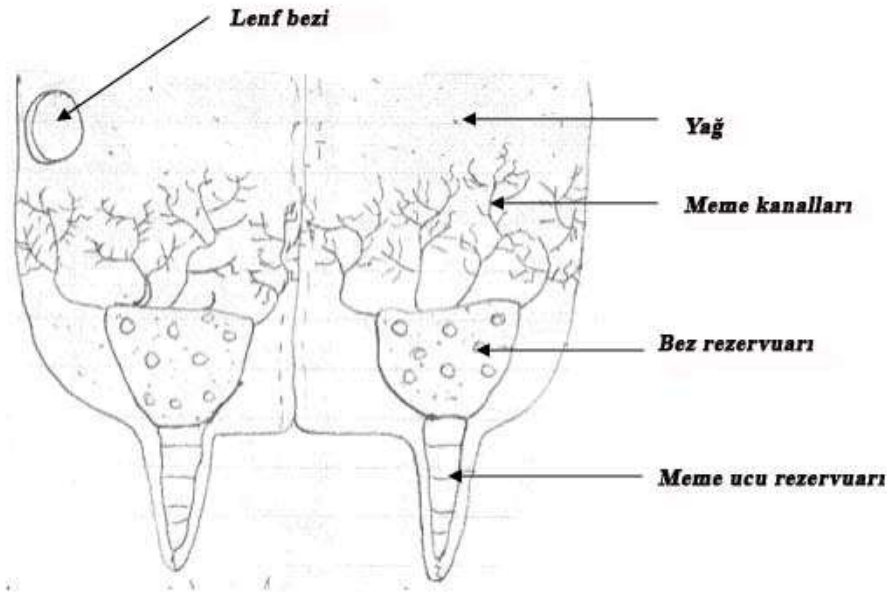
Meme gelişimi süt veriminin en önemli belirleyicilerindendir. Meme bezlerindeki alveol sayısı ve meme verimi arasındaki korelasyon 0.50-0.85 aralığında yüksek kabul edilebilecek bir oranda iken, fibroblast ve adipoz dokunun yüksek olması sığırlarda verim üzerinde olumsuz etkisi vardır (5).

Meme bezlerinin gelişimi embriyonik dönemde başlar ve doğumdan sonra da gelişmeye devam eder. Meme bezlerinin gelişimi embriyonik dönem ve ergenlik öncesi dönemde hormonal kontrol altında olmamakla birlikte, ergenlik, gebelik ve laktasyon dönemlerinde tamamen hormonların kontrolü altındadır. Gebelik ve doğum sonrası dönemde de hem yapısal olarak hem fizyolojik olarak ciddi değişimler yaşanır.

Meme dokusu ergenlik öncesi vücut büyümesi ile doğru orantılı giderken ergenliğin ilk dönemlerinde ovaryum aktivitelerinin başlamasıyla yani östrus döngüleriyle birlikte hızlanır

ve birkaç döngüden sonra tekrar normal hızına döner. Gebelik ve laktasyonla birlikte tekrar hızlı bir büyüme evresine geçerek yavrunun ihtiyaçlarını karşılamak üzere yeterli miktarda süt üretmek üzere başkalaşır. Her östrus döngüsünde meme dokusu ovaryumdan salgılanan östrojen ve prolaktin ile hipofizden salgılanan büyüme hormonu (somatotropin) tarafından uyarılır (9, 10).

Memenin yapısı üretilen sütün özellikle miktarı üzerinde önemli bir etkidir. Şekil 2.8'de ana elemanlarıyla bir meme yapısı görünmektedir.



Şekil 2.8. Sığırmemesinin yapısı (9)

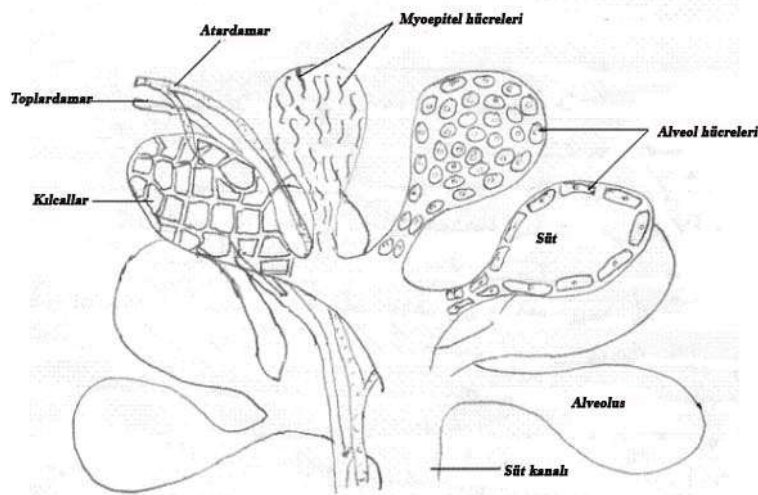
Memenin dış yapısı meme ve meme uçlarından oluşur. Sığırlarda 4 adet meme bezi bir arada memeyi oluşturur. Bu bezler her birinde bir tane olacak şekilde meme uçları yoluyla dışa açılır. Meme bezlerinde üretilen süt meme uçlarındaki açıklıktan buzağuların emmesi veya sağım yoluyla dışarı alınır. Bazı hayvanlarda çoğunlukla fonksiyonel olmayan yani herhangi bir meme bezi bağlantısı bulunmayan sahte meme uçları da olabilir ve bunlar genellikle 1 yaşından önce yok olurlar.

Meme uçlarının yapısı ve şekli üretilen sütün miktarından çok sütün sağımını etkileyen faktörlerdir. Sağım hızı ve sağım kolaylığı genetik-verim ilişkisinde çalışılan konu başlıklarındandır. Mastitis denilen meme hastalığı meme kanallarını tıkararak sütün sağılabilmesini önler. Tedavi edilmediği takdirde memenin körleşmesi gibi ciddi sonuçlara

sebepler olabilir. Bu yüzden mastitis sütün sığırcılığında mücadele edilen en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Sağımda hijyen konusunda dikkatli davranılarak ve düzenli olarak sütte mastitis testleri yapılarak önlem alınabilir.

Memenin iç yapısında bağ dokusu ve salgılayıcı dokular vardır. Bağ dokusu kollajen denilen fibröz yapılardan ve adipoz hücrelerinden oluşan yağ dokusundan oluşur. Bağ dokusu meme bezlerini görevini yapabilmesini sağlamak üzere destekler. Bu doku deri, tendon ve ligamentler gibi birkaç düzey farklı yapıdan oluşur.

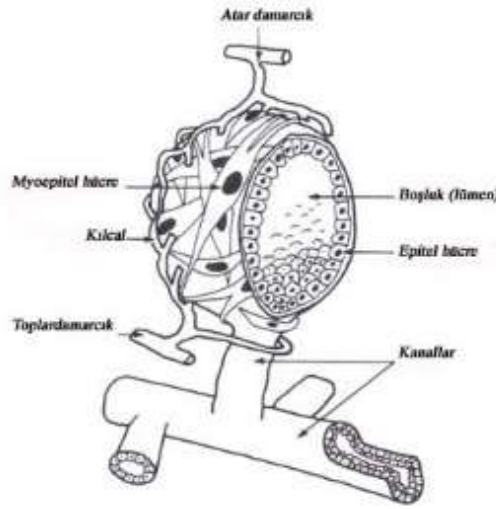
Salgı dokusu ise sütün üretiminin gerçekleştiği ana dokudur. Bir çok lobülün bir araya geldiği loblar şekilde organize olmuştur. Her bir lobül sütün sentezlenip salgılandığı birkaç yüz adet (sığırlarda 150-220) mikroskobik alveol taşır (9). Alveollerin içerisinde sıralı şekilde epitel hücreleri vardır ve sütün bu hücrelerde sentezlenerek alveol boşluğuna salgılanır. Bu epitel hücreler içerisindeki sütün oksitosin hormonuna kasılarak cevap vermek suretiyle boşaltır. Alveol lümenine boşalan sütün oradan kanallara yönelir. Her bir meme bezi birkaç adet lobtan oluşur ve her birinin içeriğini dışarıya boşaltmak için meme uçları vardır. Bu yapı sütün veriminden ziyade sütün akış hızı ile ilgilidir ki bu da bir seleksiyon kriteri olarak ıslah programlarında dikkate alınır. Sığırlarda meme bezleri 4 adettir ve her meme bezinde bir adet meme ucu bulunur. Şekil 2.9'da ise bir lobülün yapısı şematize edilmiştir.



Şekil 2.9. Lobülün anatomik yapısı(9)

Salgılanan sütün meme bezi boşluklarında ve meme ucu boşluklarında depolanır. Sütün üretiminin ve salgılanmasının devam etmesi için belli bir doluluğa ulaştıktan sonra sütün

sağım ya da yavruların emmesi yoluyla boşalması gerekir. Doğumdan hemen önce meme bezlerinde süt üretiminin başlaması ve devamı prolaktin ve büyüme hormonu ile kontrol edilir. Sütün memede depolandıktan sonra sağılması veya emilmesi ile oksitosin devreye girerek epitel hücrelerde üretilen sütün lümenlere oradan da depolanacakları meme ve meme ucu boşluklarına salgılanmasını sağlar. Laktasyonun devamı bu fiziksel uyarıcıya ihtiyaç duyar. Yavrusunu emzirmeyen ya da sağılmayan bir dişi bir süre sonra süt üretmez olur ve laktasyon sona erer (9, 10).



Şekil 2.10. Meme bezinde kan damarları ve miyoepitel hücreleriyle çevrili bir alveolus (11)

2.1.2.1. Süt Sentezi

Süt memeli canlıların yeni doğanlarının bütün ihtiyaçlarını karşılayacak besin madde içeriklerine sahip, oldukça değerli bir besindir. Türler arasında oranları değişmekle birlikte sütün içerisinde enerji kaynağı olarak lipid ve karbonhidratlar, aminoasit kaynağı olarak proteinler, vitaminler ve mineraller ile su bulunur.

Süt veren dişinin yedikleri, bu içeriği yağlar açısından önemli oranda değiştirirken, süt şekeri diyetten etkilenmez. Proteinde ise çok az bir değişiklik gözlenebilir. Laktasyon boyunca sütün özellikle yağ ve protein oranları da değişkenlik gösterebilir.

Çizelge 2.1. Bazı türlerin süt kompozisyonları (11)

Türler	Yağ	Protein	Laktoz	Kül
Sığır Bos	3.5	3.1	4.9	0.7
-Siyah Alaca	5.5	3.9	4.9	0.7
-Jersey	7.4	3.8	4.8	0.8
Manda	3.9	3.2	4.6	0.7
Deve	7.2	4.6	4.8	0.9
Koyun	4.5	3.2	4.3	0.8
Keçi	1.9	2.5	6.2	0.5
Domuz	6.8	4.8	5.5	1.0
Tavşan	15.3	13.9	2.1	1.0

Sütün alveollerdeki hücrelerdeki sentezlenme işlemi, proteinlerin sentezlenmesi, laktozun sentezlenmesi ve süt yağının sentezlenmesi aşamalarından oluşur.

Süt proteinlerinin en önemli kısmını kazeinler (alfa, beta ve kappa kazein), betalaktoglobulin ve alfalaktalbumin oluşturur. Ayrıca laktoferrin ve lizozim enzimleri de süt proteinlerindedir. Bu proteinler meme bezlerinde üretilirken serum albümin ve immunoglobulinler önceden üretilerek kandan süte geçerler. Süt proteinlerinin öncülleri olan aminoasitler kan yoluyla hücrelere ulaştıktan sonra kan damarlarına yakın olan basal bölgeden hücre içerisine girerler. Hücre içerisine girmelerinin ardından granüllü endoplazmik retikulum (RER) taşınarak oradaki poliribozomlarda kovalent olarak bağlanarak proteinleri oluştururlar. Daha sonra Golgi cihazına taşınarak hücre dışına çıkmak üzere hazır hale getirilirler. Granüllü endoplazmik retikulumda kazein, beta laktoglobulin ve alfa laktalbumin gibi süt proteinleri sentezlenir. Sentezlenen ve golgi cihazında modifiye edilen proteinler apikal membrandan veziküller yoluyla alveol lümenine boşaltılır (9, 10).

Laktoz glikoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarittir ve sadece meme bezlerinde ve sütte bulunur. Ruminantlarda laktoz sentezinin kaynağını rumen faaliyetleri sonucu oluşan propiyonik asitten karaciğerde glikogenesis sonucu oluşan glikoz oluşturur. Gastorintestinal sistemden glikoz emilimi ruminantlarda çok az olduğu için karaciğerde üretilen bu glikoz en önemli kaynaktır (9).

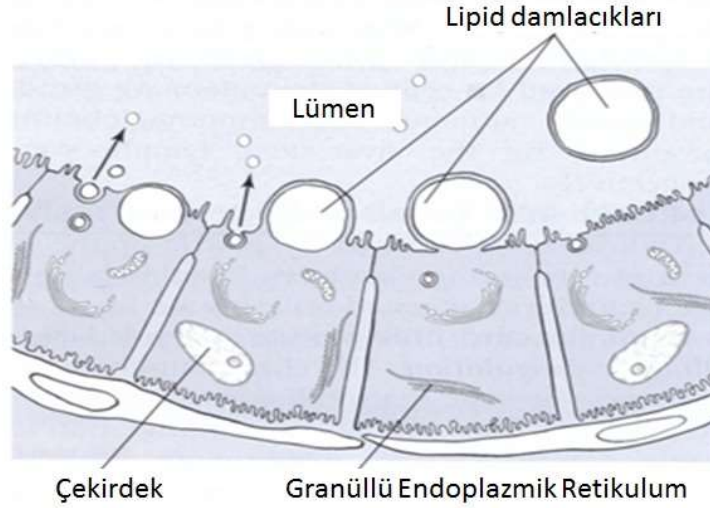
Laktoz sentezi için bazal membrandan hücre içerisine giren glikoz molekülleri kullanılır. Glikozun bir kısmı galaktoza dönüşür ve ikisi birlikte golgi cihazı içerisine girerek laktozu oluşturur. Laktozun oluşması ozmotik basınç değişimine sebep olur ve hücre içerisine su

girişini gerçekleştirir. Su ve laktoz proteinlerin hücre dışına salındığı aynı mekanizmayla yani veziküller vasıtasıyla alveol lümenine salınır (11).

Laktasyonun başlarında ve pik seviyelerinde kandaki glikoz oranı ciddi şekilde düşer ve hayvanlarda ketoziz denilen metabolik bir soruna yol açar. Özellikle iyi beslenemeyen süt veren hayvanlarda bu risk oldukça yüksektir. Kandaki glikoz seviyesinin düşmesiyle enerji ihtiyacını karşılamak üzere karaciğerde yağların parçalanması ile oluşan bazı metabolitler (asetoasetik asit ve betahidroksibütirat vb) kana karışarak kan pH değerini düşürürler. Bu durum hayvanlarda iştah azalması ve immün sistemin bozulması sonuçlarına yol açar. Bu yüzden süt veren hayvanlarda enerji ihtiyacının karşılanabilmesi oldukça önemlidir (9-12).

Süt yağının çoğu trigliseritlerden oluşur ve bu trigliseritler sütteki temel enerji kaynağını oluştururlar. Ruminantlarda yağ asitleri sentezi için ihtiyaç duyulan temel bileşenler asetat ve betahidroksibütirattır. Rumendeki fermantasyon sonucu oluşan bu kısa zincirli yağ asitleri (uçucu yağ asitleri) kana karışarak meme bezlerine ulaşır ve trigliseritlerin sentezinde kullanılır. Oluşan trigliseritler genel olarak 4-14 karbonludur ve bu boyuttaki trigliseritler vücudun diğer bölgelerindeki adipoz dokularda bulunmazlar. Ruminantlar dışındaki memelilerde temel olarak yağ asidi sentezinde karbon kaynağı olan gliserol ise glikoliziz denilen bir katabolik süreç sonucu oluşur ve doğal olarak glikoza ihtiyaç duyar (9).

Süt yağının sentezi için yağ asitlerinin öncülleri olan asetat ve betahidroksibütirat ile kanda hali hazırda mevcut bulunan yağ asitleri (FA), gliserol ve monogliseritler de bazal membrandan hücre içerisine girerler. Trigliseritlerin sentezi düz endoplazmik retikulumda (SER) gerçekleşir. Küçük damlacıklar halinde oluşan trigliseritler birleşerek büyürler ve apikal membranı zorlayarak dışarı doğru bir çıkıntı oluşturur ve bir noktadan sonra beze şeklinde koparak lümen içerisinde birikmekte olan süte karışırlar (12).



Şekil 2.11. Süt lipitlerinin, proteinlerinin ve laktozun süt bezindeki alveollerini çevreleyen epitel hücrelerinden salgılanması. Proteinler ve laktoz ekzositoz yoluyla salınan veziküllerin içerisinde beraber bulunurlar (12)

2.1.2.2. Galaktopoesis

Laktasyon süreci bir kez başladıktan sonra devam ettirilmesi olayı galaktopoesis olarak bilinir. Laktasyonun devam edebilmesi galaktopoesis ile birlikte memelerde üretilen sütün aktif olarak alınmasına bağlıdır. Galaktopoesiste rol alan hormonlara galaktopoetik hormonlar denir ve bunların en önemlisi prolaktin hormonudur. Galaktopoetik hormonların inhibe edilmesi hayvanın türüne, laktasyon sırasına ve hormonun hangisi olduğuna bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte süt üretimini azaltıcı etki gösterir (9).

Prolaktin ile birlikte büyüme hormonunun da galaktopoetik etkisi vardır. Bu iki hormon türleri arasında rollerinin derecesi değişmekle birlikte hemen bütün memelilerde en önemli galaktopoetik hormonlardır ve hayvanlara bu hormonların enjekte edilmesi süt üretimini artırır.

Galaktopoesiste etkili hormonlar ne olursa olsun süt salgılanmasının dikkate alınması gereken en önemli faktörlerinden biri de sütün meme bezlerinden sağılmasıdır. Süt salgısının devamlılığını sağlamak üzere bazı meme bezi faktörleri etkilidir. Bu faktörlerden bir tanesi laktasyon geri besleme inhibitörü (FIL) olarak bilinir. Meme bezlerinde sütün birikmesi ile bu faktörün de düzeyi yükselerek salgılama işlemini baskılar. Ters durumda azalan faktör düzeyi ile salgılanmanın baskılanması ortadan kalkar ve süt salgılama işlemi tekrar başlar (9).

Alveollerde süt üretiminin devam etmesi fiziksel uyarıcı olarak sağılma ya da emilme işlemine gerektirir. Meme uçlarının fiziksel olarak uyarılması ile arka hipofizden salgılanan oksitosin hormonu kan yoluyla meme bezlerindeki alveollere ulaşır ve mioepitel hücrelerin kasılması ile hücre iğeriği alveol lümenine, oradan da kanallar vasıtasıyla meme bezi lümenine boşaltılır. Fiziksel uyarılar devam ettiği mddetęe bu sreğ devam eder. Bununla birlikte görsel, işitsel veya diğer duyu organları yoluyla hayvanı olumsuz etkileyen bazı fiziksel uyarıcılar da vardır ve bunlar sütün memeden sağılmasını olumsuz etkileyerek süt verimini düşürürler. Ancak bu etki fiziksel uyarıların ortadan kalkmasıyla sonlanır (9-12).

Memelilerde laktasyon verimi hem meme anatomisi, hem süt sentezinde ve salgılanmasında görevli hormonların etkinliği gibi hayvana ait özelliklerin ve de sağım ve beslenme gibi çevresel etkilerin kontrolünde ęok etkenli bir verim özelliğidir. Bütün dış etkilerin eşit olduğu ortamlarda bireyler arasında oluşan varyasyonun genetik etkilerden kaynaklandığı kabul edilse bile bunları ortaya ęıkarmak oldukęa zordur. Genetik olarak, majör genlerin olmadığı ve kalıtım derecesinin düşük olduğu ęoklu gen kontrolündeki verim özelliklerinin genetik temellerini bulmak uzun soluklu ve emek yoğun ęalıřmaları gerektirir.

2.2. SİYAH ALACA VE YERLİ KARA SIğIRLARI

Fenotipi oluşturan iki önemli etken ęevre ve genetik yapıdır. Bununla birlikte her fenotipik özellikteki ęevre ve genetik bileşeninin ağırlıkları farklıdır. Özellikle kantitatif özelliklerde ęevre faktörü genetik faktörden daha ağırlıklı olabilir. Gz, deri rengi gibi özellikler ęevre faktörünün hemen hiç etkili olmadığı kalıtım derecesi bir ya da bire ęok yakın özellikler iken, süt verimi gibi özellikler ise ęevre faktöründen fazlasıyla etkilenen ve kalıtım derecesi 0.5 ve hatta altında olabilen özelliklerdir. Bu sebeplerden dolayı bir türde belirli bir kantitatif özellik açısından genetik ilerleme sağlayabilmek için genetik bileşenin iyi ęzmlenmesi önemlidir. Bunun için ırk iği varyasyonlardan faydalanılabileği gibi ırklar arasındaki varyasyonlar da kullanılabilir.

Irk iğindeki varyasyonlar bazen bu ęzmlmeleri yapmak için yeterli olmayabilir. Bu yüzden fizyolojisi tamamen aynı tür içinde farklı ırklar arasında karşılaştırmalar yapmak faydalı olabilir. Bu amaçla ęalıřmamızda materyal olarak seğtiğimiz iki sığır ırkı kısaca tanıtılmıştır.

2.2.1. SİYAH ALACA

Siyah Alaca (Holstein-Friesian) sığır ırkı Hollanda'nın kuzey ve Friesland bölgesinden köken alan ve bugün dünyanın hemen her yerine dağılmış yüksek süt verimi ile bilinen bir sığır ırkıdır. Siyah ve beyaz renkleri ile ve oldukça iri yapısı ile göze çarpan bu ırkın dünyaya yayılması ABD üzerinden olmuş ve bugün Türkiye'de de en çok tercih edilen sütçü ırktır.

1940'lı yıllarda sperma dondurma teknolojisinin ilerlemesi ile üstün özelliklere sahip boğaların binler hatta onbinlerce yavrusunun elde edilebilme imkânı hem hızlı bir genetik ilerleme sağlamış hem de damızlık değeri tahminlerinde yüksek bir güvenilirliğe ulaşılmasını sağlamıştır. Bu sayede bu ırk ABD'de çok yağın bir şekilde kullanılmaya ve diğer ülkelere de ihraç edilmeye başlamıştır. ABD'de doğan buzağuların %85 kadarı Holstein ırkına aittir.

Başta ABD olmak üzere birçok ülkede sadece bu ırk için üretici birlikleri kurulmuş ve kayıtlı yetiştiriciliğe önem verilmiştir. Siyah Alaca sığır 23-26 aylıkken ilk doğumunu yapar, 305 gün laktasyon süresinde ortalama 10500 Kg süt üretir. Kaydedilmiş en yüksek süt verimi 2015 yılında 33860 Kg ile Wisconsin eyaletinde Bur-Wall Buckeye Gigi isimli bir ineğe aittir. Ergin bir Siyah Alaca ineği yaklaşık 650-700 Kg, yenidoğan buzağı ise yaklaşık 40 Kg'dır (13). Şekil 2.12'de ergin bir inek ve Şekil 2.13'de ergin bir boğa görünmektedir.



Şekil 2.12. Siyah Alaca ergin inek (14)



Şekil 2.13. Siyah Alaca ergin boğa (14)

Siyah Alaca ırkı dünyada çok geniş bir yayılım göstermiş ve süt sığırcılığında başat ırk olarak öne çıkmıştır. Bu sebeple bakım besleme koşulları ve iklim şartlarına göre verim değerleri oldukça değişkenlik göstermektedir. Aşağıdaki çizelgede (2.2) Siyah Alaca ırkına ait çeşitli Avrupa ülkeleri ve Türkiye’den derlenmiş süt istatistikleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. 2015 yılı Avrupa bölgesi süt istatistikleri (Siyah Alaca) (15)

	N	Süt Kg/yıl	%Yağ	Yağ Kg	%Proteinn	Protein Kg
Avusturya	49258	8592.00	4.07	350	3.28	282
Belçika	57084	7983.00	3.87	309	3.30	264
Danimarka	343514	10552.00	4.00	422	3.39	<u>358</u>
Fransa	1706420	7996.00	3.84	307	3.12	249
Almanya	2182043	9291.00	4.00	371	3.38	314
Ortalama		8882.80	3.96	351.80	3.29	292,24
Ağırlıklı ortalama		8763.98	3.93	344.60	3.28	287,46
Türkiye	1028137	5998.00	3.49	209	3.22	193

Türkiye’de Siyah Alaca ırkının verim özelliklerini tespit etmeye yönelik çalışmalarda ortaya çıkan sonuçlar da geniş bir varyasyonu işaret etmektedir. Aşağıda çeşitli çalışmalarda elde edilen süt ve döl verim özellikleri çizelgede (2.3, 2.4) özetlenmiştir.

Çizelge 2.3. Çeşitli çalışmalarda elde edilmiş Siyah Alaca ırkına ait Laktasyon süt verimi (LSV), 305-gün süt verimi (305GSV), Laktasyon süresi (LS) ve Kuruda kalma süresi (KKS) değerleri

Çalışma	N	LSV (kg)	305GSV (kg)	LS (gün)	KKS (gün)
Kaya ve ark.(16)	4733	6829	6232	336	78,3
Erdem ve ark.(17)	334	6273	6467	301,7	82
Şahin ve Ulutaş(18)	536	7473	6976	326	82,2
Akman ve ark.(19)	750	4925	4565	322,6	73,7
Bakır ve ark.(20)	1302	7574	6810	331,7	79,5

Çizelge 2.4. Çeşitli çalışmalarda elde edilmiş İlkine buzağılama yaşı (İBY), Buzağılama aralığı (BA), Servis periyodu (SP), Gebelik süresi (GS) ve Gebelik başına tohumlama sayısı (GBTS) değerleri.

Çalışma	N	İBY (gün)	BA (gün)	SP (gün)	GS (gün)	GBTS
Kaya ve ark.(16)	4733	846*	-	138	-	-
Erdem ve ark.(21)	334	827,4	393,4	122,4	278,5	1,4
Şahin ve Ulutaş (18)	536	823,9	411,2	135,8	277,6	1,46
Akman ve ark.(19)	750	918*	388,5	110	278,2	-
Özçakır ve Bakır(22)	300	782,2	397,4	120,3	276,7	1,9

* Ay olarak verilen değerler 30 ile çarpılarak güne çevrilmiştir.

2.2.2. YERLİ KARA

Yerli Kara sığır ırkı Türkiye'ye özgü küçük yapılı ve kısa boynuzlu bir sığır ırkıdır. Tepeden tırnağa siyahtır ve yetersiz bakım ve besleme koşullarına rağmen dayanıklı olması ve hastalıklara direnci kendine has özellikleridir. Erkeği 300-400, dişisi 200-300 kg canlı ağırlığa sahiptir. Dişiler 24-28 ayda cinsel erginliğe erişirler. Laktasyon süresi 240-260 gün ve ortalama laktasyon süt verimi 1000-1100 kg kadardır. Sütte yağ oranı ise %4-5 civarındadır (23). Şekil 2.14 Yerli Kara bir ergin ineği ve Şekil 2.15 Yerli Kara ergin boğayı göstermektedir.



Şekil 2.14. Yerli Kara ergin inek (23)



Şekil 2.15. Yerli Kara ergin boğa (23)

Bu ırkın verim özellikleri ile ilgili çalışmalar çok eski tarihlidir ve güncel pek bir veri yoktur. Bununla birlikte herhangi bir ıslah çalışması yürütülmediği için eski çalışmalardaki verilerin günümüz için de geçerli olduğu varsayılabilir. Özet olarak bu çalışmalarda laktasyon süresi ortalamaları 202 (24) günden 301.1 (25) , ortalama laktasyon süt verimi sahada 300 kg ile (26) , iyi bakım besleme koşullarında 1457 (25) kg arasında değişmektedir. 2307.8 kg (27, 28) bildirilen maksimum süt verimidir. Batu (26) süt yağını %3.8-4.0 olarak bildirmişse de %3 (28) ile %4.57 (25) arasında değerlere rastlanılmıştır. Bir çalışmada (25) ilk tohumlama yaşı 26 ay, doğumlar arası süre 403 gün olarak bildirilmiştir.

Ülkesel çapta Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarının Korunması adıyla yürütülen bir program dahilinde bazı tür ve ırklar nesilleri tükenme tehlikesiyle karşı karşıya oldukları için korunmaktadır. Yerli Kara ırkı da koruma altındaki sığır ırklarımızdan biridir ve hem yetiştirici elinde desteklemelerle, hem Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi bünyesinde bir sürüde ve hem de dondurarak koruma şeklinde embriyo, sperma, somatik hücre ve DNAları saklanarak koruma altındadır. FAO tarafından tavsiye edilen ve ISAG tarafından belirlenen koruma prensiplerine uygun bir şekilde bu programlar TAGEM'in koordinasyonu altında yürütülmektedir.

Görüntü itibariyle Angus ve Japon Siyahı ırklarına da benzetilen bu ırk daha çok ekstansif koşullarda yetiştirilir. Sütü ancak yavrusuna ve yetiştiricilerin kendi ihtiyaçlarını karşılamaya yetecek kadardır. Verim değerleri oldukça düşük olan bu ırk verim genetik çalışmalarında model hayvan olarak kullanılabilir.

2.3. ISLAH VE SELEKSİYON

İnsan gıdasının temel kaynakları arasında hayvansal ürünler önemli bir orana ve değere sahiptir. İnsanoğlu dünya sahnesinde var olmasından itibaren önce yaban hayvanlarını avlayarak daha sonra evcilleştirdikleri hayvanların yetiştiriciliğini yaparak besin ihtiyacını karşılamaya çalışmış ve günümüzde de bu faaliyetlerine devam etmektedir.

Evcilleştirmenin yaklaşık 150 asır öncesine kadar gittiğine dair arkeolojik bulgular mevcuttur. Bu uzun geçmişe dayalı hayvancılık faaliyetleri önce gıda temini daha sonra gücünden yararlanma daha sonra spor ve eğlence amaçlı yetiştiriciliği kapsamaktadır (29).

Besin kaynağı olarak hayvan yetiştiriciliğinde az sayıda hayvandan bol miktarda ürün etmeye yönelik çabalar da başlangıçtan beri devam edegelmiştir. Bu çabaların doğal sonucu olarak her yeni neslin önceki nesilden daha verimli olması beklenir. Bu yüzden istenilen özellikler açısından yeni nesillerin daha iyi hale getirilmesi anlamına gelen ıslah hayvancılığın önemli bir bileşenidir.

2.3.1. SELEKSİYON

Yeni nesilleri oluşturmak üzere iyileştirilmesi istenilen özellik yönünden popülasyonda öne çıkan bireylerin yeni nesilleri oluşturmak üzere seçilmesi anlamına gelen seleksiyon özellikle saf yetiştiricilikte kullanılan güvenli ve etkili bir yöntemdir. Islah programları hangi özelliğin ıslah edilmesi isteniyorsa onlara yönelik bir veri toplama ve verileri değerlendirerek damızlık değeri hesaplamak şeklinde tasarlanır ve uygulanır.

Bu noktada damızlık değeri kavramı karşımıza çıkar. Damızlık değeri bir bireyin popülasyondaki diğer bireylerden üstünlük derecesi ve bu özelliğini yavrularına aktarabilme kapasitesinin bir ifadesidir. Klasik ıslahta bireyin damızlık değeri kendisini ebeveynlerinin, akrabalarının ve de yavrularının verim kayıtlarından ya da bunların farklı kombinasyonlarından faydalanılarak ve istatistik modeller kullanılarak hesaplanır.

$$DD_i = h^2(x - \bar{x})$$

Formülde DD_i belirli bir özellik açısından damızlık değerini, h^2 kalıtım derecesini, x bireye ait verim değerini ve \bar{x} popülasyona ait ortalama verim değerini ifade eder. Formülden de

anlaşılacağı gibi damızlık değerleri popülasyon ortalamasından farkın bir ifadesidir ve kalıtım derecesi ile de oldukça ilişkilidir. Kalıtım derecesi bir özelliğin belli bir popülasyon içerisindeki varyasyonunun ne kadarının genetik varyasyondan kaynaklandığının ifadesidir.

$$P = G + E$$

Fenotipin (P) yani dış görünüş veya herhangi bir verim özelliğinin genetik (G) ve çevrenin (E) ortak etkileri sonucu oluştuğunu düşündüğümüzde kalıtım derecesi genetik varyasyonun fenotipik varyasyona oranı olarak formüle edilebilir. Genetik etki bir özellik açısından sınırı belirlerken çevre etkileri bu sınıra yaklaşma oranını belirler.

$$h^2 = \frac{G}{P} = \frac{G}{G + E}$$

Formülden de anlaşılacağı gibi h^2 değeri 0 ile 1 arasında değişen bir değerdir. Kalıtım derecesi yüksek yani 1'e yakınsayan özelliklerde damızlık değeri tahminleri daha isabetlidir. Daha isabetli tahminler uygun damızlık seçimi ile birlikte genetik ilerlemenin hızlanması ve popülasyon verim ortalamasının yükselmesi anlamına gelir. Çizelge 2.5'de bazı verim özelliklerinin kalıtım dereceleri düşük orta ve yüksek olarak kategorize edilerek gösterilmiştir. Bu özellikler sayıları yüzlerle ifade edilecek kadar çok olabilir ve her birinin kalıtım dereceleri popülasyonlar ve nesiller arasında dahi değişiklik gösterebilir.

Çizelge 2.5. Bazı özelliklerin kalıtım dereceleri (29)

	Kalıtım Derecesi (h^2)	Özellik
Düşük	0.00-0.20	İki buzağılama arası süre, Bir batında yavru sayısı, Büyütülen yavru sayısı
Orta	0.20-0.50	Süt miktarı, Canlı ağırlık artışı, Yemden yararlanma Temiz yapağı ağırlığı
Yüksek	>0.50	Yağ miktarı, Karkas kalitesi, Yumurta ağırlığı

Çizelge 2.6'da bazı süt özelliklerinin kalıtım derecelerinin minimum ve maksimum değerleri gösterilmiştir. Çizelgede görüleceği üzere kalıtım dereceleri değişkenlik göstermektedir. Bu da aslında damızlık değeri tahmininin ne kadar zor olduğunun bir göstergesidir.

Çizelge 2.6. Bazı süt özelliklerine ait kalıtım dereceleri (29)

Özellik	Minimum	Maksimum
Süt, kg	0.15	0.35
Yağ, kg	0.15	0.35
Yağ, %	0.3	0.7
Protein, %	0.2	0.6
Laktoz, %	0.1	0.7

2.3.2. GENETİK İLERLEME

Yukarıda da bahsedildiği üzere ıslahın ve ıslah yöntemlerinden biri olan seleksiyonun amacı istenilen bir özellik yönünden popülasyonun genetiğinin iyileştirilmesidir. Popülasyon hangi verim yönünde ıslah edilmesi isteniyorsa o yönden üstün olan bireylerin seçilmesi ve yeni nesillerin oluşmasında kullanılması ile bu sağlanmaya çalışılır. Böylece her nesilde verimin artırılması ve bir genetik ilerleme hedeflenir (30).

$$\Delta G = \frac{i \times r \times \sigma}{L}$$

Yıllık genetik ilerleme (ΔG), seleksiyon yoğunluğu (i), isabet (r), varyasyon (σ) ve nesil aralığı (L) ifadelerinin bir fonksiyonudur. Nesil aralığı ile ters değerleri ile doğru orantılıdır. Seleksiyon yoğunluğu, damızlığa ayrılan bireylerin verim ortalamaları ile popülasyonun verim ortalamaları farkının standart sapma olarak ifadesi; isabet, gerçek damızlık değeri ile tahmin edilen damızlık değeri arasındaki korelasyon katsayısıdır ki kalıtım derecesinin (h^2) kareköküne eşdeğerdir; varyasyon popülasyondaki bireylerin birbirlerinden farklarının ifadesidir (29, 30).

Nesil aralığı genel olarak her generasyonda doğan bireylerin ebeveynlerinin yaşlarının ortalaması alınsa da değerlendirmeye konu verim kayıtlarına ulaşıldığı tarihlerin dikkate alınması daha uygun olacaktır. Çizelge 2.7’de kalıtım dereceleri ve verim kayıtları alınan akrabalar ve bunların sayılarına göre bireyin damızlık değeri hesaplamalarının isabet dereceleri arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Çizelge 2.7. Farklı kalıtım derecesindeki özelliklerde ve çeşitli sayıda akrabalardan yapılan damızlık değer tahmininin isabet dereceleri (29)

	$h^2=0,20$	$h^2=0,50$	$h^2=0,80$
Bireyin 1 ölçümü	0.45	0.71	0.89
Bireyin 2 ölçümü	0.54	0.77	0.92
Bireyin 4 ölçümü	0.6	0.82	0.93
Anne veya Baba	0.22	0.35	0.45
Anne+Baba	0.32	0.5	0.62
Anne+Baba+Anneanne+Babaanne+Dede+Dede	0.36	0.54	0.64
Anneanne veya Babaanne veya Dede	0.1	0.17	0.22
Birey+Anne veya Birey + Baba	0.48	0.73	0.9
Birey+Anne+Baba	0.51	0.76	0.91
Birey+Anne+Baba+Anneanne+Babaanne+Dede+Dede	0.54	0.76	0.91
10 Döl	0.58	0.77	0.84
20 Döl	0.72	0.86	0.91
50 Döl	0.85	0.94	0.96
100 Döl	0.92	0.97	0.98
4 Kardeşi	0.39	0.54	0.6
2 Üvey Kardeşi	0.14	0.24	0.28
4 Üvey Kardeşi	0.2	0.3	0.35
10 Üvey Kardeşi	0.3	0.39	0.42
100 Üvey Kardeşi	0.46	0.48	0.49

Çizelgede görüldüğü gibi damızlık değeri tahminlerinin isabetini artırmak için bireyin akrabalarının verimleri kullanılabilir ve en isabetli tahminler bireyin çok sayıda yavrularının verimleri kullanılarak yapılan tahminlerdir.

2.3.3. VERİM KAYITLARININ ÖNEMİ

Yukarıda verilen bilgilerin ışığında herhangi bir popülasyonda bir özellik yönünden iyileştirme yapılabilmesinin temel anahtarı sağlıklı verim kayıtlarının tutulmasıdır. Bu o kadar önemlidir ki bütün dünyada yetiştirme programları verim kayıt sistemleri ile tümleşik bir şekilde ilerlemektedir. Bu konuda başarılı olduğunda damızlık seçimleri daha isabetli ve genetik ilerleme daha hızlı olmaktadır.

Türkiye’de özellikle süt sığırı yetiştiriciliğinde bu tür programları başlatmak ve yürütmek için Damızlık Yetiştiricileri Merkez Birliği adıyla bir birlik kurulmuş ve bu birliğe kayıtlı işletmelerde kayıtlı yetiştiricilik alt yapılarının kurulması ve geliştirilmesi üzerine yoğun çalışmalar yürütülmektedir.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı altında Hayvancılık Genel Müdürlüğü ıslah programlarının yürütülmesini ve başarılı olmasını temin etmek üzere daire başkanlığı düzeyinde organize olmuştur. Türkiye olarak en önemli sorunumuz olan kayıtlı yetiştiricilik kimliklendirme düzeyinde dahi henüz tam olarak çözülebilmemiş değildir.

TürkVet adıyla aktif olan bir veri tabanı mevcut olmakla birlikte bu veri tabanı sadece doğum, satış, kesim, tohumlama, aşı gibi kayıtların tutulduğu ve hayvan hareketlerinin takibine yönelik bir veri tabanıdır. Damızlık birlikleri eliyle ya da bakanlık bünyesinde küçükbaş hayvanlarla ilgili yürütülen ıslah projelerinde verim kayıtlarına dayalı damızlık seçimi çalışmaları ve bunlar için kullanılmak üzere veri tabanı çalışmaları devam etmekle birlikte 19. yüzyıl ortalarından beri kayıtlı yetiştiricilik yapılan ülkelerin hala oldukça gerisinde olduğumuz söylenebilir.

Verim kayıtlarının uzunca zamandır ve sağlıklı yapıldığı ıslah programları, tezimizin odağı olan verim ve genetik ilişkilerinin çözümlenmesi ve genetiğe dayalı damızlık değeri tahminlerinin isabetli bir şekilde yapılabilmesinde de avantajlı konumdadırlar. Genomik seleksiyon 2009 yılından itibaren ABD’de ve daha sonra başta Almanya olmak üzere AB ülkelerinde de damızlık boğaların seçiminde kullanılmaktadır.

2.4. GENETİK BİLGİ VE SELEKSİYON

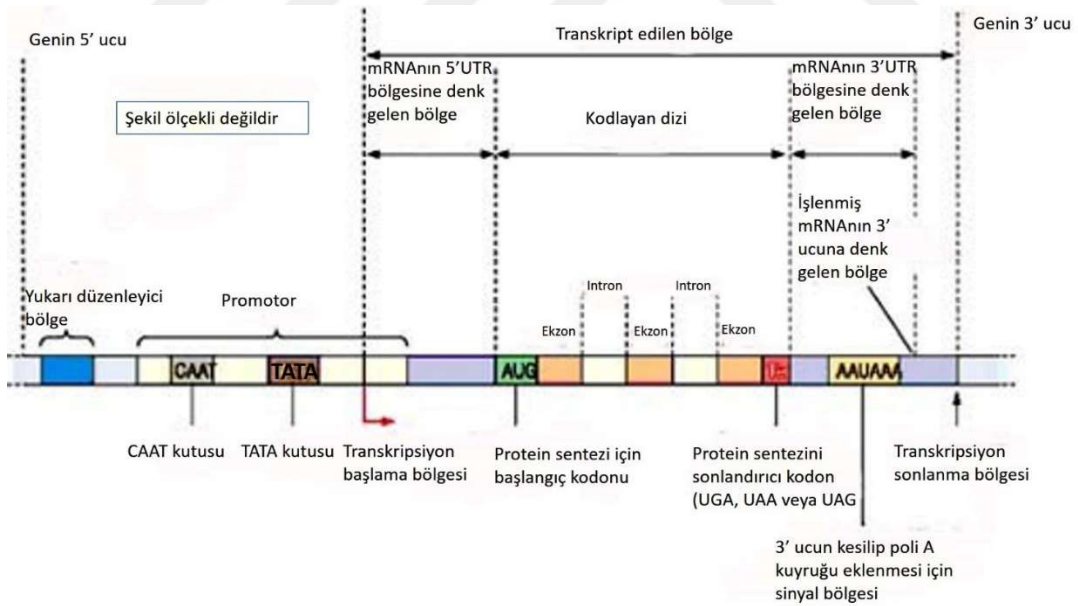
Merkez Dogma (Central Dogma) olarak bilinen kurala göre bir gen bir protein ve bir protein bir fenotip demektir. Ancak bu bilginin doğru olmadığı daha sonra ortaya çıkmış ve genetik fenotip ilişkisinin oldukça karmaşık olabileceği ve bu ilişkilerin çözümünün de hiç kolay olmadığı ortaya çıkmıştır. Bir tek gen tarafından kontrol edilebilen özellikler de vardır ve bu özellikler Mendelyen kalıtım modeline uygun olarak sevrage olurlar. Göz rengi, deri rengi gibi dış görünüş özellikleri ve kistik fibrozis gibi bazı hastalıklar buna örnek verilebilir.

Bir genin birden fazla fenotipi etkilediği durumlar da sözkonusudur. Buna pleitropi adı verilir. Hem sperm hücrelerinde hem de akciğerdeki flagellaları etkileyen bir gendeki bozukluğun fenotipik olarak hem solunum problemlerine sebep olması hem de erkeklerin fertilitie yönünden steril olmaları buna bir örnektir. Yüksek canlılarda hemen bütün genlerin birden fazla fizyolojik yolakta yer alan proteinleri kodladığı düşünüldüğünde pleitropi oldukça yaygındır denilebilir.

Söz konusu olan, özellikle hayvanlarda önemli bulunan verim özellikleri olduğunda iş oldukça karmaşılaşır. Süt verimi, doğurganlık, büyüme-gelişme gibi özellikler pek çok genin birlikte kontrol ettiği ve kantitatif özellik olarak tanınmlanan özelliklerdir. Bu çalışmada da seçilen SNP panelinde görüldüğü gibi süt ve üreme ile ilgili pek çok gen vardır ve bu fizyolojik yollar birbirine geçmiş vaziyettedir. Prolaktin (*PRL*) ve ilgili reseptör genleri hem süt verimini hem üreme özelliklerini etkileyen genlerdir.

Aslında bu verimlerin ayrı zikredilmesi genetik bilgidan önce fenotipe göre yapılan seleksiyonun hedef olarak kendine belirlediği özellikleri sınıflandırma ihtiyacından kaynaklanmış ve geleneksel seleksiyonda süt verimi ve üreme aslında fizyolojik yolları birbirine geçmiş olsa da ayrı değerlendirilmişlerdir. İslah çalışmaları belli bir düzeye geldiğinde de görülmüştür ki bu özellikler arasında negatif/pozitif korelasyonlar vardır.

Genetik bilginin seleksiyonda nasıl kullanılabilirdiğini anlayabilmek için makro düzeyden mikro düzeye geçiş yaparak genetiğin moleküler mekanizmalarını anlamaya çalışmamız gerekir. Şekil 2.16'da ökaryot canlıların gen organizasyonu detaylı bir şekilde görülmektedir.

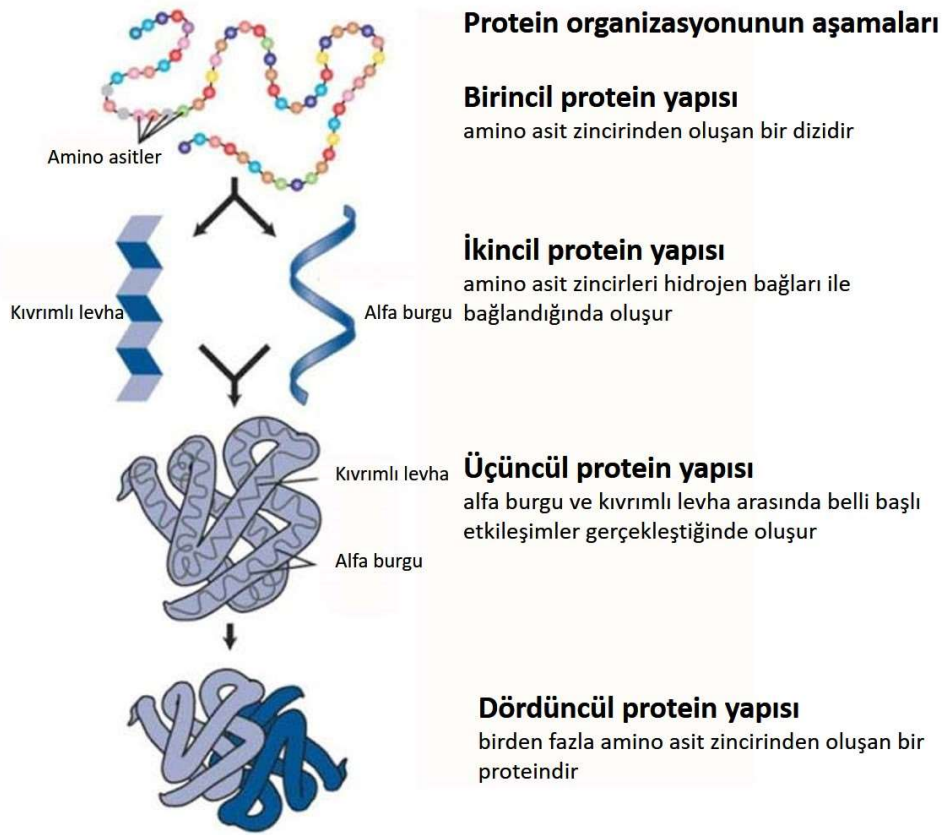


Şekil 2.16. Bir genin bütün elemanları ile yapısı (31)

Şekilden de anlaşılacağı gibi bir gen, kodlayan bölge haricinde pek çok başka bölge ile birlikte bir bütündür. Regülatör bölgeler, bu bölgelere bağlanan proteinler ve regülatör proteinlere bağlanan kofaktörler gibi pek çok faktör genin ifade edilmesini kontrol eder. Ökaryot DNAsı ekzon ve intronlardan oluşur ve intronlar RNA splicing denilen bir

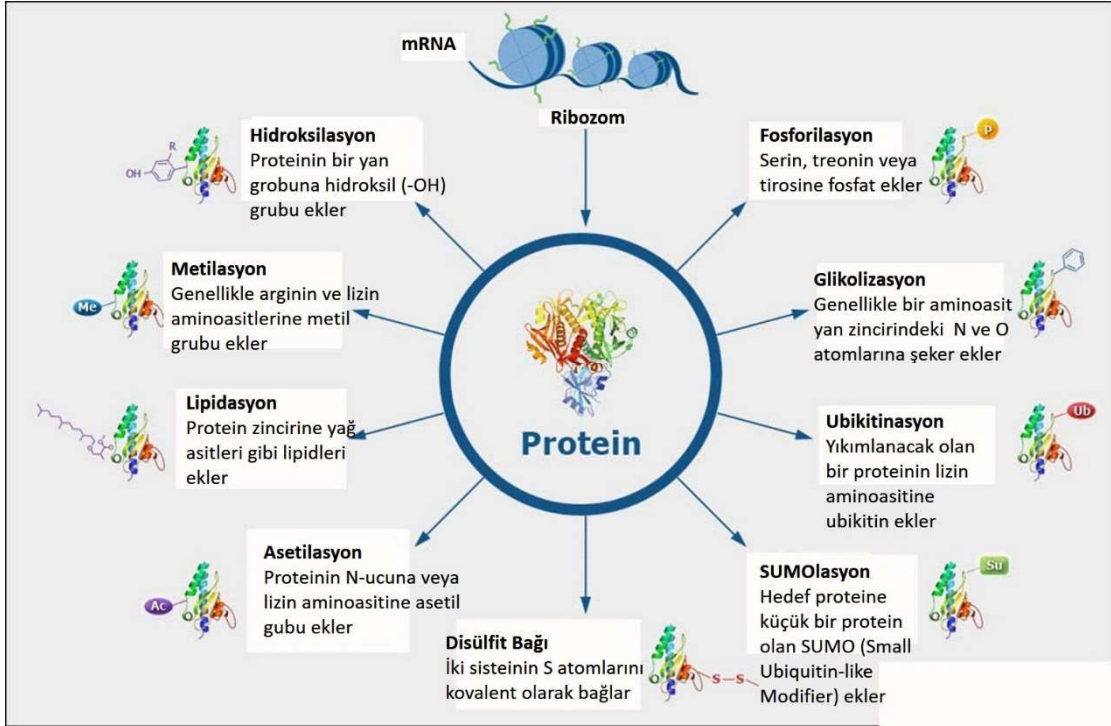
mekanizma ile transkripsiyon sonrası çıkarılırlar. Bu esnada proteinin farklı varyantları oluşabilir.

Protein öncülleri ribozomlarda aminoasit zincirlerine dönüşür ve bu işleme de translasyon denir. Bu yapı proteinin birincil yapısıdır. Daha sonra katlanmalar ile ikincil yapı ve daha ileri düzey etkileşimler ile de üçüncül yapı oluşur. Endoplazmik retikulum ve Golgi aygıtlarından geçen protein posttranslasyonel modifikasyonlara uğrayarak son halini alır. Şekil 2.17’de proteinin yapısal düzeyleri görülmektedir.



Şekil 2.17 Proteinlerin yapısal düzeyleri (32)

Şekilde (2.18) görüleceği gibi proteinler fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için çok sayıda modifikasyona uğrar. Bu modifikasyonlar proteinin aktivitesini, stabilitesini ve görev yapacakları yeri belirleyeceği için oldukça önemlidir. Ancak bu süreçlerden sonra proteinler son hallerini almış olurlar. Bu modifikasyonların önemli bir kısmı da dış faktörlere bağımlıdır ve çevre dediğimiz fenotipi oluşturan diğer önemli etken bu aşamalarda önemli bir belirleyicidir.



Şekil 2.18 Translasyon sonrası protein modifikasyonları (33)

Moleküler düzeydeki bir kavrayış klasik genetikte geçen dominans, overdominans, kodominans, epistazis gibi kavramların da rahatlıkla anlaşılmasını sağlar. Moleküler düzeyde genetik mekanizmaların anlaşılması özellikle seleksiyon amaçlı kullanılan genotiplendirme yöntemlerine temel teşkil eden polimorfizmlerin fonksiyonları ne yönde etkilediğinin çözümlenmesini de kolaylaştırır.

İleriki bölümlerde bahsedilecek olan MAS (Marker Assisted Selection) ve genom ölçeğinde uygulanan Genomik Seleksiyon kavramlarının en önemli aracı olan bu polimorfizmler ya LD (Linkage Disequilibrium) ile birlikte kalıtılan ve fenotipe etki eden bölgelerin tespitinde ya da Aday Gen (Candidate Gene) yaklaşımı ile fenotipe direkt olarak etki eden nedensel (causative) polimorfizmlerin tespitinde kullanılırlar.

Sonuç olarak özellikle ökaryot DNA'sı hem organizasyon olarak, hem fonksiyon olarak oldukça karmaşıktır. Bilim dünyası bir taraftan bu karmaşıklığı çözmek için uğraşırken diğer yandan genetik düzeydeki bilginin hem beşeri tıpta hem de gıda zincirinde yer alan canlıların verimleri ile ilgili çalışmalarda kullanabilmek için içerisinde ileri düzey istatistik araçların da kullanıldığı yöntemler bulmuş ve halen geliştirmeye çalışmaktadır. Bunlar içerisinde en bilinenlerden bir tanesi Marker Assisted Selection (MAS) olarak bilinen genetik belirteçlerin verim ile ilişkilerinden yola çıkarak yeni nesilleri oluşturacak ebeveynlerin seçilmesidir.

2.4.1. BELİRTEÇ DESTEKLİ SELEKSİYON VE GENOMİK SELEKSİYON

“İslah ve Seleksiyon” başlığı altında da bahsedildiği gibi fenotip olarak ifade edilen özellikler kısmen çevre kısmen genetik etki ile ortaya çıkar. Bazı özelliklerde genetik faktörü çok yüksek oranda etkili iken bazı özelliklerde genetiğin etkisi düşük, çevrenin etkisi çok daha yüksektir. Bireyler arasında fenotipte ortaya çıkan farklılıkların yani varyasyonun ne kadarının genetikten kaynaklandığının göstergesi olan kalıtım derecesi o özelliğin moleküler mekanizmaları ile doğrudan ilişkilidir.

Bazı özellikler sadece bir gen ile (saç rengi, göz rengi, vb.) kontrol edilirken, kantitatif özellik denilen ve daha çok verim özelliklerini tanımlayan özelliklerde kontrol bir çok genin birlikte katıldığı bir mekanizma ile olur. Bütün kontrol mekanizmalarını çözmek oldukça zor olmakla birlikte bu yönde çalışmalar durmaksızın devam etmektedir.

İnsan DNA zincirinin tamamının çözülmesi ile başlayan süreç kullanılan teknolojinin diğer canlılara uygulanarak, özellikle insan gıdası olarak tüketilen bitki ve hayvanların genomlarının yani bütün DNA dizilerinin belirlenmesi ile devam etmiştir. Mısır, buğday, sığır, domuz, koyun, keçi gibi hem bitki hem hayvan türlerinin genom dizilerinin çıkarılması diğer genetik çalışmalar için önemli temel oluşturmuştur.

2.4.1.1. Moleküler Belirteçler

Verim genetik ilişkisine yönelik çalışmalar genom çalışmalarından daha önce başlamıştır. Bu çalışmaların temelini ise DNA belirteçleri (marker) olarak adlandırılan ve moleküler düzeyde bireyler arasındaki farklılıkları ifade eden polimorfizmlerin varlıklarının tespiti oluşturmuştur. Bu polimorfizmlerden en eskisi ve en çok bilineni RFLP'dir (Restriction Fragment Length Polymorphism). DNA parmak izi adıyla adli tıpta hem ebeveyn tespitinde hem suçluların tespitinde etkili bir şekilde kullanılmıştır.

Bakterilerin kendilerini bakteri virüslerinden korumak üzere kullandıkları ve kesme enzimi adı verilen enzimler DNA zincirini oldukça spesifik noktalardan keser. Bu tanıma ve kesme bölgelerindeki herhangi bir mutasyon kesme enziminin tanıma ve kesme işlevine engel olur. Bunun dışında herhangi bir DNA bölgesinde meydana gelen bir mutasyon benzeri şekilde yeni bir kesme bölgesi oluşmasına da sebep olabilir. RAPD (Randomly Amplified

Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphism), SSCP (Single Strand Conformaiton Polymorphism) DNA belirteçleri arasında ilk zamanlarda yaygın olarak kullanılan belirteçlerdir. Bunları mikrosatellitler (STR, Short Tandem Repeats veya SSR, Simple Sequence Repeats) takip etmiştir ki hem kodominant olmaları yani heterozigotluğun tespit edilebiliyor olması, hem allel sayılarının çok ve dolayısıyla PIC (Polymorphic Information Content) değerlerinin yüksek olmalarından dolayı tercih edilen bir belirteç olarak ön plana çıkmıştır. PIC bir anlamda heterozigotluğun bir göstergesidir ve aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$$

Formülde n gözlenen allelleri; j, j.inci lokusu; i, i.nci i ; P_{ij}^2 ise j.nci lokusun i.nci allellinin frekansının karesini ifade etmektedir

Genom çözümlenmelerinin hızlanması ve her türe ait referans dizilerin belirlenmesi ile bireyler arasında %1-2 oranında, değişik aralıklarla bütün genoma dağılmış ve sadece tek nükleotid farklılıkları şeklindeki SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) adı verilen DNA polimorfizmleri kullanışlı olabilecek belirteçler olarak öne çıkmıştır.

2.4.1.2. Bağlantı Dengesizliği ve QTL

Bireyler arasında DNA düzeyindeki farklılıklar yani polimorfizmler belirteç olarak kullanılarak QTL (Quantitative Trait Locus) denilen ve verim özelliklerini etkileyen gen bölgelerinin yerlerinin tespit edilmesi ve verime pozitif etki eden QTL allellerinin bu polimorfizmler kullanılarak yeni nesilleri oluşturacak ebeveynlerin seçilmesine Belirteç Destekli Seleksiyon (MAS, Marker Assisted Selection) denir.

Burada karşımıza çıkan en önemli kavram bağlantı (linkage) ve bağlantı dengesizliği (Linkage Disequilibrium) kavramlarıdır. İki allelli iki farklı DNA bölgesini veya belirtecini (A1, A2 ve B1, B2) ele aldığımızda bu belirteçlerin frekansları (p_1 , p_2 ve q_1 , q_2) ile bu allellerin oluşturması muhtemel haplotiplerin (A1B1, A1B2, A2B1 ve A2B2) frekansları arasında matematiksel bir bağlantı vardır.

$$A1B1 = p1 \times q1$$

$$A1B2 = p1 \times q2$$

$$A2B1 = p2 \times q1$$

$$A2B2 = p2 \times q2$$

Allel frekanslarından hesaplanan bu haplotip frekansları değerleri eğer gözlemlenen frekanslarla farklılık gösteriyorsa bu durum bağlantı dengesizliği olarak ifade edilir. Farklı kromozomlar üzerinde bulunan lokuslar birbirinden tamamen bağımsız kabul edilir ve Mendelin bağımsız dağılım (independent assortment) kanununa uygun olarak kalıtılırlar (34).

Bununla birlikte aynı kromozom üzerinde olmakla kromozom üzerinde aralarındaki mesafenin uzak olması ve mayoz bölünme esnasında gerçekleşen parça değişimi (crossover) olayından dolayı sanki farklı kromozomlar üzerindeymiş gibi bağımsız kalıtılan bölgeler vardır. Bölgeler arasındaki mesafe azaldıkça parça değişimi olasılığı düşer ve böylece bölgelerin birlikte kalıtılma olasılığı artar. Bu olasılık 1 olduğunda (%100) tam bağlantı (complete linkage) durumu oluşur.

Yukarıdaki örnekteki bölgeler gözönüne alındığında A1 alleli ile B1 ve dolayısıyla A2 alleli ile de B2 allelinin her zaman birlikte kalıtıldığı yani A allellerinden sadece birinin B allellerinden belli biriyle kalıtıldığı ve diğer haplotiplere hiç rastlanmadığı durum tam bağlantı durumudur.

Benzer durum bir belirteç ile bir QTL bölgesi arasında olabilir. Verime etki eden QTL bölgesi belirteçle tam bağlantı durumunda ise allelerden biri verime olumlu etki eden QTL alleli ile diğeri ise nispeten olumsuz etki eden QTL alleli ile birlikte kalıtılacaktır. Bundan sonra yapılması gereken hangi allellerin verime olumlu etki ettiğini bulmaktır. Çoklu kontrol altındaki özellikler ile ilişkili DNA polimorfizmlerinin kullanımı polimorfizmin bir belirteci veya QTL'in kendisini işaret edip etmediğine bağlıdır (34).

Ökaryot genomları hem türler, ırklar hem de bireyler arasında ciddi dizi varyasyonları göstermektedir. Bu varyasyonlar arasında RFLP, mikrosatelit ve SNPler oldukça iyi

tanımlanmışlardır (34). Daha önce de bahsettiğimiz üzere RFLPlerden başlayarak mikrosatelitlere uzanan ve nihayet SNPlar ile oldukça yaygınlaşan bu çalışmalar hem ciddi miktarlarda fenotipik veriye hem de bu verilerin oldukça güvenilir olmasına ihtiyaç duyar. Bir QTL'in tespit edilebilmesini etkileyen etkenler vardır ki bunlardan bazıları etkinin boyutu, allelerin frekansları, özelliğin kalıtım derecesi, çalışmada kullanılan hayvan sayıları ve hayvanlar arasındaki varyasyon düzeyleri ile analiz metodudur (35, 36).

SNP'lerin ön plana çıkmasının en önemli sebebi genomda yüksek rezolüsyonda (her 100-300 baz çiftinde bir) bulunuyor olmasının keşfi ile kısa sürede onbinlerce hatta yüzbinlerce SNP genotiplendirilmesini ve böylece genomu mümkün olan en küçük parçalara bölebilmek imkanını sağlayan DNA çip teknolojisinin gelişmesi olmuştur. Bu teknoloji sayesinde belirli bir özellik üzerinde belirlenen eşik değerin üzerinde etkisi olan bütün DNA bölgelerini tespit etmek ve istatistik modeller sayesinde genetik etkileri tahmin etme imkânları artmıştır.

7 adet hayvan türünde yapılmış QTL çalışmalarının derlendiği bir veritabanı (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>) mevcuttur. Sığırlarda yapılan 743 çalışmadan derlenen 545 farklı özellik bu veri tabanında farklı kriterlere göre sınıflandırılarak sunulmuştur (Cattle QTLdb Release 31. Dec 30, 2016).

Çizelge 2.8'de özellik sınıflarına göre QTL sayıları, Çizelge 2.9'da özellik tiplerine göre QTL sayıları ve Çizelge 2.10'da ilk 15 sırada yer alan özellikler ve QTL sayıları verilmiştir. Aynı veri tabanında QTLlerin kromozomal lokasyonlarına dair veriler de bulunabilir.

Çizelge 2.8. Özellik sınıflarına göre sığırlarda tespit edilmiş QTL sayıları

Özellik Sınıfı	QTL Sayısı
Üreme	33718
Süt	22234
Üretim	10165
Dış Görünüş	8828
Et ve karkas	3728
Sağlık	2979

Çizelgeden de (2.8) anlaşılacağı üzere sığırlarda üreme ve sütle ilişkili bulunan oldukça çok sayıda QTL vardır. Ekonomik anlamda sığır yetiştiriciliğinde ön plana çıkan bu özellik grubu doğal olarak üzerinde en çok çalışılan verim özelliklerinin başlarında gelirler.

Çizelge 2.9. Özellik tiplerine göre sığırlarda tespit edilmiş QTL sayıları

Özellik Tipleri	QTL Sayısı	Özellik Tipleri	QTL Sayısı
Genel	20705	Besin alımı	591
Süt kompozisyonu- yağ	12670	Duyusal karakteristikler	408
Fertilite	8969	Üreme hormonu düzeyleri	306
Büyüme	6846	Duyusal karakteristikler	408
Süt kompozisyonu- protein	4806	Üreme hormonu düzeyleri	306
Konformasyon	4729	Kan parametreleri	290
Meme özellikleri	3787	İmmün kapasite	193
Semen kalitesi	3738	Pigmentasyon	151
Süt verimi	2495	Et/yağ rengi	122
Süt kompozisyonu – diğer	2156	Besin dönüşümü	112
Yaşam hikayesi özellikleri	1671	Karkas kalitesi	112
Anatomi	1367	Süt işleme özellikleri	107
Mastitis	1310	Davranışsal	103
Yaşam boyu verim	930	Organ bozuklukları	96
Hastalık	922	Kimya	89
Yağlanma	907	Genel sağlık parametreleri	89
Yağ asidi içeriği	723	Parazit/haşere direnci	58

Çizelge 2.10. Sığırlarda tespit edilmiş ilk 15 sırada yer alan QTL sayıları

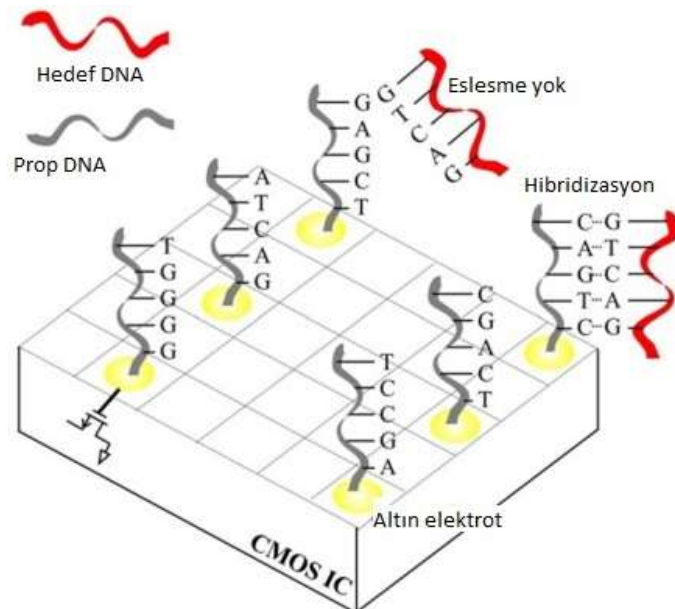
Özellik	QTL Sayısı
Cinsel erginlik yaşı	10541
Skrotum çevresi	9951
Süt yağı verimi	5268
Normal sperma oranı	3596
Süt yağı yüzdesi	3187
Süt proteini yüzdesi	2738
Süt verimi	1833
Her gebelik için tohumlama sayısı	1670
Süt C14 indeksi	1551
İlk tohumlama ile son tohumlama arası süre	1508
Canlı ağırlık artışı	1429
Buzağılama kolaylığı	1181
1 yaş vücut ağırlığı	1179
Süt proteini verimi	1176
Somatik hücre sayısı	1070

2.4.1.3. SNP Genotiplendirme

SNPler genomda oldukça yaygın bulunmalarından dolayı bütün bir genomu parçalara bölerek kalıtımın takip edilebilmesine olanak sağlarlar. Dominant olmaları ve böylece heterozigotluğun tespit edilebilmesi de bir diğer avantajlarıdır. Genetik çeşitlilik hesaplamalarında, fenotipik varyasyonların açıklanmasında ve tek ya da çok genli kontrol altındaki özelliklerin genetik temelini anlaşılmasında etkili bir şekilde kullanılırlar.

Önceleri sadece RFLP bölgelerine isabet eden polimorfizmler kesme enzimleri ve jelde koşturma şeklinde tespit ediliyorken teknolojinin ilerlemesi ve genotiplendirme maliyetlerinin düşmesi ile on binlercesinin aynı anda tespit edilebildiği yeni yöntemler geliştirilmiş ve etkili bir şekilde kullanılmaktadır.

SNP genotiplendirme yöntemleri genel olarak hibridizasyon temelli, enzim temelli ve PCR temelli olmak üzere üç grup halinde incelenebilir. Hibridizasyon temelli yöntemlere en bilinen örnek mikrodizinlerdir. Her bir SNP lokusuna özgü problemlerin mikrodizin üzerine sabitlenmesi, genomun parçalanarak yüklenmesi ve lazerle uyarılmış floresan boyalardan yayılan ışımaların detektörler vasıtasıyla kaydedilmesi prensibi ile genotiplendirme işlemi gerçekleştirilir.

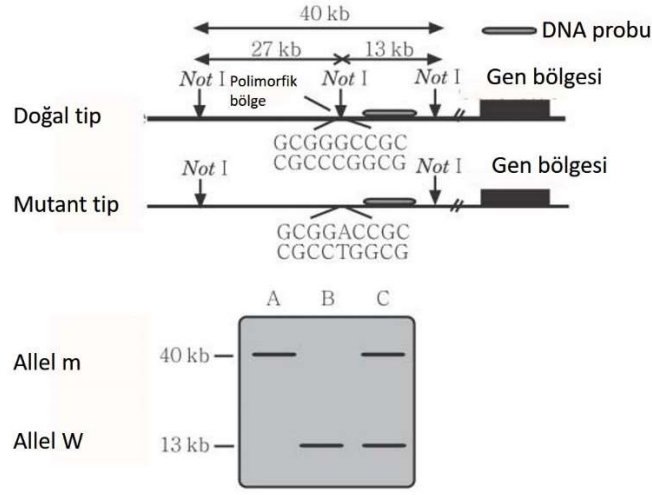


Şekil 2.19. DNA mikrodizinlerinin çalışma prensibinin şematik gösterimi (37)

Enzim temelli yöntemlerin en bilineni ise yukarıda da bahsedildiği üzere RFLP yöntemidir. Polimorfizmin sebep olduğu kesme enzimi bölgesindeki değişiklik RFLP allellerinin

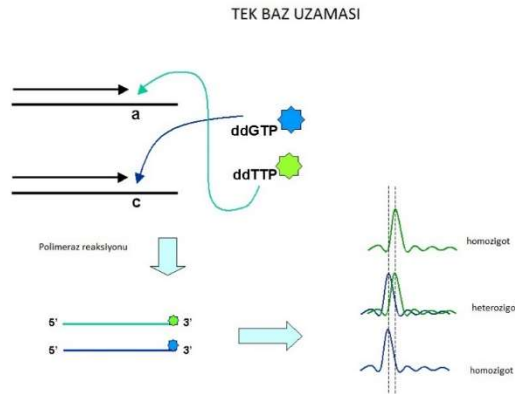
oluşmasına sebep olur. Önce polimorfizmi içeren bölge PCR ile çoğaltılır daha sonra kesme enzimi ile işleme tabi tutularak jelde yürütülerek genotiplendirme gerçekleştirilir.

Şekil 2.20’de kesme bölgesinin mutasyonla yok olmasına örnek olan bir RFLP genotiplendirmesi görülmektedir. Doğal allelde var olan *NotI* kesme bölgelerinden biri mutant allelde yok olmaktadır.



Şekil 2.20. RFLP şematik gösterimi (34)

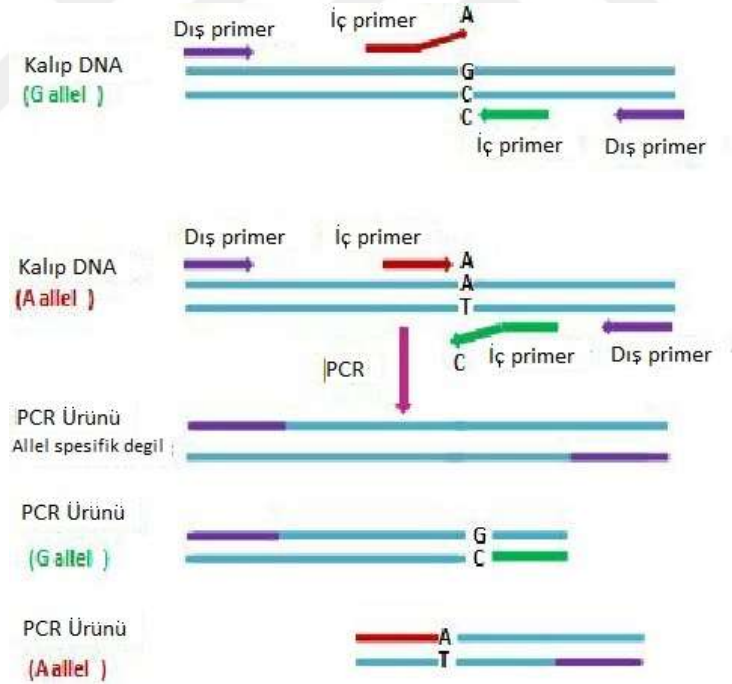
PCR temelli yöntemlere örnek olarak SBE (Single Base Extension, Tek Baz Uzaması) ve allel spesifik PCR verilebilir. Tek baz uzaması yönteminde polimorfik bölgenin bir baz öncesinde sonlanacak şekilde tasarlanan primerler kullanılır ve reaksiyon dNTP yerine Sanger dizilemede kullanılan dizi sonlandırıcı ddNTPler kullanılarak gerçekleştirilir. Böylece sadece bir baz eklenen primerler alleller bağlı olarak farklı renklerde etiketlenirler. Şekil 2.21’de tek baz uzaması yönteminin şematik gösterimi mevcuttur.



Şekil 2.21. Tek Baz Uzaması (SBE) reaksiyonu ve deteksiyonu (38)

Tek baz uzaması reaksiyonunu mikrodizin benzeri bir teknoloji ile buluşturan Shumaker ve arkadaşları (39) ile Kurg ve arkadaşları (40) katı bir yüzey üzerinde hibridizasyon yerine PCR temelli bir SNP genotiplendirme yöntemi geliştirmişler ve bu yöntem GWAS çalışmalarında kullanılan ve onbinlerce SNP genotiplendiren hibridizasyon temelli mikrodizinler yerine az sayıda SNP genotiplendirme ihtiyacı olan çalışmalar için bir alternatif olmuştur. Bu çalışmalardan biri de Kaminski ve arkadaşlarının (41) MilkProtChip adıyla ürettikleri süt ile ilgili SNPleri içeren çalışmadır.

Yaygın olarak kullanılan bir diğer PCR temelli SNP genotiplendirme yöntemi olan Allel Spesifik PCR yönteminin şematik gösterimi Şekil 2.22’de verilmiştir. Bu yöntemde her allel için farklı renkte floresan boyayla etiketlenmiş primerler tasarlanarak PCR gerçekleştirilir ve PCR son ürünleri floresan ışığa okuyan cihazlar ile okunarak sonuçlar elde edilir. Bu yöntemin modifiye edilmiş bir hali olan KASP™ yöntemi bu çalışmada genotiplendirme amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 2.22. Allel Spesifik PCR (42)

2.4.1.4. Genomik Seleksiyon

Belirteç Destekli Seleksiyon kavramının bütün genomu içerecek şekilde genişletilmiş ve daha sofistike istatistik araçlara ve bilgi işlem gücüne ihtiyaç duyan formuna Genomik Seleksiyon denir. Onbinlerce SNP'in aynı anda genotiplendirilebilmesine olanak sağlayan çip teknolojisinin gelişmesiyle uygulanabilir hale gele bu yöntem, çok fazla miktarda veriyi işleme ve değerlendirme ihtiyacından dolayı beraberinde kendine özgü istatistik ve biyoinformatik araçların da gelişmesi ihtiyacını doğurmuştur. Aşağıdaki formül basit bir regresyon denklemini ifade etmektedir.

$$y = a + bx + e$$

y= bağımlı değişken, a= ortalama, x=bağımsız değişken, b= regresyon doğrusunun eğimi ve e=hata terimlerini ifade eder. x değerlerine karşılık gelen y değerlerinin yardımıyla a, b ve e değerleri bulunduktan sonra herhangi bir x değeri için y değeri regresyon denklemi kullanılarak tahmin edilir. e terimi, ortalaması 0 ve varyansı σ^2 olan normal dağılım gösterir. Genomik seleksiyonda bazı varsayımların devreye girmesi ile bu temel denklem transforme edilerek isabet derecesi en yüksek tahmin denklemi elde edilmeye çalışılır.

Genomik seleksiyondaki en önemli zorluklardan biri birden çok x değerine karşılık bir y değerinin varlığından dolayı hesaplama güçlükleridir. Ayrıca her bir genotipin ya da haplotipin etkilerinin eşit olmamasından kaynaklanan zorluklar vardır. Bu sebeple GBLUP, BayesA, BayesB, BayesC gibi farklı varsayımlardan hareketle ortaya çıkmış modeller ortaya çıkmıştır. Tüm modeller GLM (Generalized Linear Model) üzerinden varsayımlar kullanılarak geliştirilmişlerdir.

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \epsilon_i$$

y_i = bağımlı değişkenler, β_0 , β_1 sabit katsayılar, x_i = bağımsız değişkenler, ϵ_i = hata terimlerini ifade eder. Genomik seleksiyonda birden çok bağımsız değişkene karşılık bir bağımlı değişken olduğu için formüllerde matrisler devreye girer ve regresyon modeli genel olarak aşağıdaki gibi bir şekle dönüşür.

$$y = \mu + Bx + e$$

y ve x vektörleri B ise matrisi ifade eder. Onbinlerce SNP etkisini bir tek fenotipe bağlayabilmek ve daha sonra damızlık değer tahmininde kullanabilmek için matrislerin kullanıldığı matematik transformasyonlara ihtiyaç vardır.

Temel olarak, mevcut bir popülasyonda hem genotip hem fenotip verilerini elde ederek, bu veriler kullanılarak daha sonraki nesillerin genetik damızlık değerlerinin herhangi bir fenotip verisine ihtiyaç olmaksızın ve çok erken dönemde, ki teroik olarak bu embryonik döneme kadar gidebilir, tespitinde kullanılacak istatistik modellerin elde edilmesi şeklinde uygulanır.

Bu kavram ilk kez Meuwissen ve arkadaşları (43) tarafından önerilmiş ve istatistik modellerden bazıları karşılaştırılmıştır. Çizelge 2.10 ve 2.11'de bu karşılaştırmanın özet sonuçları görülmektedir.

Çizelge 2.11. Farklı istatistik modellerde gerçek ve tahmin edilmiş damızlık değerlerinin korelasyon ve regresyonları (43).

	$\gamma_{TBV;EBV} + SE$	$b_{TBV;EBV} + SE$
LS	0.318 ± 0.018	0.285 ± 0.024
BLUP	0.732 ± 0.030	0.896 6± 0.045
BayesA	0.798	0.827
BayesB	0.848+0.012	0.946+0.018

Çizelge 2.12. Fenotipik verilerin sayılarına göre bazı istatistik yöntemlerin isabet dereceleri (43).

	Fenotipik Verilerin Sayısı		
	500	1000	2200
LS	0.124	0.204	0.318
BLUP	0.579	0.659	0.732
BayesB	0.708	0.787	0.848

Sonuç olarak genomik seleksiyon iyi bir referans popülasyon seçimi ve doğru bir modelleme ile oldukça yüksek doğrulukta damızlık değer tahmini yapabilmek için oldukça kullanışlı bir araç olarak ortaya çıkmış ve yaygın bir kullanıma erişmiştir. Bu amaçla özellikle verim kayıtlarına ancak belirli bir süre geçtikten sonra ulaşılabilecek olan süt verimi gibi özelliklerde damızlık seçimi için geçen süreyi kısaltarak genetik ilerlemeyi hızlandırmaya olanak sağlaması açısından genomik seleksiyon giderek daha çok başvurulan bir yöntemdir.

2.4.2. ADAY GEN YAKLAŞIMI

Ekonomik yönden önemli kompleks kantitatif özellikleri etkileyen genetik yapı ve mekanizmaları bulmak kantitatif genetik çalışmalarının en güncel ilgi alanlarından biridir. Kompleks özelliklerin genetik arka planını ortaya koymak için iki farklı yaklaşım vardır. Bunlardan biri genom düzeyinde tarama diğeri de aday gen yaklaşımıdır. Genome ölçekli bağlantı çalışmaları aile ya da popülasyon bilgisine dayalı genetik işaretçileri kullanarak kantitatif özellik lokuslarını (QTL) barındıran kromozom bölgelerinin yerini belirlemeye çalışır.

Diğeryandan, direkt gen keşfinden daha etkili ve ekonomik olan aday gen yaklaşımının kompleks özelliklerin çalışılmasında oldukça güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır (44). Aday gen çalışmaları bir fenotipi etkilediği varsayılan bir gen üzerindeki fonksiyonel polimorfizmlerin fenotipteki varyasyonların sebebi olduğu varsayımından yola çıkar. Aday gen yaklaşımı hayvanlardan insanlara kadar pek çok organizmada genetik bağlantı çalışmaları, biyobelirteç ve ilaç hedef seçimi, gen-hastalık çalışmalarında eşzamanlı olarak birçok araştırmacı tarafından uygulanmıştır (45).

Kompleks bir özelliği kontrol ettiği düşünülen kromozom bölgelerinin genom taramasıyla bulunmasından sonra ve fonksiyonel polimorfizmlerin bulunması için aday gen yaklaşımı vazgeçilemez bir işlemdir. Aday gen yaklaşımı sonuçların tekrarlanabilirliğinin düşük olması ve bütün olası genlerin tamamını kapsama konusundaki kısıtlardan dolayı eleştirilmektedir (45). En önemli dezavantajı ise çoğunlukla kısıtlı olan fizyolojik ve biyokimyasal bilgilere ihtiyaç duymasıdır.

Üreme ve süt üretimi (laktasyon) aslında birbiri içerisine geçmiş fizyolojik süreçler tarafından kontrol edilirler. Çünkü laktasyon, üreme sürecinin bir parçası olarak yeni dünyaya gelecek canlının belli bir süre beslenme ihtiyacını karşılamak üzere dişi memelilerde karşımıza çıkan bir süreçtir. Daha önce de bahsedilen pleiotropi kavramının ne kadar yaygın olduğu düşünüldüğünde süreçlerin birbiri içerisine geçmesi ve bazı genlerin hem süt verimi ve içeriği hem de üreme ile ilgili çalışmalarda araştırma konusu olması oldukça doğaldır. Bu yüzden her ne kadar genleri bu süreçler bazında sınıflandırmak ve birbirlerinden tamamen ayırmak mümkün olmasa da çalışmaların odaklandığı genler ve özellikler belli bir sınıflandırmanın doğal olarak oluşmasına sebep olmuştur.

Süt verimi ve içeriği ile genetiğin ilişkisi çalışmalarında çoğunlukla karşımıza çıkan genler; kazein genleri (*CSN1S1*, *CSN1S2*, *CSN2*, *CSN3*), beta-laktoglobulin (*LGB*), alfa-laktalbümin (*LALBA*), prolaktin (*PRL*), leptin (*LEP*), diaçilgliserolaçiltransferaz (*DGATI*), laktoferrin (*LTF*), genleri ve prolaktin reseptörü (*PRLR*), leptin reseptörü (*LEPR*) gibi reseptör genleridir.

Ara bölge diyebileceğimiz hem süt hem üreme ile ilgili çalışmaların konusu olmuş genler arasında sayabileceğimiz genler ise; büyüme hormonu (*GH*), büyüme hormonu salgılatıcı hormon (*GHRH*), insülin benzeri büyüme faktörü (*IGF1*) ve bunların reseptör genleridir (*GHR*, *GHRHR*, *IGFR*).

Üremede ise daha çok karşımıza üreme hormonları ve bunların reseptörleri ya da inhibitörleri karşımıza çıkar. Bu genlere örnek olarak ise; gonadotropin salgılatıcı hormon ve reseptörü (*GNRH*, *GNRHR*), lüteinleştirici hormon ve reseptörü (*LH*, *LHR*), folikül stimüle edici hormon ve reseptörü (*FSH*, *FSHR*), lüteinleştirici hormon/koriyonogonadotropin reseptör geni (*LHCGR*), östrojen reseptör alfa ve beta genleri (*ESR1*, *ESR2*), progesteron reseptörü (*PGR*), prostaglandin F2 alfa reseptörü (*PTGFR*) gibi genler sayılabilir.

3. GEREKÇE VE AMAÇ

Bu çalışmanın amacı sütçü sığırların ıslah programlarında sütçülük özelliklerinin ve fertilitenin birlikte değerlendirilebilmesine olanak sağlayacak bir moleküler genetik araç ortaya çıkarabilmek hedefi doğrultusunda süt ve üreme ile ilgili literatüre geçmiş olan genlerden, bu genlerin ifade düzeyine, oluşan protein ürününün etkinliğine dolaylı ya da direkt etkisi olan SNPlerle birlikte toplam 58 SNP içeren bir panel ile sütçülük ve üreme özellikleri açısından belirgin derecede birbirinden farklı olan iki sığır ırkının genotiplerini karşılaştırmaktır.

Belirteç Destekli Seleksiyon (MAS, Marker Assisted Selection) kavramı moleküler belirteçler ve bu belirteçler kullanılarak yapılan bağlantı çalışmalarını kapsayan bir kavramdır. Moleküler belirteçler ve bunların genotiplendirme yöntemleri değişip geliştikçe de form değiştirmiştir. Bağlantı çalışmaları önceleri mikrosatelit belirteçlerle yapılırken SNPlerin mikrodizin teknolojisi ile genotiplendirilme imkânı ortaya çıktığından beri mikrosatelitlerin yerini SNPler almıştır.

Prensip olarak klasik yetiştirme programlarındaki verim kayıtları ile paralel olarak yürütülen genotiplendirme çalışmalarından çıkan veriler istatistik yöntemlerle değerlendirilerek damızlık değeri hesaplamalarının yüksek güvenilirlikte yapılabileceği moleküler genetik araçlar geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Bağlantı kavramıyla birlikte, fonksiyonel genetik çalışmalarından çıkan bilgiler de önemlidir. Verim özelliklerini etkileyen ve fizyolojideki yolaklarda rol alan genlerin polimorfizmleri de pek çok araştırmanın konusu olmuş ve bu çalışmalar sonucunda sığırlarda süt ve üreme ile ilgili fizyolojik yolaklarda rol alan pek çok gen ve bunların üzerinde verimi etkileyen SNPler bulunmuştur. Bu çalışma da literatüre geçmiş bu polimorfizmlerden yola çıkılarak tasarlanmıştır.

Aschaffenburg ve Drewry (46) tarafından sığır beta-laktoglobulin polimorfizminin keşfinden itibaren sütün protein içeriğinin genetik belirleyicileri birçok çalışmaya konu olmuştur. Jacob ve Puhan (47) ile Mao ve arkadaşları (48) tarafından yapılan çalışmalar da kappa kazein ve beta laktoglobulin ile süt içeriği ve peynir, yağ, yoğurt gibi ürünlerin kalite

parametrelerini etkileyen sütün teknolojik özellikleri (maya tutma, kesmik oluşumu vb.) arasında sıkı bir bağlantı olduğunu ortaya koymuştur.

Son 30-40 yılda çeşitli çalışmalarda (49-56) süt proteini genlerinin regülatör bölgelerindeki polimorfizmler, süt proteini sentezindeki nicel varyasyonların muhtemel kaynağı olarak çalışılmış ve bazı çalışmalar (52, 57-59) sonucunda da *LALBA* (lactalbumin alpha), *CSN3* (kappa casein) ve *LGB* (lactoglobulin beta) genleri ile süt özellikleri arasında ilişki bulunmuştur (41).

Antoniou ve arkadaşları (60) ile Flisikowski ve Zwierchowski (61) çalışmalarında *PRL* (prolactin), *PRLR* (prolactin receptor) ve *STAT5* (signal transducer and activator of transcription 5), Blott ve arkadaşları (62) ile Sorensen ve arkadaşları (63) *GH* (growth hormone), Falaki ve arkadaşları (64) ile Blott ve arkadaşları (62) *GHR* (growth hormone receptor) genlerinde süt özelliklerine etkisi olan SNPler bulmuşlardır (41). Çoğu SNP ile süt protein içeriği arasındaki ilişkiler değişik çalışmalarda (47, 65) verilmiştir. Bu SNPlerin önemli bir kısmı da genlerin kodlamayan 5' regülatör bölgelerindedir (41).

Süt üretimi ve mastitis için genetik belirteçler ve aday genler için Ogorevc ve arkadaşları (66) tarafından yapılan veritabanı çalışmasında 9 tane süt protein geni varyantlarıyla birlikte gösterilmiştir. Çeşitli sayıdaki bağımsız bağlantı çalışmaları ile de *CSN1S1*, *CSN3*, *DGATI*, *GHR*, *LEP*, *LGB*, *LTF*, *PRL* ve *STAT5A* teyit edilmiştir (66).

Hayvan yetiştiriciliğinde embriyonik ölümler önemli bir üreme sorunudur ve embriyonik ölümlerin yaklaşık %80'inin sebebi plasenta oluşumunun yetersizliğidir (67). Mamo ve arkadaşları (68) in vitro üretilen olgun sığır oositleri ve blastositlerinde 82 hedef genin ifade profillerini çalışmışlar ve 25 tanesinin gelişimsel uyum ile ilişkisini doğrulamışlardır.

Pfister-Genskow ve arkadaşları (69) yaptıkları çalışmada NT (çekirdek aktarımı) ve IVP (in vitro üretilmiş) embriyolarda 18 genin farklı düzeyde ifadelerini gözlemlemişler, Corcoran ve arkadaşları da (70) in vitro ve in vivo üretilmiş blastositlerde 384 genle yaptıkları çalışmada ifade düzeylerinde fark ve in vitro blastositlerde bu genlerin %85inin ifadesinde azalma tespit etmişlerdir.

Süt verimini artırmaya yönelik yoğun seleksiyon çalışmalarından dolayı pek çok ülkede üreme performanslarında düşüş gözlenmiştir (71). Özellikle Siyah Alaca ırkının damızlık olarak sık kullanılmasından kaynaklanan hem fertilitate hem doğum kolaylığının gerilediğine dair bildirimler (72-75) mevcuttur. Üreme sorunları, süt sığırcılığında hayvanların yetiştirme programlarından çıkartılmasının en yaygın sebeplerinden biridir (71).

Üreme kayıtlarının da değerlendirmede dikkate alındığı ıslah programları uygulayan bazı İskandinav ülkelerinde İskandinav Esmer ırklardaki dişi fertilitatesinin genel olarak değişmeden kalması üremenin uygun bir şekilde yetiştirme programlarında dikkate alındığında bu gerilemenin önüne geçilebileceğinin işaretidir (71). İsviçre Kırmızısı (Sweedish Red), 30 yıldan fazla süredir uygulanan ve üreme özelliklerini de dikkate alan bir ulusal ıslah programı sayesinde fertilitate kaybına uğramamıştır (71) .

Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler pek çok hedef geni ortaya koymuştur. Bu sayede genom ölçekli çalışmalara paralel olarak aday genlere yönelik çalışmalarda da düşük sayıdaki polimorfizmlere yönelik genotiplendirme araçları kullanılabilir. APEX[®] (Arrayed Primer Extention) ve KASP[™] (Allel Spesific Primer Extension) gibi yeni yöntemlerle bütün genomu taramak yerine süt proteinleri sentezine veya üremeye ilişkin tespit edilmiş genlerdeki az miktarda SNP'i taramak bir yaklaşımdır. 42 gende 71 SNP'i taramak için tasarlanan ve oligo hibridizasyonu yerine primer uzaması (APEX[®]) kullanan mikrodizinle yapılan çalışma (41) bu yaklaşıma bir örnektir. Düşük yoğunluklu SNP genotiplendirmeleri ekonomik olarak yapılabilir.

Süt verimi ve diğer süt özellikleri ile ilgili olarak en sıklıkla literatürde karşımıza çıkan genlerin başlıcaları kazein genleri (*CSN1S1*, *CSN1S2*, *CSN2*, *CSN3*)(41, 50, 53, 54, 76-88), beta-laktoglobulin (*LGB*)(41, 47, 48, 56, 59, 65, 76, 77, 81, 82, 85, 89, 90), alfa-laktalbumin (*LALBA*)(49, 57, 77, 78, 91, 92), prolaktin ve ilgili genler (*PRL*, *PRLR*, *PRLH*, *PRLHR*)(93-96), diaçilgliserolaçiltransferaz (*DGAT1*)(82, 92, 97-106), leptin ve reseptörü (*LEP*, *LEPR*)(97, 98, 106, 107) ve laktoferrin (*LTF*)(108-112) genleridir.

Üreme ile ilgili olarak ise daha çok üreme hormonları, bunların reseptörleri ve ilgili diğer genler aday gen çalışmalarının konusu olmuşlardır. Bu genlerden bazıları gonadotropin salgılayıcı hormon ve reseptör geni (*GNRH1*, *GNRHR*) (113-119), lüteinleştirici hormon ve

reseptör geni (*LH*, *LHR*)(82, 113, 115, 120, 121), folikül stimüle edici hormon ve reseptör geni (*FSHB*, *FSHR*)(120, 122-127), lüteinleştirici hormon/koriyonogonadotropin reseptör geni (*LHCGR*)(1), östrojen reseptör alfa ve beta genleri (*ESR1*, *ESR2*)(128), progesteron reseptör geni (*PGR*)(128-132), prostaglandin reseptör geni (*PTGFR*)(133, 134) gibi genlerdir.

Büyüme hormonu ve reseptörü (*GH*, *GHR*) ile insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve reseptör geni (*IGF1*, *IGFR*) gibi genler hem süt (64, 82, 96, 135, 136) hem de üreme (63, 101, 113, 135, 137-139) ilişkili olarak çalışılmış genlerdir. *LALBA*, *LGB*, *CSNIS1*, *CSN2*, *CSNIS2* ve *CSN3* gibi genler oosit fertilizasyon oranı ve blastosit oranı gibi üreme ile ilişkili bir çalışmanın (78) konusu olmuş, *LALBA* fertilizasyon oranı ile ilişkili QTL#15934 (140) bölgesinde aday gen olarak literatüre girmiştir. Benzer bir durum *LHR* geni için de söz konusudur ve bu gen bir çalışmada (82) süt üretimi ve süt içeriği ile ilişkili olarak çalışılmıştır.

CSNIS2 geninde rs109261203 (79), *CSNIS1* geninde rs43703010, *CSN2* geninde rs43703013 ve rs43703011, *CSN3* geninde rs43703016 ve rs43703017 SNPleri (79, 141) süt verimi ve kompozisyonu ile ilişkili olarak çalışılmış SNPlerdir. Kazein geni ve haplotiplerinin çeşitli çalışmalarda (88, 142-144) süt verimi, süt proteini ve süt yağı miktarları üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir.

LGB genindeki rs109625649 kodlu SNP, başka bir SNP ile birlikte beta-laktoglobülin geninin A (T alleli) ve B (C alleli) varyantları ile ilişkilidir ve Ganai ve arkadaşlarının çalışmasında (90) sütteki hem kazein hem beta-laktoglobülin proteinleri miktarı ile ilişkili bulunmuştur. Beta-laktobulin B formunun az olması kazein proteinlerinin çok olması sonucunu doğurur.

LALBA geninde rs209045823, *PRL* geninde rs211032652, *LTF* geninde rs137554581, *GHI* geninde rs41923484 ve *IGF1* geninde rs134527338 kodlu SNPler, Kaminski ve arkadaşları (41) tarafından süt protein içeriğine direkt ya da potansiyel etkilerinden dolayı alınmış olan 75 SNP arasındadır (çalışmadaki (41) sırasıyla 18, 21, 40, 47, 48 numaralı SNPler).

PRLR geninde rs135164815 ve *GHR* geninde rs385640152 kodlu SNPler Viitala ve arkadaşlarının çalışmasında (96) süt ile ilişkili olarak çalışılmış rs385640152 protein ve yağ yüzdesi üzerine etkili bulunmuş iken rs135164815 protein ve yağ verimi üzerine etkili bulunmuştur. Hem büyüme hormon reseptörü hem de prolaktin reseptörünün meme bezleri ve benzer başka dokularda da büyüme hormonu ve prolaktin aktivitesi için önemli olduğu ve 20. kromozomda gözlenen QTL etkileri için aday genler olabileceği bildirilmiştir (96).

DGATI genindeki rs109234250 kodlu SNP iki çalışmada (82, 99) süt üretimi ve süt içeriği ile ilişkili olarak çalışılmıştır. Bu SNP hemen yanındaki rs109326954 kodlu SNP ile birlikte *DGATI* geninde A(Alanin, GCN¹) ve K (Lizin, AAR¹) varyantlarına sebep olurlar. Molee ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında (100) AA genotipinin verim üzerine önemli etkisi varken KK genotipinin süt içeriğine etkisi olduğu gösterilmiştir.

LEP genindeki rs29004487 kodlu SNP Giblin ve arkadaşlarının çalışmasında (145) 848 Holstein-Fresian boğada *LEP* ve *LEPR* genlerindeki bazı SNPler ile performans özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla incelenen 10 adet SNP arasında yer almıştır. T alleli ile düşük süt proteini verimi arasında ilişki kurulmuş ($P<0.005$) ayrıca bu SNP ile yüksek vücut kondüsyon skoru, düşük süt verimi ve daha kısa süreli gebelik arasında ilişki olabileceği ($P<0.1$) bildirilmiştir.

LEPR genindeki rs133672995 kodlu SNP ise Liefers ve arkadaşlarının çalışmasında (146) gebeliğin son dönemlerinde kanda leptin düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla çalışılmıştır. Leptinin özellikle vücut ağırlığının kontrolündeki öneminden dolayı reseptörü de önem kazanmış ve benzeri çalışmalarda incelenmiştir. Bahsedilen çalışmada (146) TT bireylere rastlanmazken CC genotipli bireylerin CT genotiplilere göre gebeliğin geç döneminde kandaki leptin düzeyleri daha yüksek bulunmuştur.

IGF1R genindeki rs41640706 kodlu SNP Szewczuk ve arkadaşlarının çalışmasında (147) Angus ırkı sığırlarda büyüme ile ilişkili özelliklerle ilgili yapılan çalışmada süttan kesim canlı ağırlığı üzerinde etkili bulunmuş, GG genotipli bireylerin AG bireylere göre süttan kesim canlı ağırlığı açısından avantajlı olduğu gözlenmiştir. Somatotropik eksenin (GH, GHR, IGF1, IGF1R) bir üyesi olan bu reseptör büyüme, başkalaşım ve çeşitli dokulardaki

¹ EK3: Nükleotid varyasyon kodları

bir çok fonksiyonun devamında önemli olan IGF1 proteinin reseptörü olmasından dolayı önemlidir (147).

GNRHR genindeki rs41654417 kodlu SNP Yang ve arkadaşlarının çalışmasında (148) rs209263344 kodlu SNP ile birlikte Siyah Alaca boğalarda sperm kalitesi ile ilişkili olarak çalışılmış ve her iki SNP de aminoasit değişikliğine sebep olmadığı halde bazı sperm kalite parametreleri ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmanın panelinde yer alan rs41654417 SNP'i dondurulmuş spermada motilite üzerine etkili bulunmuş, GA genotipli bireylerin GG genotipine göre daha avantajlı olduğu ($P<0.01$) gösterilmiştir.

FSHR genindeki rs209882669 SNP'i Marson ve arkadaşları tarafından (120) erken seksüel olgunlukla ilişkili olarak çalışılmış, parametre olarak kullanılan ilk tohumlamada gebelik oranları arasında genotipler arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmadığı bildirilmiştir.

LHCGR genindeki rs41256848 kodlu SNP Yu ve arkadaşları tarafından Siyah Alaca düvelerde süperovulasyon (1) özellikleri ile ilişkili olarak çalışılmış ve toplam ovaryum sayısı ve transfer edilebilir embryo sayısı açısından G allelinin daha üstün olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma, süt ve üreme özellikleriyle ilişkileri araştırılmış yukarıda bahsedilen SNP'leri de içerecek şekilde 58 SNP'ten oluşan bir panelle yapılan genotiplendirmenin ek seleksiyon kriteri olarak kullanılabilir ilişkileri ortaya koyabileceği tezinden yola çıkılarak tasarlanmıştır. Bu özellikler açısından birbirinden farklı olduğu düşünülen iki farklı sığır ırkının genotipleri karşılaştırılarak bu iki ırk arasındaki varyasyonun bir kısmının bahsedilen genlerin üzerindeki SNP'lerden kaynaklandığı hipotezine kanıt aranacaktır.

Siyah Alaca sığır ırkına ait ırk karakteristiklerini gösteren bir çok çalışma olmasına rağmen Yerli Kara ırkı hakkındaki bilgilerin çoğu gözlemseldir. Bu çalışma ile Yerli Kara hakkındaki fenotipik bazı veriler hakkında üreticilerden alınacak bilgilerle bu kısıtlı bilgi birikimine de katkıda bulunabilecektir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi (Eski adıyla Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü) Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 29.02.2012 tarih ve 66 sayılı kararı ve isim değişikliğine dair 29.09.2013 tarih ve 84 sayılı kararlarına istinaden, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından finanse edilen TAGEM/HAYSUD/13/A-02/P-01/02 numaralı proje kapsamında yürütülmüştür.

4.1. MATERYAL

Araştırmanın hayvan materyalini Genetik Kaynakların Halk Elinde (*in situ*) korunması projeleri kapsamında Ankara ili Çamlıdere ilçesinde ve Çankırı ili Bayramören ilçesinde tutulan sürülerden rastgele olarak seçilen 80 baş Yerli Kara sığır ile Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına bağlı Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsünde bulunan sürüden rastgele seçilen 80 baş Siyah Alaca sığır oluşturmuştur. Her hayvandan EDTA içeren kan tüplerine DNA izolasyonu için yaklaşık 10 mL kan alınmış ve -20 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

4.1.1. SİYAH ALACA

Siyah Alaca ineklerin seçildiği Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan sürü Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yürütülen ve Kalkınma Bakanlığı tarafından desteklenen Anadolu Alacası Geliştirme Projesinin materyalini oluşturan sürüdür ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağlık kontrolleri yapılarak toplanmış ve dolayısıyla kan yakınlığı oldukça düşüktür. Ek4'de kan alınan hayvanların Türkvat sisteminde kayıtlı kulak küpe numaraları verilmiştir. Görüldüğü gibi sürü Adana, Bursa, Denizli, İzmir, Kütahya, Manisa, Mersin, Osmaniye, Sakarya, Van gibi değişik illerde doğmuş hayvanlardan oluşmuştur.

4.1.2. YERLİ KARA

Yerli Kara inekler Ankara ili Çamlıdere ilçesi ve Çankırı ili Bayramören ilçesinde koruma altında olan sürülerden tesadüfi olarak seçilmiş ve kan yakınlığı olmaması için mümkün olduğunca farklı lokasyonlardan ve işletmelerden seçilmiştir. Ek5'de kan alınan Yerli Kara materyalinin Türkvat sistemine kayıtlı kulak küpe numaraları verilmiştir.

4.2. YÖNTEM

Hayvanlardan alınan kanlardan standart fenol:kloroform:izoamilalkol yöntemi kullanılarak DNA elde edilmiş, elde edilen DNAların miktarı Titertek marka mikrohacim spektrometre kullanılarak ölçüldükten sonra her bir örnek DNAsı 25 ng/μL olacak şekilde standardize edildikten sonra, KASP™ isimli ticari kitle SNP genotiplendirmeleri yapılmıştır. Daha sonra verilerin istatistik analizleri yapılarak iki ırk birbiriyle karşılaştırılmıştır.

4.2.1. SNP PANELİ

Bu çalışmada, sığırlarda üreme ve süt ile ilgili yollarda rol alan genlerden 33 tanesi üzerinde bulunan ve 21 tanesi bazı üreme ve süt özellikleri ile ilişkilendirme çalışmalarında ele alınmış toplam 58 SNP iki ırkta genotiplendirilmiştir. Literatürden alınanlar dışındaki SNPlerin çoğunluğu genlerin fonksiyonel bölgelerinde aminoasit değişikliğine sebep olan polimorfizmlerden, 2 tane 5'UTR, 2 tane 3'UTR ve 1 tane Splice bölgesinden olmak üzere tesadüfi olarak seçilmiştir. Çizelge 4.1'de ve Ek13'de SNP lokusları hakkında bazı özet bilgiler ve Ek7'de SNP içeren bölgelerin dizileri verilmiştir.

Çizelge 4.1. SNP lokusları hakkında bazı özet bilgiler.

Sıra No	İlişkili Olduğu Süreç	NCBI Gen	dbSNP kod	Referans PMID
1	Süt verimi, Süt içeriği	<i>CSN1S1</i>	rs43703010	19284706(79), 21835015(141)
2		<i>CSN1S1</i>	rs110981354	
3		<i>CSN1S2</i>	rs207498943	
4		<i>CSN1S2</i>	rs109261203	19284706(79)
5		<i>CSN2</i>	rs43703013	19284706(79), 21835015(141)
6		<i>CSN2</i>	rs43703011	19284706(79), 21835015(141)
7		<i>CSN3</i>	rs43703016	19284706(79), 21835015(141)
8		<i>CSN3</i>	rs43703017	19284706(79), 21835015(141)
9		<i>LGB</i>	rs137581281	
10		<i>LGB</i>	rs109625649	19032698(90)
11		<i>LALBA</i>	rs444355314	
12		<i>LALBA</i>	rs209045823	15741664(41)
13		<i>PRL</i>	rs209106815	
14		<i>PRL</i>	rs211032652	15741664(41)
15		<i>PRLR</i>	rs43158737	
16		<i>PRLR</i>	rs109428015	

Çizelge 4.1. (devamı) SNP lokusları hakkında bazı özet bilgiler

Sıra No	İlişkili Olduğu Süreç	NCBI Gen	dbSNP kod	Ref. PMID	
17	Süt verimi, Süt içeriği	<i>PRLR</i>	rs135164815	16751675(96)	
18		<i>PRLH</i>	rs457826018		
19		<i>PRLH</i>	rs440624852		
20		<i>PRLHR</i>	rs136116329		
21		<i>LTF</i>	rs137554581	15741664(41)	
22		<i>LTF</i>	rs379782196		
23		<i>DGATI</i>	rs134083952		
24		<i>DGATI</i>	rs109234250	25867403(82), 25771043(99)	
25		<i>LEP</i>	rs29004488		
26		<i>LEP</i>	rs29004487	20670403(145)	
27		<i>LEPR</i>	rs109178802		
28		<i>LEPR</i>	rs133672995	15025576(146)	
29		Süt verimi, Süt içeriği, Üreme	<i>GHI</i>	rs134687399	
30			<i>GHI</i>	rs384417222	
31	<i>GHI</i>		rs41923484	15741664(41)	
32	<i>GHR</i>		rs385640152	16751675(96)	
33	<i>GHR</i>		rs209676814		
34	<i>GHRHR</i>		rs134261880		
35	<i>GHRHR</i>		rs133774330		
36	<i>IGF1</i>		rs134527338	15741664(41)	
37	<i>IGF1R</i>		rs134699109		
38	<i>IGF1R</i>		rs41640706	23780396(147)	
39	Üreme	<i>GNRHI</i>	rs110116537		
40		<i>GNRHR</i>	rs379846774		
41		<i>GNRHR</i>	rs41654417	21104139(148)	
42		<i>FSHB</i>	rs210206517		
43		<i>FSHR</i>	rs209882669	18393228(120)	
44		<i>LHB</i>	rs134716865		
45		<i>LHCGR</i>	rs41256848	23140330(1)	
46		<i>LHCGR</i>	rs385085505		
47		<i>ESR1</i>	rs134410731		
48		<i>ESR1</i>	rs137800872		
49		<i>ESR2</i>	rs435395847		
50		<i>ESRRA</i>	rs450941529		
51		<i>ESRRB</i>	rs135747177		
52		<i>ESRRG</i>	rs135080645		
53		<i>PGR</i>	rs133668769		
54		<i>PGR</i>	rs434893320		
55		<i>PTGFR</i>	rs132742501		
56		<i>PTGFR</i>	rs135545931		
57		<i>PTGFRN</i>	rs136616281		
58		<i>PTGFRN</i>	rs43331778		

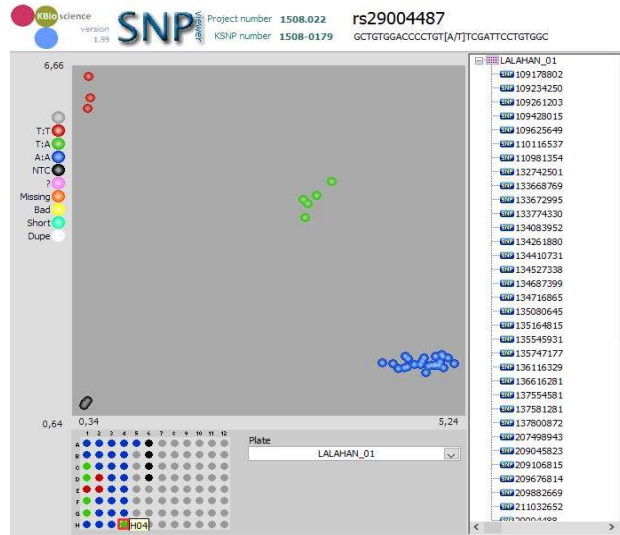
4.2.2. DNA İZOLASYONU

DNA izolasyonu standart fenol:kloroform:izoamilalkol yöntemine göre yapılmış (149), Titertek marka mikrohacim spektrometrede yapılan ölçümler sonucu ortalama 44 ng/ μ L konsantrasyonda 200 μ L DNA elde edilmiştir. Genotiplendirme çalışmaları için bu DNAlar 25 ng/ μ L olacak şekilde standardize edilmiştir. Ek12’de DNA izolasyon yöntemi verilmiştir.

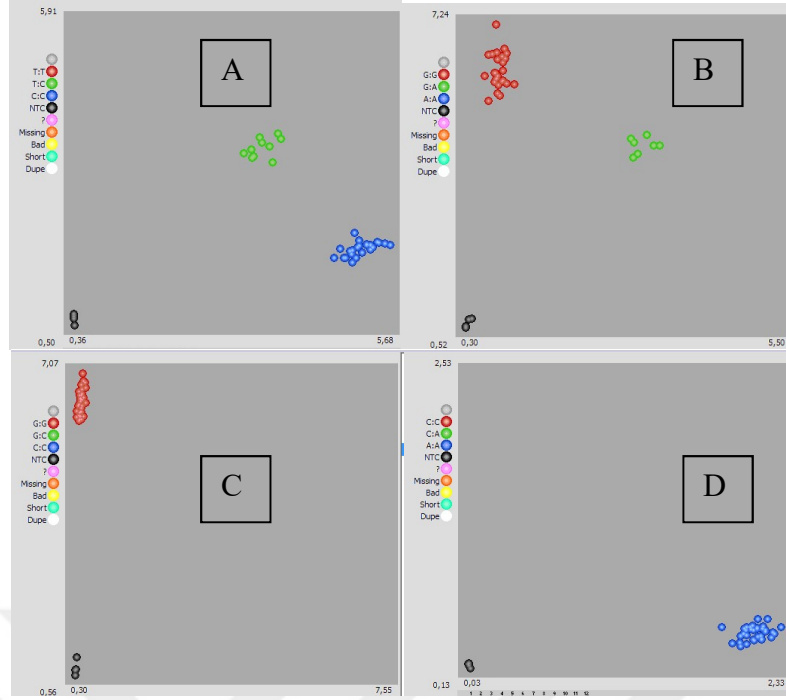
4.2.3. GENOTİPLENDİRME

Genotiplendirme amacıyla Kompetitive Allele Specific PCR genotyping system (KASP™) kullanılmıştır. Bu sistem allel özgün primerler kullanılarak rekabetçi PCR ile bölgenin çoğaltılması ve floresan etiketler vasıtasıyla sinyal deteksiyonu prensibine göre çalışmaktadır. Ek1 sistemin çalışma prensibinin şematize edilmiş halini göstermektedir.

PCR optimizasyonu ve metot validasyonu için Yerli Kara ırkına ait 30 DNA örneği KASP™ üreticisi LGC Genomics firmasının laboratuvarlarına gönderilip validasyonların bitiminde primerler ve master miks teslim alınmış ve laboratuvar çalışması aşamasına geçilmiştir. Şekillerde (4.1, 4.2) validasyon çalışmalarında çıkan sonuçlardan bazı örnekler verilmiştir.



Şekil 4.1. SNPviewer programından bir örnek görüntü (rs29004487)



Şekil 4.2. Validasyonda ortaya çıkan genotiplere çeşitli örnekler. A: homozigot (C:C) ve heterozigot (T:C) B: homozigot (G:G) ve heterozigot (G:A) C: homozigot (G:G) D: homozigot (A:A)

Laboratuvar çalışmaları A.Ü. Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı bünyesindeki Genomik biriminde, PCR için Hydrocycler ve reaksiyon sonu okumaları için Omega pleyt okuyucu kullanılarak yapılmıştır.

Her bir örnek için 384 kuyucuklu pleytlere 2.5 µL DNA, 2.5 µL mastır miks ve 0.07 µL primer olmak üzere toplam reaksiyon hacmi yaklaşık 5 µL olacak şekilde reaksiyon hazırlanır. Bu işlem için önce her bir SNP için örneklere yetecek kadar mastır miks ve primer karışımları laminer kabin içerisinde eppendorf tüplere hazırlanarak çalışmaya başlamadan önce buz içerisinde bekletilir. Daha önceden DNA örneklerinin dağıtılmış olduğu kuyucuklara bu karışım multidispenser ile her bir örnek için 2.5 µL eklenir. Ayrıca birkaç kuyucuğa her bir SNP için örneksiz, yani DNA içermeyen miks eklenir (NTC, Non-Template Control). Pleytler ısı kullanan özel bir cihaz ile kapatılarak Hydrocycler cihazına her seferinde 4 pleyt olacak şekilde yüklenir ve ilgili PCR protokolü çalıştırılır. İşlem sonunda pleyt çeviren bir santrifüjde spin işlemi uygulanarak okuyucuya yüklenir ve genotiplendirme işlemi gerçekleştirilir.

4.2.4. ANKET ÇALIŞMASI

Geneotiplendirme çalışmaları dışında Yerli Kara ırkına dair bilgi toplamak amacıyla çalışmanın materyalini oluşturan hayvanlar hakkında sahiplerinden bilgi toplama amaçlı bir anket formu oluşturulmuştur. Ayrıca mümkün olduğunca çok sayıda Yerli Kara yetiştiricisinden de ırk hakkında genel bilgiler edinmek amacıyla anket çalışması yapılmıştır. Anket soruları UHAEM’de çalışan zooteknistlere danışılarak kararlaştırılmıştır.. Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3 bu amaçla kullanılan anket formlarını göstermektedir.

Çizelge 4.2. Araştırmada kullanılan Yerli Kara materyali hakkında bireysel veri toplamaya yönelik anket formu

Hayvan Küpe No:	
Üretici İsmi	
İşletme	
Tarih	
Sorular	
Hayvanın yaşı (Ay)	
Hayvanın doğum sayısı	
İlk kızgınlık yaşı (Ay)	
İlk doğum yaşı (Ay)	
Buzağılama aralığı	
Kuruda kalma süresi	
Ölü doğum/düşük	
Laktasyon süresi (Gün)	
İlk 3 aylık süt verimi (L)	
İlk 3 aydan sonra süt verimi (L)	

Yerli Kara sığır ırkı hakkında genel bilgiler almak amacıyla sorulan sorular ırkın verim özellikleri hakkında yıllardır bu hayvanların yetiştiriciliğini yapan insanların ırkı gayet iyi tanıdıkları varsayımıyla hazırlanmıştır.

Çizelge 4.3. Yerli Kara ırkı hakkında yetiştiricilerden veri toplamaya yönelik anket formu

Üretici İsmi	
Tarih	
Sorular	
Kaç yaşına kadar verimlidir	
Kaç doğum yapar	
İlk kızgınlık yaşı (Ay)	
İlk doğum yaşı (Ay)	
İkiz doğurur mu	
Doğum kolaylığı	
Doğumlar arası süre ne kadardır	
En yüksek günlük süt verimi (L)	
En düşük günlük süt verimi (L)	
Laktasyon süresi (Gün)	

4.2.5. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

4.2.5.1. Genotip Verileri

Genotip verileri kullanılarak gözlenen heterozigotluk (H_o), beklenen heterozigotluk (H_e) ve Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) değerleri her bir SNP için hesaplanmıştır. Ayrıca her bir SNP allel ve genotip frekansları açısından Kikare testi ile ırklar arasında karşılaştırılmıştır.

FSTAT (150) (Versiyon 2.9.3(151)) programı kullanılarak her iki ırk için de F_{is} akrabalık katsayıları hesaplanmıştır. Ayrıca PowerMarker V3.25 (152) programı kullanılarak herhangi bir haplotip varlığı araştırılmıştır.

4.2.5.2. Anket Verileri

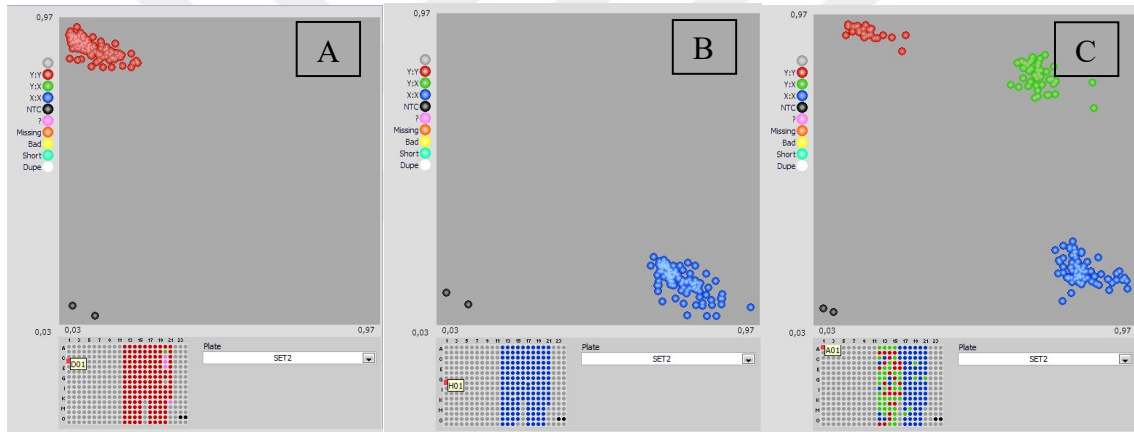
Anket verileri kullanılarak Yerli Kara örnekleminin tanımlayıcı istatistikleri (Minimum, Maksimum, Ortalama ve Standart Sapma) elde edilmiştir. Anket verileri ile elde edilen bilgiler genotip-fenotip korelasyonunu ortaya koymak için yeterli güvenilirlikte olmadığı için yapılmamıştır. Bu tür ilişkileri kurabilmek için zaten kalıtım derecesi oldukça düşük olan özelliklerde mutlaka çok sayıda iyi tutulmuş verim kaydına ihtiyaç vardır. O yüzden sadece tanımlayıcı istatistikler elde edilmiş ve ırk hakkında mevcut bilgilerle karşılaştırılmıştır.

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırma sonucunda genotiplendirilen 58 SNP bölgesinden 27 tanesi polimorfizm göstermemiş, 31 tanesi polimorfik bulunurken bu 31 lokusun genotip ve allel frekansları Kikare testi ile karşılaştırılmış, 21 lokus allel frekansları açısından ($\alpha=0.01$; $df=1$; $\chi^2=6.635$), 17 lokus genotip frekansları açısından ($\alpha=0.01$; $df=2$; $\chi^2=9.210$), farklı bulunmuştur.

5.1. SNP GENOTİPLERİ

Genotiplendirme çalışmalarına ait SNPviewer görüntülerine bazı örnekler Şekil 5.1’de verilmiştir. Yapılan genotiplendirme çalışmaları sonucunda her iki ırkta da polimorfizm göstermeyen lokuslar Çizelge 5.1’de verilmiştir. Irklardan birinde veya her ikisinde polimorfik bulunan lokuslar Çizelge 5.2’de verilmiştir.



Şekil 5.1. KASPT™ SNP genotiplendirme sistemi kullanılarak yapılan genotiplendirmelerin kümelenme görüntüleri A) Homozigot Y, B) Homozigot X, C) Heterozigot (rs43703010)

Çizelge 5.1. Polimorfizm göstermeyen lokuslar

SNP No	dbSNP kod	Allel	Gen	Genotip
1	rs110981354	G/C	<i>CSN1S1</i>	CC
2	rs43703017	A/G	<i>CSN3</i>	GG
3	rs137581281	C/G	<i>LGB</i>	CC
4	rs444355314	T/A	<i>LALBA</i>	TT
5	rs43158737	G/A	<i>PRLR</i>	AA
6	rs457826018	G/A	<i>PRLH</i>	AA
7	rs440624852	T/C	<i>PRLH</i>	TT
8	rs136116329	A/C	<i>PRLHR</i>	AA
9	rs134083952	T/C	<i>DGATI</i>	CC
10	rs109178802	A/C(T/G)	<i>LEP</i>	GG
11	rs134261880	A/T	<i>GHRHR</i>	TT
12	rs134699109	A/C	<i>IGF1R</i>	CC

Çizelge 5.1.(devamı) Polimorfizm göstermeyen lokuslar

SNP No	dbSNP kod	Allel	Gen	Genotip
13	rs41640706	G/A(C/T)	<i>IGF1R</i>	CC
14	rs134716865	T/G	<i>LHB</i>	GG
15	rs385085505	G/A	<i>LHCGR</i>	AA
16	rs134410731	A/C	<i>ESR1</i>	CC
17	rs137800872	T/C	<i>ESR1</i>	TT
18	rs435395847	T/G	<i>ESR2</i>	TT
19	rs450941529	T/G	<i>ESRRA</i>	TT
20	rs135747177	G/C	<i>ESRRB</i>	CC
21	rs135080645	T/G	<i>ESRRG</i>	GG
22	rs133668769	T/C	<i>PGR</i>	CC
23	rs434893320	C/A	<i>PGR</i>	CC
24	rs132742501	A/G(T/C)	<i>PTGFR (FP)</i>	CC
25	rs135545931	T/C	<i>PTGFR (FP)</i>	CC
26	rs136616281	A/C	<i>PTGFRN</i>	AA
27	rs43331778	T/C	<i>PTGFRN</i>	CC

Çizelge 5.2. Polimorfik lokusların ırklarda genotip sayıları

Sıra No	dbSNP kod	Allel	Gen	Genotipler			Yerli Kara Genotip Sayıları			Siyah Alaca Genotip Sayıları		
1	rs43703010	A/G	<i>CSN1S1</i>	GG	AA	GA	11	26	38	71	0	5
2	rs207498943	C/T	<i>CSN1S2</i>	TT	CC	TC	61	1	13	74	0	2
3	rs109261203	T/C(A/G)	<i>CSN1S2</i>	GG	AA	GA	0	67	8	16	23	37
4	rs43703013	G/C	<i>CSN2</i>	GG	CC	GC	2	63	10	0	71	4
5	rs43703011	G/T(C/A)	<i>CSN2</i>	CC	AA	CA	3	49	23	13	24	34
6	rs43703016	C/A	<i>CSN3</i>	CC	AA	CA	33	12	29	47	5	24
7	rs109625649	T/C	<i>LGB</i>	TT	CC	TC	36	7	32	25	17	34
8	rs209045823	G/A	<i>LALBA</i>	GG	AA	GA	0	69	6	5	39	32
9	rs209106815	T/A	<i>PRL</i>	TT	AA	TA	11	31	33	0	60	14
10	rs211032652	T/C	<i>PRL</i>	TT	CC	TC	32	11	31	72	2	2
11	rs109428015	C/T	<i>PRLR</i>	TT	CC	TC	69	0	6	68	1	7
12	rs135164815	G/A	<i>PRLR</i>	GG	AA	GA	0	57	23	0	38	42
13	rs137554581	C/T	<i>LTF</i>	TT	CC	TC	10	29	36	37	9	26
14	rs379782196	T/A	<i>LTF</i>	TT	AA	TA	1	52	22	0	75	1
15	rs109234250	G/A	<i>DGATI</i>	GG	AA	GA	9	28	38	4	53	19
16	rs29004487	A/T	<i>LEP</i>	TT	AA	TA	52	1	21	65	0	11
17	rs29004488	A/G	<i>LEP</i>	GG	AA	AG	20	15	40	8	27	41
18	rs133672995	C/T	<i>LEPR</i>	TT	CC	TC	50	2	23	60	0	15
19	rs134687399	G/A	<i>GHI</i>	GG	AA	GA	0	72	8	0	79	1
20	rs384417222	G/A	<i>GHI</i>	GG	AA	GA	0	60	15	0	75	1
21	rs41923484	G/C	<i>GHI</i>	GG	CC	GC	2	54	19	1	59	16
22	rs385640152	A/T	<i>GHR</i>	TT	AA	TA	73	0	2	43	3	29
23	rs209676814	C/T	<i>GHR</i>	TT	CC	TC	59	2	14	68	0	6

Çizelge 5.2.(devamı) Polimorfik lokusların ırklarda genotip sayıları

Sıra No	dbSNP kod	Allel	Gen	Genotipler			Yerli Kara Genotip Sayıları			Siyah Alaca Genotip Sayıları		
				TT	CC	TC						
24	rs133774330	C/T	<i>GHRHR</i>	TT	CC	TC	54	1	25	79	0	1
25	rs134527338	A/G(T/C)	<i>IGF1</i>	TT	CC	TC	0	79	1	1	68	11
26	rs110116537	A/G	<i>GNRHI</i>	GG	AA	GA	25	13	41	6	41	32
27	rs379846774	T/A	<i>GNRHR</i>	TT	AA	TA	0	66	6	0	75	0
28	rs41654417	T/C	<i>GNRHR</i>	TT	CC	TC	71	0	3	67	1	7
29	rs210206517	G/A	<i>FSHB</i>	AA	GG	AG	0	80	0	3	60	1
30	rs209882669	G/C	<i>FSHR</i>	GG	CC	GC	7	50	18	3	44	29
31	rs41256848	C/A(G/T)	<i>LHCGR</i>	TT	GG	TG	75	0	0	28	10	38

5.2. ANKET VERİLERİ

Yerli Kara üreticilerinden her bir hayvana ait bireysel verim kayıtları anket yoluyla toplanmıştır. Ek10'da ankette cevap aranan sorular ve üreticilerin verdikleri cevaplar görülmektedir. Hayvanın yaşı, doğum sayısı, ilk kızgınlık yaşı, buzağılama aralığı, kuruda kalma süresi soruları üreme ile ilgili hayvanlar hakkında bilgi sağlamaya yönelikken, ilk 3 ayda günlük süt verimi, 3 aydan sonraki günlük süt verimi ve laktasyon süresi soruları süt verimine yönelik olarak yöneltilmiş sorulardır. Hayvanlar ilk 3 ay yavrularını emzirdiği için laktasyon süt verimi iki dönem olarak değerlendirilmiştir.

5.3. SNP GENOTİP VERİLERİNİN ANALİZİ

Elde edilen SNP genotip verileri kullanılarak örneklere ait bazı değerler hesaplanarak Çizelge 5.3'de verilmiştir. Bu değerler DNA belirteçleri ile yapılan hemen bütün çalışmalarda hesaplanan ve hem belirteçler hakkında hem de popülasyonlar hakkında değerlendirme yapma imkânı sunan parametrelerdir. Özellikle popülasyon genetiği hesaplamalarında, genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinde sıkça kullanılır.

Çizelge 5.3. Her bir SNP için Ho (gözlenen heterozigotluk), He (beklenen heterozigotluk) ve PIC (polimorfik bilgi içeriği) (YK: Yerli Kara, SA: Siyah Alaca)

No	Gen	SNP	Ho			He			PIC		
			YK	SA	Total	YK	SA	Total	YK	SA	Total
1	<i>CSN1S1</i>	rs43703010	0.51	0.07	0.29	0.48	0.06	0.43	0.37	0.06	0.34
2	<i>CSN1S2</i>	rs207498943	0.17	0.03	0.10	0.18	0.03	0.11	0.16	0.03	0.10
3	<i>CSN1S2</i>	rs109261203	0.11	0.49	0.30	0.10	0.50	0.38	0.10	0.37	0.31
4	<i>CSN2</i>	rs43703013	0.13	0.05	0.09	0.17	0.05	0.11	0.16	0.05	0.11
5	<i>CSN2</i>	rs43703011	0.31	0.48	0.39	0.31	0.49	0.42	0.26	0.37	0.33
6	<i>CSN3</i>	rs43703016	0.39	0.32	0.35	0.46	0.35	0.41	0.35	0.29	0.33
7	<i>LGB</i>	rs109625649	0.43	0.45	0.44	0.43	0.49	0.47	0.34	0.37	0.36
8	<i>LALBA</i>	rs209045823	0.08	0.42	0.25	0.08	0.40	0.27	0.07	0.32	0.23

Çizelge 5.3.(devamı) Her bir SNP için Ho (gözlenen heterozigotluk), He (beklenen heterozigotluk) ve PIC (polimorfik bilgi içeriği) (YK: Yerli Kara, SA: Siyah Alaca)

No	Gen	SNP	Ho			He			PIC		
			YK	SA	Total	YK	SA	Total	YK	SA	Total
9	<i>PRL</i>	rs209106815	0.44	0.19	0.32	0.46	0.17	0.36	0.36	0.16	0.29
10	<i>PRL</i>	rs211032652	0.42	0.03	0.22	0.46	0.08	0.32	0.35	0.07	0.27
11	<i>PRLR</i>	rs109428015	0.08	0.09	0.09	0.08	0.11	0.09	0.07	0.11	0.09
12	<i>PRLR</i>	rs135164815	0.29	0.53	0.41	0.25	0.39	0.32	0.22	0.31	0.27
13	<i>LTF</i>	rs137554581	0.48	0.36	0.42	0.47	0.42	0.50	0.36	0.33	0.37
14	<i>LTF</i>	rs379782196	0.29	0.01	0.15	0.27	0.01	0.15	0.23	0.01	0.14
15	<i>DGATI</i>	rs109234250	0.51	0.25	0.38	0.47	0.29	0.40	0.36	0.25	0.32
16	<i>LEP</i>	rs29004487	0.28	0.15	0.21	0.26	0.13	0.20	0.23	0.13	0.18
17	<i>LEP</i>	rs29004488	0.53	0.54	0.54	0.50	0.47	0.50	0.37	0.36	0.37
18	<i>LEPR</i>	rs133672995	0.31	0.20	0.25	0.30	0.18	0.24	0.25	0.16	0.21
19	<i>GHI</i>	rs134687399	0.10	0.01	0.06	0.10	0.01	0.06	0.09	0.01	0.05
20	<i>GHI</i>	rs384417222	0.20	0.01	0.11	0.18	0.01	0.10	0.16	0.01	0.10
21	<i>GHI</i>	rs41923484	0.25	0.21	0.23	0.26	0.21	0.24	0.23	0.19	0.21
22	<i>GHR</i>	rs385640152	0.03	0.39	0.21	0.03	0.36	0.22	0.03	0.29	0.19
23	<i>GHR</i>	rs209676814	0.19	0.08	0.13	0.21	0.08	0.15	0.19	0.08	0.14
24	<i>GHRHR</i>	rs133774330	0.31	0.01	0.16	0.28	0.01	0.16	0.24	0.01	0.15
25	<i>IGFI</i>	rs134527338	0.01	0.14	0.08	0.01	0.15	0.08	0.01	0.14	0.08
26	<i>GNRHI</i>	rs110116537	0.52	0.41	0.46	0.49	0.4	0.49	0.37	0.32	0.37
27	<i>GNRHR</i>	rs379846774	0.08	0.00	0.04	0.08	0.00	0.04	0.08	0.00	0.04
28	<i>GNRHR</i>	rs41654417	0.04	0.09	0.07	0.04	0.11	0.08	0.04	0.11	0.07
29	<i>FSHB</i>	rs210206517	0.00	0.02	0.01	0.00	0.10	0.05	0.00	0.10	0.05
30	<i>FSHR</i>	rs209882669	0.24	0.38	0.31	0.34	0.35	0.35	0.28	0.29	0.29
31	<i>LHCGR</i>	rs41256848	0.00	0.50	0.25	0.00	0.47	0.31	0.00	0.36	0.26

Çizelge 5.4. Her bir SNP için hem Yerli Kara (YK) hem de Siyah Alaca (SA) ırklarında genotip frekansları

No	SNP	YK			SA			TOPLAM			AA	BB	AB
		AA	BB	AB	AA	BB	AB	AA	BB	AB			
1	rs43703010	0.147	0.347	0.507	0.934	0.000	0.066	0.543	0.172	0.285	GG	AA	GA
2	rs207498943	0.813	0.013	0.173	0.974	0.000	0.026	0.894	0.007	0.099	TT	CC	TC
3	rs109261203	0.000	0.893	0.107	0.211	0.303	0.487	0.106	0.596	0.298	GG	AA	GA
4	rs43703013	0.027	0.840	0.133	0.000	0.947	0.053	0.013	0.893	0.093	GG	CC	GC
5	rs43703011	0.040	0.653	0.307	0.183	0.338	0.479	0.110	0.500	0.390	CC	AA	CA
6	rs43703016	0.446	0.162	0.392	0.618	0.066	0.316	0.533	0.113	0.353	CC	AA	CA
7	rs109625649	0.480	0.093	0.427	0.329	0.224	0.447	0.404	0.159	0.437	TT	CC	TC
8	rs209045823	0.000	0.920	0.080	0.066	0.513	0.421	0.033	0.715	0.252	AA	GG	GA
9	rs209106815	0.147	0.413	0.440	0.000	0.811	0.189	0.074	0.611	0.315	TT	AA	TA
10	rs211032652	0.432	0.149	0.419	0.947	0.026	0.026	0.693	0.087	0.220	TT	CC	TC
11	rs109428015	0.920	0.000	0.080	0.895	0.013	0.092	0.907	0.007	0.086	TT	CC	TC
12	rs135164815	0.000	0.713	0.288	0.000	0.475	0.525	0.000	0.594	0.406	GG	AA	GA
13	rs137554581	0.133	0.387	0.480	0.514	0.125	0.361	0.320	0.259	0.422	TT	CC	TC
14	rs379782196	0.013	0.693	0.293	0.000	0.987	0.013	0.007	0.841	0.152	TT	AA	TA
15	rs109234250	0.120	0.373	0.507	0.053	0.697	0.250	0.086	0.536	0.377	GG	AA	GA
16	rs29004487	0.703	0.014	0.284	0.855	0.000	0.145	0.780	0.007	0.213	TT	AA	TA
17	rs29004488	0.267	0.200	0.533	0.105	0.355	0.539	0.185	0.278	0.536	GG	AA	AG
18	rs133672995	0.667	0.027	0.307	0.800	0.000	0.200	0.733	0.013	0.253	TT	CC	TC
19	rs134687399	0.000	0.900	0.100	0.000	0.988	0.013	0.000	0.944	0.056	GG	AA	GA

Çizelge 5.4.(devamı) Her bir SNP için hem Yerli Kara (YK) hem de Siyah Alaca (SA) ırklarında genotip frekansları

No	SNP*	YK			SA			TOPLAM			AA	BB	AB
		AA	BB	AB	AA	BB	AB	AA	BB	AB			
20	rs384417222	0.000	0.800	0.200	0.000	0.987	0.013	0.000	0.894	0.106	GG	AA	GA
21	rs41923484	0.027	0.720	0.253	0.013	0.776	0.211	0.020	0.748	0.232	GG	CC	GC
22	rs385640152	0.973	0.000	0.027	0.573	0.040	0.387	0.773	0.020	0.207	TT	AA	TA
23	rs209676814	0.787	0.027	0.187	0.919	0.000	0.081	0.852	0.013	0.134	TT	CC	TC
24	rs133774330	0.675	0.013	0.313	0.988	0.000	0.013	0.831	0.006	0.163	TT	CC	TC
25	rs134527338	0.000	0.988	0.013	0.013	0.850	0.138	0.006	0.919	0.075	TT	CC	TC
26	rs110116537	0.316	0.165	0.519	0.076	0.519	0.405	0.196	0.342	0.462	GG	AA	GA
27	rs379846774	0.000	0.917	0.083	0.000	1.000	0.000	0.000	0.959	0.041	TT	AA	TA
28	rs41654417	0.959	0.000	0.041	0.893	0.013	0.093	0.926	0.007	0.067	TT	CC	TC
29	rs210206517	0.000	1.000	0.000	0.047	0.938	0.016	0.021	0.972	0.007	AA	GG	AG
30	rs209882669	0.093	0.667	0.240	0.039	0.579	0.382	0.066	0.623	0.311	GG	CC	GC
31	rs41256848	1.000	0.000	0.000	0.368	0.132	0.500	0.682	0.066	0.252	TT	GG	TG

*Koyu karakterli SNPler ırklar arasında genotip ve/veya allel frekansları açısından farklı bulunmuşlardır.

Çizelge 5.5. Allel sayıları ve frekansları (YK: Yerli Kara, SA: Siyah Alaca)

No	SNP*	YK		SA		YK		SA		A	B
		A	B	A	B	A	B	A	B		
1	rs43703010	60	90	147	5	0.400	0.600	0.967	0.033	G	A
2	rs207498943	135	15	150	2	0.900	0.100	0.987	0.013	T	C
3	rs109261203	8	142	69	83	0.053	0.947	0.454	0.546	G	A
4	rs43703013	14	136	4	146	0.093	0.907	0.027	0.973	G	C
5	rs43703011	29	121	60	82	0.193	0.807	0.423	0.577	C	A
6	rs43703016	95	53	118	34	0.642	0.358	0.776	0.224	C	A
7	rs109625649	104	46	84	68	0.693	0.307	0.553	0.447	T	C
8	rs209045823	6	144	42	110	0.040	0.960	0.276	0.724	A	G
9	rs209106815	55	95	14	134	0.367	0.633	0.095	0.905	T	A
10	rs211032652	95	53	146	6	0.642	0.358	0.961	0.039	T	C
11	rs109428015	144	6	143	9	0.960	0.040	0.941	0.059	T	C
12	rs135164815	23	137	42	118	0.144	0.856	0.263	0.738	G	A
13	rs137554581	56	94	100	44	0.373	0.627	0.694	0.306	T	C
14	rs379782196	24	126	1	151	0.160	0.840	0.007	0.993	T	A
15	rs109234250	56	94	27	125	0.373	0.627	0.178	0.822	G	A
16	rs29004487	125	23	141	11	0.845	0.155	0.928	0.072	T	A
17	rs29004488	80	70	57	95	0.533	0.467	0.375	0.625	G	A
18	rs133672995	123	27	135	15	0.820	0.180	0.900	0.100	T	C
19	rs134687399	8	152	1	159	0.050	0.950	0.006	0.994	G	A
20	rs384417222	15	135	1	151	0.100	0.900	0.007	0.993	G	A
21	rs41923484	23	127	18	134	0.153	0.847	0.118	0.882	G	C
22	rs385640152	148	2	115	35	0.987	0.013	0.767	0.233	T	A
23	rs209676814	132	18	142	6	0.880	0.120	0.959	0.041	T	C
24	rs133774330	133	27	159	1	0.831	0.169	0.994	0.006	T	C
25	rs134527338	1	159	13	147	0.006	0.994	0.081	0.919	T	C
26	rs110116537	91	67	44	114	0.576	0.424	0.278	0.722	G	A
27	rs379846774	6	138	0	150	0.042	0.958	0.000	1.000	T	A
28	rs41654417	145	3	141	9	0.980	0.020	0.940	0.060	T	C
29	rs210206517	0	160	7	121	0.000	1.000	0.055	0.945	A	G
30	rs209882669	32	118	35	117	0.213	0.787	0.230	0.770	G	C
31	rs41256848	150	0	94	58	1.000	0.000	0.618	0.382	T	G

*Koyu karakterli SNPler ırklar arasında genotip ve/veya allel frekansları açısından farklı bulunmuşlardır.

Genotip frekansları için 2x3 ve allel frekansları için 2x2 olasılık tabloları kullanılarak Kikare (χ^2) testi ile ırklar arası fark olup olmadığı tip1 hata oranı $\alpha=0.01$ ve serbestlik derecesi (df) genotipler için 2 ve alleller için 1 alınarak, kikare tablosundan eşik değerlerle karşılaştırılarak ırklar arasında farklı olan SNPLer belirlenmiş ve Çizelge 5.6'da verilmiştir. Çizelgede görüleceği üzere bazı SNPLer hem genotip hem fenotip frekansları açısından farklı bulunmuşken bazıları sadece allel frekansları açısından farklı bulunmuşlardır.

Çizelge 5.6. Genotip ve Allel frekanslarının iki ırkta χ^2 testi ile karşılaştırılması.

No	Gen	SNP	Genotip			Allel		
			$\alpha=0.01; df=2; \chi^2=9.210$			$\alpha=0.01; df=1; \chi^2=6.635$		
			Kikare	p*	Farklı	Kikare	p*	Farklı
1	<i>CSN1S1</i>	rs43703010	95.23	0.000	X	112.60	0.000	X
2	<i>CSN1S2</i>	rs207498943	10.31		X	10.72	0.001	X
3	<i>CSN1S2</i>	rs109261203	56.20	0.000	X	63.79	0.000	X
4	<i>CSN2</i>	rs43703013	5.05	0.052		5.91	0.015	
5	<i>CSN2</i>	rs43703011	16.84	0.000	X	18.09	0.000	X
6	<i>CSN3</i>	rs43703016	5.78	0.056		6.58	0.010	
7	<i>LGB</i>	rs109625649	6.21	0.045		6.36	0.012	
8	<i>LALBA</i>	rs209045823	31.12	0.000	X	31.54	0.000	X
9	<i>PRL</i>	rs209106815	27.92	0.000	X	30.99	0.000	X
10	<i>PRL</i>	rs211032652	47.08	0.000	X	48.19	0.000	X
11	<i>PRLR</i>	rs109428015	1.08			0.59	0.442	
12	<i>PRLR</i>	rs135164815	9.35	0.002	X	6.97	0.008	X
13	<i>LTF</i>	rs137554581	27.60	0.000	X	30.42	0.000	X
14	<i>LTF</i>	rs379782196	24.33		X	23.40	0.000	X
15	<i>DGATI</i>	rs109234250	15.97	0.000	X	14.51	0.000	X
16	<i>LEP</i>	rs29004487	5.54			5.15	0.023	
17	<i>LEP</i>	rs29004488	8.58	0.014		7.64	0.006	X
18	<i>LEPR</i>	rs133672995	4.59	0.101		3.99	0.046	
19	<i>GHI</i>	rs134687399	5.77	0.016		5.60	0.018	
20	<i>GHI</i>	rs384417222	13.91	0.000	X	13.13	0.000	X
21	<i>GHI</i>	rs41923484	0.81	0.669		0.78	0.376	
22	<i>GHR</i>	rs385640152	34.28	0.000	X	33.57	0.000	X
23	<i>GHR</i>	rs209676814	5.83			6.35	0.012	X
24	<i>GHRHR</i>	rs133774330	27.85		X	26.46	0.001	X
25	<i>IGFI</i>	rs134527338	10.16		X	10.76	0.001	X
26	<i>GNRHI</i>	rs110116537	27.27	0.000	X	28.57	0.000	X
27	<i>GNRHR</i>	rs379846774	6.52	0.011		6.38	0.012	X
28	<i>GNRHR</i>	rs41654417	2.71			3.04	0.081	
29	<i>FSHB</i>	rs210206517	5.14			8.97	0.003	X
30	<i>FSHR</i>	rs209882669	4.55	0.103		0.13	0.723	
31	<i>LHCGR</i>	rs41256848	69.44	0.000	X	70.84	0.000	X

* Herhangi bir hücrede 2den daha az sayıda veri olan olasılık tablolarında p değeri hesaplanamamıştır.

Polimorfik bulunan lokuslarda örneklemelerin akrabalık düzeyini değerlendirebilmek amacıyla FSTAT programı kullanılarak elde edilen F_{is} değerleri hem lokuslar bazında hem de toplam olarak Çizelge 5.7’de verilmiştir.

Çizelge 5.7. Polimorfik bölgelerden elde edilen akrabalık katsayıları

Sıra No	dbSNP kod*	Allel	NCBI Gen	F_{is}	
				Yerli Kara	Siyah Alaca
1	rs43703010	A/G	<i>CSN1S1</i>	-0.049	-0.027
2	rs207498943	C/T	<i>CSN1S2</i>	0.044	-0.007
3	rs109261203	T/C	<i>CSN1S2</i>	-0.050	0.025
4	rs43703013	G/C	<i>CSN2</i>	0.219	-0.021
5	rs43703011	G/T	<i>CSN2</i>	0.024	0.026
6	rs43703016	C/A	<i>CSN3</i>	0.154	0.097
7	rs109625649	T/C	<i>LGB</i>	0.003	0.102
8	rs209045823	G/A	<i>LALBA</i>	-0.035	-0.046
9	rs209106815	T/A	<i>PRL</i>	0.059	-0.098
10	rs211032652	T/C	<i>PRL</i>	0.096	0.657
11	rs109428015	C/T	<i>PRLR</i>	-0.035	0.180
12	rs135164815	G/A	<i>PRLR</i>	-0.162	-0.350
13	rs137554581	C/T	<i>LTF</i>	-0.019	0.156
14	rs379782196	T/A	<i>LTF</i>	-0.085	0.000
15	rs109234250	G/A	<i>DGATI</i>	-0.076	0.151
16	rs29004487	A/T	<i>LEP</i>	-0.074	-0.071
<u>17</u>	<u>rs29004488</u>	A/G	<i>LEP</i>	-0.065	-0.144
18	rs133672995	C/T	<i>LEPR</i>	-0.032	-0.104
19	rs134687399	G/A	<i>GHI</i>	-0.046	0.000
20	rs384417222	G/A	<i>GHI</i>	-0.104	0.000
21	rs41923484	G/C	<i>GHI</i>	0.031	-0.002
22	rs385640152	A/T	<i>GHR</i>	-0.007	-0.074
23	<u>rs209676814</u>	C/T	<i>GHR</i>	0.123	-0.035
24	rs133774330	C/T	<i>GHRHR</i>	-0.108	0.000
25	rs134527338	A/G	<i>IGFI</i>	0.000	0.085
26	rs110116537	A/G	<i>GNRHI</i>	-0.056	-0.002
<u>27</u>	<u>rs379846774</u>	T/A	<i>GNRHR</i>	-0.036	NA
28	rs41654417	T/C	<i>GNRHR</i>	-0.014	0.179
<u>29</u>	<u>rs210206517</u>	G/A	<i>FSHB</i>	NA	0.851
30	rs209882669	G/C	<i>FSHR</i>	0.291	-0.070
31	rs41256848	C/A	<i>LHCGR</i>	NA	-0.053
Total F_{is}				0.005	0.009

*Koyu karakterli SNPler hem genotip hem de allel frekansları açısından, altı çizgili italik karakterli SNPler sadece allel frekansları açısından farklı bulunan SNPlerdir.

PowerMarker programı kullanılarak polimorfik 31 lokusu içerecek şekilde yapılan haplotip taramasında frekans büyüklüklerine göre ilk beş haplotip ve frekansları ile program tarafından hesaplanan bazı parametreler Çizelge 5.8 ve Çizelge 5.9’da verilmiştir.

Çizelge 5.8. 31 lokusla yapılan haplotip taramasında frekansı en yüksek ilk 5 haplotip

İrk		Haplotip	Frekans
Yerli Kara	1	ATACACTAATTACAATGTAACCTTTCGATGCT	0,133
	2	GTACAATAATTACAATGTAACCTTTCGATGCT	0,027
	3	ATACACTAATTACAATATAACTTTCGATGCT	0,020
	4	ATACAATAATTACAATGTAACCTTTCGATGCT	0,020
	5	ATACAACAATTACAAAGTAACTTTCAATGCT	0,020
Siyah Alaca	1	GTGCCCTAATTATAATATAACTTTCAATGCT	0,085
	2	GTACACCAATTACAATATAACTTTCAATGCT	0,068
	3	GTACACTGATTGTAATATAACTTTCAATGCT	0,037
	4	GTACACCAATTATAATATAACTTTCAATGCT	0,030
	5	GTACAATAATTATAATGTAACCTTTCAATGCG	0,026

Haplotip frekanslarını hesaplamak üzere kullanılan programda gametik fazın bilinmediği seçenek işaretlenerek taram yaptırılmış ve Çizelge 5.9’da verilen haplotip sayıları elde edilmiştir.

Çizelge 5.9. 31 lokuslu haplotip taramalarına ait bazı parametreler

	Yerli Kara	Siyah Alaca	Toplam
Örnek Büyüklüğü	75	76	151
Çeşitlilik	0.975	0.980	0.989
Diplo tip sayısı	75	76	151
Haplotip sayısı	434	442	1141
Efektif haplotip sayısı	156	152	334

5.4. ANKET VERİLERİNİN ANALİZİ

Bu çalışmada kullanılan her bir Yerli Kara hayvan için sahibi olan üreticilere sorulan sorulara karşılık alınan cevaplar Ek10'da verilmiştir. Bu veriler kullanılarak tanımlayıcı istatistikler çıkarılmış ve Çizelge 5.10'da özetlenmiştir.

Çizelge 5.10. Hayvan bazında sorulan sorular ve alınan cevapların tanımlayıcı istatistikleri

SORULAR										
1	Hayvanın Yaşı (yıl)									
2	Doğumsayısı									
3	İlk kızgınlık yaşı(Ay)									
4	İlk doğum yaşı(Ay)									
5	Buzağılama aralığı(Ay)									
6	Kuruda kalma süresi (Ay)									
7	Ölü doğum-düşük									
8	İlk 3 ay günlük süt verimi (L)									
9	3 aydan sonra günlük süt verimi (L)									
10	Laktasyon süresi (gün)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Min	3	1	7	18	9	2		1	1	120
Maks	17	13	36	48	18	6		10	5	270
Ort	7.05	4.24	23.32	35.19	12.33	3.58		3.70	1.88	176.35
Ssapma	4.09	3.69	4.52	4.69	1.39	0.98		1.50	0.98	31.39

Ek6'da Yerli Kara ırkı için genel bilgi almak amacıyla üreticilere sorulan sorular ve cevapları verilmiştir. Bu veriler kullanılarak yapılan tanımlayıcı istatistik hesapları da Çizelge 5.11'de özetlenmiştir.

Çizelge 5.11. Üretici bazında sorulan sorular ve cevapların tanımlayıcı istatistikleri.

SORULAR											
1	Kaç yaşına kadar verimlidir (yıl)					6	Doğum kolaylığı (Kolay-Zor)				
2	Kaç doğum yapar					7	Doğumlar arası süre (ay)				
3	İlk kızgınlık yaşı (ay)					8	En yüksek günlük süt verimi (L)				
4	İlk doğum yaşı (ay)					9	En düşük günlük süt verimi(L)				
5	İkiz doğurur mu(E-H)					10	Laktasyon süresi (gün)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Min	8	5	18	28			9	2	1	120	
Maks	17	14	36	48			18	10	4	300	
Ort	12.51	9.15	24.15	36.02			12.38	4.15	1.69	172.98	
Ssapma	2.14	2.05	3.15	3.31			1.73	1.58	0.82	39.17	
EVET-KOLAY (5-6)						9	47				
HAYIR-ZOR (5-6)						38	0				

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırma materyalinden elde edilen SNP genotip verileri çeşitli parametreler yönünden değerlendirilerek hem ırklar hem de genler ve SNPlar hakkında bazı çıkarımlar yapılmak üzere bu bölümde değerlendirilmiştir.

6.1. TARTIŞMA

Çizelge 5.3'de her iki ırka ait SNP genotipleri kullanılarak gözlenen heterozigotluk (H_o), beklenen heterozigotluk (H_e) ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri verilmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri popülasyonların genetik çeşitlilik açısından durumları hakkında bilgi veren değerlerdir. İki değer arasında fark oluşması Hardy-Weinberg dengesinden sapma anlamına gelir. Heterozigotluğun yüksek olması ırk için genetik çeşitlilik açısından olumlu bir durumken, fonksiyonel değişikliğe sebep olan ve bir verim özelliği ile ilişkilendirilmiş lokuslar söz konusu olduğunda tercih edilen allel açısından homozigotluk tercih edilir. PIC değeri heterozigotluk ile doğru orantılıdır. Heterozigotluk oranı arttıkça PIC değeri de artar.

Çizelge 5.3'de verilen değerler polimorfik olan bütün SNP'ler açısından her iki örnekleme de H_o ve H_e değerlerinin birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. Irklar arasında farklar olmakla beraber ırk içinde bu değerlerin hemen hemen aynı olması Hardy-Weinberg dengesinden sapma olmadığının göstergesidir. Bu aynı zamanda örneklemlerde seleksiyon baskısının olmadığına da bir göstergedir. Yerli Kara seleksiyon yapılmayan, hatta doğal koruma alanlarında genetik kaynak koruma prensiplerine uygun korunan bir ırk olduğu için bu beklenen bir durumdur. Siyah Alaca ırkı süt verimi açısından aslında yoğun seleksiyon yapılan bir ırktır. Bununla birlikte bu çalışmadaki örneklem farklı şehirlerden seçilerek toplanmış bir sürü olduğu ve henüz seleksiyon baskısına maruz kalmadığı için denge durumu bu örneklem için de geçerlidir.

Çalışmanın örneklemlerinde 31 polimorfik lokus için F_{is} değerleri Yerli Kara için 0.005 ve Siyah Alaca için 0.009 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler de gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerlerinin birbirine çok yakın ve popülasyonların dengede olduğunu dolayısıyla akrabalığın düşük olduğunu ifade eder. F_{is} değerinin 0 olması tam denge

durumunu ifade eder. Yoğun akrabalı yetiştirme durumunda F_{is} değeri 0'dan büyük değerler alır.

31 polimorfik lokusla haplotipler tahmin edilmiş, Yerli Kara için 156, Siyah Alaca için 152 efektif haplotip ortaya çıkmıştır. Her iki ırkta ortak herhangi bir haplotip olmadığı gibi ırklarda öne çıkan haplotipler de gözlenmemiştir. Yerli Kara örnekleminde en yüksek haplotip frekansı 0.133 iken Siyah Alaca örnekleminde 0.085 olmuştur.

Hem genotip, hem allel frekansları birlikte değerlendirildiğinde ve kikare testinin sonuçlarına göre kazein gen bölgesinden seçilerek panele alınan 8 adet SNPten 6 tanesi polimorfik bulunmuş ve bunlardan 4 tanesi (rs43703010, rs207498943, rs109261203 ve rs43703011) hem genotip hem de allel frekansları açısından iki ırk arasında farklı bulunmuştur. Nilsen ve arkadaşlarının (79) Norveç Kırmızısı sığırlarda yapılan çalışmaya paralel olarak *CSN3* bölgesinde herhangi bir farklılık bulunmazken, *CSN1S1*, *CSN1S2* ve *CSN2* bölgelerinde iki ırk arasında SNPlerin genotip ve allel frekansları açısından farklılık gözlemlenmiştir.

Çizelge 6.1. Nilsen ve arkadaşlarının çalışmasında bulunan allel frekansları ile karşılaştırma.

SNP	Gen	Alleller		Yerli Kara		Siyah Alaca		Norveç Kırmızısı *	
rs43703010	<i>CSN1S1</i>	G	A	0.400	0.600	0.967	0.033	0.127	0.873
rs109261203	<i>CSN1S2</i>	G	A	0.053	0.947	0.454	0.546	0.370	0.630
rs43703013	<i>CSN2</i>	G	C	0.093	0.907	0.027	0.973	0.028	0.972
rs43703011	<i>CSN2</i>	C	A	0.193	0.807	0.423	0.577	0.400	0.600
rs43703016	<i>CSN3</i>	C	A	0.642	0.358	0.776	0.224	0.109	0.891
rs43703017	<i>CSN3</i>	G	A	1.000	0.000	1.000	0.000	0.064	0.936

*Nilsen ve arkadaşlarının çalışması (79)

Çizelge 6.1'de görüldüğü üzere, Yerli Kara ve Siyah Alaca ırkları arasında farklı bulunan SNPlerde (rs43703010, rs109261203, rs43703011) Siyah Alaca ve Norveç Kırmızısı ırkları birbirlerine yakın frekans değerlerine sahiptir. Sütçü bir ırk olan Norveç Kırmızısı ırkının Siyah Alacaya yakın değerler göstermesi beklenen bir durumdur. Bununla birlikte iki SNP (rs43703016, rs43703017) her iki ırktan da farklı olarak Norveç Kırmızısında yüksek olan alleler (A ve A) bu çalışmada tam tersi (rs43703016 A; YK:0.358, SA:0.224; rs43703017 A: YK 0.000, SA: 0.000) frekans değerlerini göstermiştir. Bu durum ırka özgü olabileceği gibi

beta kazein içeriği ile ilişkili de olabilir. Buna dair yapılan çalışmada herhangi bir bağlantı bulunamamıştır.

Bahsi geçen çalışmada (79) , bu çalışmada yer alan SNPlerden herhangi biri incelenen özelliklerle (Süt verimi, yağ oranı ve verimi, protein oranı ve verimi) ilişkilendirilememiş olsa da, kazein gen bölgesinin ve bu bölgedeki polimorfizmlerin anılan özellikler üzerinde etkili olduğu sonucu bu çalışma ile de desteklenmiştir. 556 SNP ile yapılan başka bir çalışmada (141) protein verimi için en yüksek test skorları *CSN2* ve *CSN1S2* bölgelerinde elde edilmiştir. Aynı çalışmada (141) *CSN1S2* bölgesinin 5'UTR bölgelerinde protein verimini etkilemesi muhtemel polimorfizmler bulunmuştur. 5'UTR bölgeleri genlerin ifadenmesini düzenleyen bölgeler olduğu için buradaki polimorfizmlerin transkripsiyon faktörleri bağlanma noktalarına denk gelmeleri durumunda proteinlerin ifade edilme düzeylerini etkilemesi beklenen bir durumdur. Bu durumda özellikle protein verimi gibi özelliklerin bu polimorfizmlerle ilişkili olması beklenir.

Aynı durumu destekleyen başka bir çalışmada (83) hem *CSN1S1* hem de *CSN1S2* genlerinin 5'UTR bölgelerinde süt verimi, laktoz ve protein içeriğine az da olsa etkili SNPler olduğu fakat daha büyük bir etkinin *CSN1S1* geninde AA ve AG genotipleri arasında süt verimi açısından ciddi bir farka sebep olan polimorfizm tespit edilmiştir. Bu çalışmada rs109261203 SNP'i 3'UTR bölgesinden seçilmiş ve Siyah Alacada allel frekansları birbirine oldukça yakın iken Yerli Karada A alleli (0.947) ve AA genotipi (0.893) oldukça yüksek frekansta bulunmuştur. 3'UTR bölgeleri transkripsiyon ürünü mRNA'ların stabilitesinde rol aldıkları için buradaki polimorfizmlerin de verim özelliklerini etkileme potansiyeli mevcuttur. Nitekim süt verimi ve mastitis için genetik belirteçler ve aday genleri derleyen bir veri tabanı çalışmasında da (66) meme bezlerinde ifade edilen ve epigenetik olarak meme bezi fonksiyonlarını düzenleyen miRNAların hedefi olması muhtemel 359 bağlanma bölgesi aday genlerin 3'UTR bölgelerinde tespit edilmiştir.

β -Laktoglobulin proteinini kodlayan *LGB* geninde seçilen iki SNPten biri olan rs137581281 her iki ırkta da tamamen CC homozigot olarak bulunmuşken, diğer SNP rs109625649 her iki ırkta da T allelinin frekansı (YK 0.693; SA 0.553) C allel frekansından yüksek gözlemlenmiş, kikare testine göre de ırklar arasında fark bulunmamıştır. rs109625649 (ss105143830) (90) SNPi rs110066229 (ss105143819) (90) ile birlikte β -Laktoglobulin

proteinin A ve B varyantları ile ilişkilidir. Irklar arasında fark bulunmaması süt verimleri açısından birbirlerinden oldukça farklı olsalar da bu iki ırkın süt içeriklerinde protein oranlarının verimden bağımsız olarak aynı olabileceğini gösterir.

Ganai ve arkadaşlarının çalışmasında (90) 50 kanıtlanmış boğa ve 208 sığırdaki varyantlar ve iki SNP arasında tam LD gösterilmiştir. Aynı çalışmada *LGB* geninin hem promotor hem kodlayan bölgelerinde bulunan 50 SNPten 2si yukarıda bahsedildiği gibi β -Laktoglobulin proteinin A ve B varyantlarına sebep olurken 42 SNP ise bu iki SNP ile tam LD gösterdiği bildirilmiştir. Bu SNPlerin herhangi birinin β -Laktoglobulin proteinin sütteki miktarındaki farklılıkları izah edebileceği öne sürülmüştür. Diğer 8 SNPten bir tanesi ise (ss105143795) promotor bölgesinde ve sadece A varyantını homozigot olarak taşıyan sığırlarda görülmüştür. Aynı şekilde Patel ve arkadaşlarının çalışmasında (153) *LGB* AA bireylerin BB bireylere göre daha çok laktoglobulin daha az kazein ve daha az yağ içerikli sütleri olduğunu ortaya koymuştur. Vataşescu ve arkadaşlarının çalışmasında (154) benzer bulgular desteklenirken ayrıca süt miktarı açısından da A ve B varyantları arasında fark olduğu ifade edilmiştir. β -Laktoglobulin proteinin sütteki miktarı süt verimi ile ilişkili olmamakla birlikte sütün besin değeri ve kazein proteinin miktarı ile ilişkilidir. Çünkü kazein miktarı ile β -Laktoglobulin miktarı arasında ters orantı vardır (88, 89). Kazeinin sütteki miktarı peynir verimi ve özelliklerini etkiler. Dolayısıyla hala süt ürünleri endüstrisinde kazein içeriğinin daha çok olması ve laktalbumin ve laktoglobulin miktarının az olması tercih edilir. Bu proteinlerin sütteki miktarı ile ilişkili genetik belirteçler de damızlık seçiminde kullanılabilir potansiyeline sahiptirler.

α -laktalbumin proteini iki önemli peynir altı suyu (whey) proteininden biri ve en önemli laktasyon spesifik proteindir. Bu protein prolaktin, glukokortikoidler ve tiroid hormonu ile pozitif, progesteron hormonu ile negatif regüle edilir (57, 91, 155, 156). Meme bezlerinde laktoz biyosentezinin de en önemli bileşenlerinden biridir. Laktoz ise sütteki osmotik basıncı kontrol ederek meme bezi boşluklarına su akışını dolayısıyla süt miktarını etkiler. Meme dokusu kültürü ile yapılan bir çalışmada (157) Holştayn (Siyah Alaca) ırkı ineklerde α -laktalbumin üretiminin, insülin, prolaktin ve kortizol kombinasyonu ile uyarıldığında Angus ırkına göre 30 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla α -laktalbumin proteini süt verimi ile doğrudan ilişkilidir. α -laktalbumin üretimi gebelikle birlikte büyük oranda artar ve laktasyon süresince yüksek kalır. Meme bezlerinin küçülmesiyle birlikte de düşer.

Bleck ve Bremel (57) tarafından yapılan çalışmada 5'UTR bölgesinde +15 pozisyonundaki SNP (rs209045823) taşıyan hayvanlardan AA genotipinde olanların süt miktarı, protein ve yağ miktarı açısından GG genotipine göre daha yüksek olduğu; GG genotipinin ise protein ve yağ oranı açısından daha avantajlı olduğu gösterilmiştir. Yerli Kara ırkında G allel frekansı (0.960) Siyah Alacadan (0.724) daha yüksek iken Siyah Alaca ırkında A allel frekansı (0.276) Yerli Karadan (0.040) yüksek bulunmuştur. Siyah Alaca ırkının süt verimi, protein ve yağ miktarları açısından yüksek verimli bir ırk olduğu ve süt verimi düşük olan Yerli Kara ırkı gibi ırkların sütlerinde ise protein ve yağ yüzdelерinin daha yüksek olduğu göz önünde bulundurulduğunda sonuçlar yukarıdaki çalışma ile tutarlıdır. Benzer bir çalışmada (55) bu polimorfizmin Holştayn ırkındaki frekansları A ve G alleleri için sırasıyla 0.358 ve 0.642 olarak bulunmuştur ki bu çalışmadaki Siyah Alaca ırkı için bulduğumuz frekanslara (0.276 ve 0.724) oldukça yakındır.

5'UTR bölgeleri özellikle genlerin ifade düzeyini etkileyebilen bölgeler olduğu düşünüldüğünde rs209045823 SNP'inin α -laktalbumin proteini için seleksiyon belirteci olarak kullanılabileceği söylenebilir. Bleck ve Bremel'in çalışmasında (57) bu polimorfizmin Holştayn ırkına özgü olduğu ifade edilmiş ise de bu çalışmada Yerli Kara ırkı için de lokusun polimorfik olduğu ve bulgularla tutarlı olduğu görülmüştür.

Prolaktin, meme bezleri gelişiminde, süt protein genlerinin ifade edilmesinde ve laktogenezis mekanizmasında önemli rolü olan ve reseptörüne bağlanarak işlev gören bir proteindir. Bu hayati rolünden dolayı da süt verim özellikleri ile ilişkili olabilecek muhtemel bir aday genidir. Prolaktin (*PRL*), prolaktin reseptörü (*PRLR*), prolaktin salgılayıcı hormon (*PRLH*) ve prolaktin salgılayıcı hormon reseptörü (*PRLHR*) genlerinin tamamı prolaktinin bu önemli rolünden dolayı aynı derecede önemli genlerdir ve bu genler üzerindeki polimorfizmler sebep oldukları sonuçlara bağlı olarak özellikle süt verim özellikleri üzerinde önemli etkileri olabilecek polimorfizmlerdir.

Bu genler çalışmalarda (93, 158) süt verimi ve süt özellikleri ile ilişkili gen ve polimorfizm çalışmalarının konusu olmuş, hatta bazı çalışmalarda (102, 159) bazı üreme özellikleri ile ilgili olarak da çalışılmışlardır. Prolaktin ve ilişkili proteinlerin genleri hakkındaki

çalışmaların çoğu *PRL* ve *PRLR* genleri üzerinde yapılan çalışmalardır. *PRLH* ve *PRLHR* genleri hakkında pek az çalışmaya rastlanmıştır.

Bu çalışmadaki panelimizde 2 adet *PRL* (rs209106815, rs211032652), 2 adet *PRLR* (rs109428015, rs135164815) 2 adet *PRLH* (rs457826018, rs440624852) ve 1 adet *PRLHR* (rs136116329) genleri üzerinde olmak üzere 7 adet SNP genotiplendirilmiştir. Bu SNPlerden *PRL* genindeki aminoasit değişikliğine sebep olmayan rs211032652 ve *PRLR* geninde serin/asparajin aminoasit değişimine sebep olan rs135164815 SNPleri Kaminski ve arkadaşlarının çalışmasındaki (41) panelde süt verimiyle muhtemel ilişkili SNPler olarak genotiplendirilmişlerdir. Bu çalışmada her iki SNP ve ek olarak *PRL* geninde 3'UTR bölgesinde bulunan rs209106815 kodlu SNP iki ırk arasında hem genotip, hem allel frekansları açısından farklı bulunmuştur. *PRLR* genindeki diğer SNPte ırklar arasında fark bulunmamış, *PRLH* ve *PRLHR* genlerinden seçilen SNP bölgelerinde ise her iki ırk için polimorfizm gözlenmemiştir.

Laktoferrin veya laktotransferrin olarak bilinen protein sütün önemli bileşenlerindedir ve demir bağlayıcı özelliği vardır. Ayrıca vücut salgılarında bulunur ve spesifik olmayan immün sistemin önemli bir bileşenidir. Sığır genomunun 22. kromozomunda lokalizedir ki bu kromozomda sütle ilişkili olduğu düşünülen pek çok QTL bölgesi haritalanmıştır. Bu yüzden süt verimi ve özellikleri ile ilgili araştırmalarda (41, 108) çalışılan genlerden biri de *LTF* genidir. Pek çok çalışma (109-112) sonuç olarak *LTF* geninin süt özellikleri ve özellikle mastitis direnci ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur. Zabolewicz ve arkadaşlarının çalışmasında (108) *LTF* geninin regülatör bölgesindeki polimorfizm ile sütteki laktoferrin düzeyleri ve somatik hücre sayıları arasında ilişki tespit edilmiştir. Bu itibarla özellikle somatik hücre sayısı ve mastitis direnci gibi meme sağlığını ve süt kalitesini etkileyen özellikler açısından *LTF* ve bu gen üzerindeki SNPler önemli belirteçler olabilir.

Bu çalışmada panele alınan rs13755458 (41) ve rs379782196 SNPleri ırklar arasında hem genotip hem allel frekansları açısından farklı bulunmuşlardır. Yerli Kara gibi lokal ırkların hastalıklara dirençleri kültür ırklarından daha dirençli olduğu genel olarak bilinen bir gerçektir. *LTF* geni ve mastitis ilişkisinin daha derinlikli araştırılması için uygun bir model hayvan olacağı öngörülebilir.

DGATI geni temel süt lipidlerinden olan triaçilgliserollerin sentezini katalizleyen bir enzimi kodlar. Başka genlerle birlikte bu gendeki polimorfizmlerin, süt verim özellikleri ile birlikte, laktasyon süresince oluşabilecek enerji ihtiyacı eğer dışarıdan alınan besinlerle karşılanamazsa hayvanlarda sağlık sorunlarına sebep olabilecek negatif enerji dengesinin (NEB) süresi ve derecesine ve dolayısıyla sağlık ve üreme üzerinde etkili olabileceği çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir.

DGATI geni üzerinde bir lizin/alanin (K232A) dönüşümüne sebep olan polimorfizmin (g.A731G) süt yağ içeriğine etkisi olduğu gösterilmiştir (160). Bu çalışmada bu gen üzerinde panele alınan iki SNPTen rs109234250 SNPi (82, 99) bu genin varyantlarına sebep olan iki SNPTen biridir ve çalışmada karşılaştırılan iki ırk arasında hem genotip hem allel frekansları açısından farklı bulunmuştur. Molee ve arkadaşlarının (82) çalışmasında AA varyantı (GG genotipi) verim özellikleri, KK varyantı (AA genotipi) kompozisyon özellikleri üzerinde etkili bulunmuştur. Araştırmalara uygun olarak rs109234250 A allelinin ve AA genotipinin frekans değerleri süt verimi ve yağ miktarı yüksek olan Siyah Alaca ırkında (A: 0.822; AA:0.697), Yerli Kara'ya göre (A:0.627; AA: 0.373) daha yüksek bulunmuştur. Diğer SNP (rs134083952) ise her iki ırk için de nonpolimorfik bulunmuştur.

DGATI geni pek çok çalışmada (82, 97, 161-163) süt özellikleri için aday gen olarak araştırma konusu olmuştur. Süt yağlarının sentezlenmesindeki önemli görevinden dolayı hem süt verimi hem de süt yağı içeriği açısından seleksiyon kriteri olarak kullanılabilen polimorfizmler taşınması oldukça olasıdır. Yağların enerji kaynağı olarak kullanıldığı ve bu genin de triaçil gliserollerin sentez mekanizmasında rol aldığı düşünüldüğünde dolaylı olarak hem büyüme hem de üreme ile de ilişkili olması muhtemel bir genidir.

Leptin proteini vücut yağ rezervlerinin ve enerji durumunu hipotalamusa ileten bir sinyal vazifesi görür. Laktasyonun ilk evrelerinde yağ depolama ve besin alımı, yüksek düzeyde enerjiye ihtiyaç duyan laktogenezis ile kontrol edilir bu da üreme fonksiyonlarını vücut için geri plana iter. Süt verimi yönünden yapılan yoğun seleksiyon dolayısıyla üreme özelliklerinde gerileme gözlemlenmesinin bir sebebi de budur. Leptin ve leptin reseptör proteinleri iştah, enerji stabilitesi ve üreme fonksiyonları arasında kritik bir bağlantı oluştururlar. Dolayısıyla bu genler ile hem besin alımı hem de üreme arasında direkt bağlantı olması oldukça muhtemeldir. Giblin ve arkadaşlarının çalışmasında (145) projeni testten geçmiş Siyah Alaca boğalarda *LEP* geni ile enerji harcama ve enerji depolama özellikleri

arasında ilişkiye bakılmış, rs29004487 SNP'inin T alleli ile düşük süt proteini verimi arasında bağlantı olabileceği ($P < 0.005$), ayrıca yüksek vücut kondüsyon skoru, düşük süt verimi ve daha kısa gebelik süresi ile de düşük de olsa ilişki olma ihtimalinden ($P < 0.1$) bahsetmiştir. Leifers ve arkadaşlarının çalışmasında (146) ise rs133672995 (T945M) SNP'i ile gebeliğin sonlarında dolaşımdaki leptin miktarı arasında ilişki olduğunu bildirmiştir. Çeşitli çalışmalarda ise *LEPR* polimorfizmleri deri altında yağ depolanması ve karkas yağı (164) ve büyüme (165) ile de ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada panele aldığımız SNPlerden sadece *LEP* genindeki rs29004488 kodlu SNP ırklar arasında sadece allel frekansı yönünden farklı bulunmuştur. *LEP* genindeki diğer SNP rs29004487 ise ırklar arasında fark göstermemiştir. *LEPR* genindeki rs109178802 kodlu SNP nonpolimorfik bulunmuştur ki bu polimorfizm stop kodonu oluşturduğu ve leptin reseptörünün ve leptin proteininin önemi dikkate alındığında bu tür bir polimorfizmin önemli sonuçları olacağı için beklenen bir durumdur. *LEPR* genindeki diğer SNPte de ırklar arasında frekanslar açısından fark gözlenmemiştir.

LEP ve *LEPR* üzerindeki polimorfizmler, *DGATI* genindeki gibi enerji metabolizmaları ve süt içeriği açısından önemli genler olduğu için benzer şekilde seleksiyon kriteri olarak kullanılabilme potansiyeli olan polimorfizmler olduğu söylenebilir. Enerji metabolizması sadece süt verimini değil, büyüme, üreme gibi verim özelliklerini de kontrol eden mekanizmalardandır ve ilişkili genler ve SNPler bu verim özellikleri için seleksiyon açısından önemlidirler.

Beş büyüme hormonundan biri olan ve hipofizden salgılanan büyüme hormonu'ü kodlayan *GHI* üzerinde seçtiğimiz üç SNP (rs134687399, rs384417222, rs41923484 (41)) içerisinde sadece rs384417222 (YK A:0.100, G:0.900; SA A:0.007, G:0.993; Kikare:13.13) iki ırk arasında farklı bulunmuştur. Büyüme hormonu reseptörünü kodlayan *GHR* genindeki iki SNPten bir tanesi (rs385640152 (96)) hem genotip (YK TT:0.973, AA:0.000, AT:0.027; SA TT:0.573, AA:0.040, AT:0.387 Kikare: 34.28) hem allel (YK T:0.987, A:0.013; SA T:0.767, A:0.233 Kikare: 33.57) frekansları açısından farklı bulunmuşken diğeri (rs209676814) sadece allel (YK T:0.880, C:0.120; SA T:0.959, C:0.041, Kikare:6.352) frekansları açısından farklı bulunmuştur. Büyüme hormonlarıyla ilgili panele alınan bir diğer gen *GHRHR* üzerindeki iki SNPten biri (rs134261880) her iki ırkta da polimorfizm göstermemiştir. Diğer SNP (rs133774330) 5'UTR bölgesinde bulunan bir SNP'tir ve ırklar arasında hem genotip (Kikare: 27.85) hem allel (Kikare:26.46) frekansları açısından farklı bulunmuştur. Panelde

bulunan ve büyüme ile ilgili bir diğer gen *IGF1* genidir ve bu gen üzerinde seçilen SNP (rs134527338(41)) ırklar arasında hem genotip (Kikare: 10.16) hem de allel (Kikare:10.76) frekansları açısından farklı bulunmuştur. Bu genle ilişkili reseptör geni *IGF1R* üzerinden seçilen SNPlar ise (rs134699109, rs41640706) polimorfizm göstermemişlerdir.

Kaminski ve arkadaşlarının çalışmasında panelde yer alan *GHI* genindeki rs41923484 (41) SNPi ve diğer SNPlar özellikle süt protein içeriği ile direkt ya da muhtemel potansiyel ilişkilerinden dolayı panele alınmışlardır. Üç farklı ırkta toplam 46 hayvandan 32 tanesinde bu çalışmamızdaki sonuçlara paralel olarak GG genotipi gözlenmiştir. *GHR* geninde ırklar arasında farklı bulunan SNP rs385640152 Viitala ve arkadaşlarının çalışmasında (96) protein ve yağ verimini önemli oranda etkilediği belirtilmiştir. AA genotipinin (aa: FF) süt yağı ve proteini açısından TT (aa: YY) genotipinden daha verimli olduğu sonucuna varmıştır. Bu çalışmada AA ve AT genotipleri toplamda Yerli Kara ırkında (0.027), Siyah Alaca ırkına (0.427) göre daha çok rastlanmıştır. Bu durum yüksek verimli süt sığırlarında protein yüzdesinin nispeten düşük olması ile uyumludur. Yerli Kara süt verimi düşük olmakla birlikte süt yağı ve proteini yüksektir.

IGF1 geninde farklı bulunan SNP rs134527338 Kaminski ve arkadaşlarının (41) çalışmasında paneldeki diğer SNPlar gibi süt proteini ile direkt ya da potansiyel ilişkilerinden dolayı çalışmaya alınmışlardır. Bu SNP üç ırkta toplam 46 hayvandan 7 tanesi CC, 24 tanesi CT ve 15 tanesi TT genotiplerini göstermiştir. Bu çalışmanın aksine C alleli bu çalışmada daha yüksek frekansta gözlenmiştir (YK 0.994, SA 0.919). İstatistik olarak bu frekanslar farklı bulunmuş olsa da nominal olarak bu farkın ırklar arasındaki verim farkını açıklamaya yeterli olmadığı görülmektedir. Benzer şekilde *GHRHR* geninin 5'UTR bölgesindeki SNP rs133774330 istatistiki olarak ırklar arasında farklı bulunsu da (Kikare(genotip): 27.85; Kikare(allel): 26.76) bu farkın ırklar arasındaki verime etki edip etmediği ya da ne kadar etkili olduğu ileri araştırmaları gerektirir.

IGF1R geninden panele alınan her iki SNP de (rs134699109, rs41640706) iki ırkta da nonpolimorfik olarak gözlenmiştir. Szewczuk ve arkadaşlarının (147) etçi ırk olan Angus sığırında yaptıkları çalışmada SNP rs41640706 GG genotipindeki buzağuların 210. günde süttten kesim ağırlığını AG genotipinden daha yüksek bulmuş ve böylece büyüme ile ilişkilendirmişlerdir. Bu polimorfizm aslında aminoasit değişikliğine sebep olmayan bir

polimorfizm olmasına rağmen bu ilişkinin varlığı, bu SNPlere bağlı başka bir nedensel (causative) polimorfizm varlığına işaret ediyor olabilir. Aynı SNP başka bir çalışmanın (166) da konusu olmuş ve allel frekansları G:0.8261 ve A:0.1739 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada da paralel olarak bütün örnekler CC(GG) genotipinde bulunmuşlardır

Bu çalışmadaki panelde bulunan bir diğer gen *GNRHR* ve bu gende bulunan SNPler rs379846774 ve rs41654417 (148) iki ırkta da aynı alleller için (rs379846774 için A; rs41654417 için T) 0.90 üzerinde bir frekans değeri gözlenmiş, allel frekansı açısından rs379846774 SNPinde fark görünse de (Kikare: 6.38, $p < 0.01$) bu farkın ırklar arasında üreme özellikleri açısından açıklayıcı bir fark olabileceğine dair bir işaret yoktur. *GNRHR* geni üzerindeki bazı polimorfizmler Yang ve arkadaşlarının çalışmasında (148) Siyah Alaca boğalarda sperma kalitesi üzerine etkileri açısından incelenmiş CT heterozigot boğaların TT homozigot boğalara göre yüksek sperm motilitesine, her ejakulat için yüksek sperma hacmine ve daha düşük anormal spermatozoa oranına sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmada heterozigot CT bireyler Yerli Karada (0.093) Siyah Alacaya (0.067) göre biraz daha çok rastlanmıştır. Bu değerler bir sonuç çıkarmak için yeterli değildir.

FSHB ve *FSHR* genleri üreme fizyolojik yollarındaki önemli proteinleri kodlayan genler olarak birer SNP ile panele alınmışlar ve genotiplendirilmişlerdir. Özellikle üreme ile ilgili çalışmalarda (120, 122, 123, 125, 126) bu genler ve polimorfizmleri çalışılmıştır. Erken cinsel erişkinlik, sperma kalitesi, geri dönme oranı ve benzeri pek çok üreme özellikleri ile hipofiz hormon ailesinden olan *fsh*, *lh* ve bunların reseptör proteinleri üzerindeki SNPler muhtemel verim etkileyici genler olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada seçilen *FSHB* geni üzerindeki rs210206517 SNPi ırklar arasında sadece allel frekansı açısından (Kikare: 8.968) farklı bulunmuştur fakat bu oran ırklar arasındaki üreme özellikleri farkını tek başına açıklayıcı değildir. *FSHR* geni üzerindeki rs209882669 (120) SNPi ise ırklar arasında benzer frekanslarda (C; SA:0.770, YK:0.787) rastlanılmıştır.

Polimorfik bulunan bir diğer SNP *LHCGR* geni üzerindeki rs41256848 kodlu SNPdir ki (1) bu SNP Yerli Kara ırkında sadece TT genotipi gözlenmiş Siyah Alaca ırkında TT, GG ve GT genotipleri sırasıyla 0.368, 0.132, 0.500 olarak bulunmuştur. Yong ve arkadaşları (1) bu SNP ile özellikle toplam ovaryum sayısı ve transfer edilebilir embryo sayıları arasında kayda değer ilişki bulduklarını bildirmişlerdir. Bu reseptör *lh* bağlanması ile birlikte foliküler olgunlaşma ve ovulasyon için önemlidir. Yong ve arkadaşlarının (1) çalışmasında GG

genotipi bariz şekilde hem toplam ovaryum sayısı hem de transfer edilebilir embryo sayısı yönünden TT genotipinden üstündür. Yerli Kara gibi süperovulasyon cevabı oldukça düşük bir ırkta hiç G alleleine rastlanmamış olması bu reseptör protein geninin ve polimorfizmlerinin etkili bir seleksiyon belirteci olabileceğine işaret sayılabilir. Özellikle bu gen ve polimorfizmlerinin daha detaylı çalışmalarla derinlemesine araştırılması yerli ırklarda üreme ile ilgili sorunların aşılmasında bir çare olabilir.

Kazein, laktoglobulin, laktalbümin, prolaktin, DGAT1, laktoferrin ve leptin ya da prolaktin reseptörü, leptin reseptörü gibi laktasyon sürecinde yer alan proteinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, süt miktarı, yağ, protein miktarı ve yüzdeleri üzerinde bu proteinlerin ifade düzeylerini, bağlanma veya aktif bölgelerinin etkinliğini değiştirmek yoluyla pozitif veya negatif etkileri olabilir. Büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktörü gibi proteinler ve bunların reseptör proteinleri de hem süt verimi hem de üreme performansı üzerine muhtemel etkileri olan proteinlerdir ve bunları kodlayan genlerdeki polimorfizmler de muhtemel varyasyon kaynaklarıdır.

Üreme fizyolojisinde yer alan fsh, lh, gnrh, östrojen, progesteron, prostaglandin F2 alfa gibi proteinler hormon olarak görev yaparlar ve reseptörlerine bağlanarak üremeyi kontrol ederler. Hem dişi hem erkek fertilitesinde önemli rolleri vardır pubertaya erişme yaşı, döl tutma, erkeklerde sperma motilitesi ve morfolojisi gibi pek çok üreme parametresi üzerinde etkilidirler. Dolayısıyla bu proteinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler üreme etkinliği üzerinde muhtemel etkileri olan varyasyon kaynaklarıdır.

Bu çalışmada anket verileri ile Yerli Kara ırkı hakkında elde edilen bazı bilgiler literatürle paralellik göstermekle birlikte anket yoluyla elde edildiği için genotip verim korelasyonu yapmak için yeterli güvenilirlikte değildir. Cinsel erginlik yaşı anketlerde 23.32 ve 24.15 ay, ilk doğum yaşı 35.19 ve 36.02 ay, laktasyon süresi 176.35 ve 172.98 gün olarak bulunmuş, günlük süt verimlerinden laktasyon süt verimi 494 kg ve 505 kg olarak bulunmuştur. Laktasyon süresi 240-260 gün ve ortalama laktasyon süt verimi 1000-1100 kg olarak verilen bilgilerle (23) çelişen bu sonuçlar anket verileri ile genotip-fenotip ilişkilendirmesi yapılmayacağını göstermektedir.

Yerli ırklar daha çok meraya dayalı ekstansif yetiştiricilik yapılan ırklardır ve bu yüzden verim kayıtları elde edilmesi için gerekli lojistik desteğin temini oldukça zordur. Özellikle bağlantı çalışmaları için gereken çok sayıda bireyden yüksek doğrulukta verim kaydı elde etmek neredeyse imkânsızdır. Bu zorluğu aşabilmek için altyapısı uygun çiftliklerde çalışma süresince hayvanların geçici olarak barındırılması çare olarak düşünülebilir. Ancak en uygunu kayıtlı yetiştiriciliği sadece entansif yetiştirilen kültür ırklarında değil ekstansif yetiştirilen yerli ırklarda da teşvik etmek, organizasyonel ve teknolojik altyapısını hazırlamak ve yetiştiricileri verim kayıtlarının değeri ve ekonomik katkıları konusunda bilinçlendirmektir.

Yerli ırklardaki verim kaydı sorunu entansif yetiştirilen kültür ırklarında da tam olarak aşılabılmış ve standardize edilebilmiş değildir. Damızlık değeri için bir endeks geliştirilip endekste yer alan bütün bileşenlerin, işletmeler arasında standart farkı olmaksızın tutulabilmesi ve değerlendirme için ülkesel bir veritabanında saklanabilmesi seleksiyon yapabilmek ve ülke hayvancılığının geleceği için önemlidir. Bu konuda başta Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı olmak üzere, yetiştirici birlikleri ve akademik camianın birlikte hareket etmesi yapılması gerekenlerin hızlı bir şekilde hayata geçirilmesi gerekmektedir.

6.2. SONUÇ

Genler üzerinde pek çok aminoasit değişikliğine sebep olan polimorfizm bulunmakla birlikte her aminoasit değişikliği proteinlerin fonksiyonlarında değişiklik anlamına gelmeyebilir. Genler üzerindeki polimorfizmler, regülatör bölgeleri (TATA box, CAAT box), 5'UTR, 3'UTR, ekzon, intron, splay akseptör, splay donör gibi çok farklı bölgelere denk gelerek yine çok farklı sonuçlara sebep olabilirler. Proteinlerin sekonder, tersiyer ve quaterner yapılarını etkileyebilecek her polimorfizm dolaylı olarak fonksiyonunu da etkileyebilir. Genel olarak proteinlerde bağlanma ve enzimatik olmak üzere iki temel bölge vardır ve polimorfizmlerin bunlardan hangisinde değişikliğe sebep olduğuna bağlı olarak polimorfizmin sonuçları da değişkenlik gösterebilir. Proteinin bir reseptör olması, bir transkripsiyon faktörü olması ya da reseptörlere bağlanarak fonksiyon gösteren hormonlar olmasına göre ve fizyolojik yollardaki önemlerine göre polimorfizmlerin de etki mekanizmaları ve etki dereceleri değişiklik gösterir.

Verim genetik ilişkisi çalışmaları özellikle çok genli kontrole tabi olan özelliklerde daha çok bağlantı (linkage) kavramı üzerinden çalışılmaktadır çünkü verimi etkileyen genleri tek tek çalışmak majör gen yokluğundan dolayı sonuç verici olmayabilir. Bununla birlikte GWAS çalışmalarındaki eşit minör etkilerin toplamı gibi kabuller ve uygulanan istatistik modellerin LD bozulmasından dolayı belirli periyotlarda güncellenmesi gerekliliği, aday gen ve polimorfizm yaklaşımını hala gündemde tutmaktadır. Fizyolojik bilginin artması ile genler üzerinde belli başlı polimorfizmlerin bulunabileceği ve toplamda yeterli tahmin gücüne sahip belirteç panellerinin ortaya konulabileceği söylenebilir. Verime etkili causative (nedensel) genler ve polimorfizmler bir kez tespit edildiğinde tür içinde her ırk için geçerli olacağından GWASa göre bir avantaj sağlar.

Bu çalışmanın hipotezini oluşturan, düşük verimli Yerli Kara ırkı ile yüksek verimli Siyah Alaca ırkı arasındaki verim farkının seçilen genlerdeki seçilen polimorfizmlerden kaynaklanabileceği tezi, panelde yer alan ve daha önce farklı verim özellikleri ile ilişkileri ortaya konmuş polimorfizmlerin o çalışmalardaki bulgulara paralel sonuçlarla ve 58 SNPten 31 tanesinin polimorfik ve bunların da 17 tanesinin genotip frekansları açısından farklı bulunmuş olmasıyla kısmen doğrulanmıştır. Özellikle *LHCGR* geninde elde edilen sonuç bu gen üzerinde yapılacak çalışmalarda yerli ırkların model olarak kullanılabilirliği ve çıkacak sonuçların üreme özellikleri açısından genetik ilerleme için önemli bir seleksiyon kriteri elde etme konusunda fayda sağlayabileceğini düşünmemize sebep olmuştur.

İster GWAS ister aday gen çalışmaları olsun, ihtiyaç duyulan en önemli şey sağlıklı verim kayıtlarıdır. Kalıtım derecesinin düşük olduğu ve çok genli kontrol altındaki kantitatif özelliklerde verim genetik ilişkisini kurmak zordur. Bu zorluğa bir de yanlış verim kaydı eklenmemelidir. Bu yüzden ulusal düzeyde oluşturulan ve yönetilen veri tabanlarında sadece kimliklendirme değil verim kayıtlarının da son derece düzgün olması gerekir.

Zira bu çalışmalar çok sayıda materyale ihtiyaç duyar ve bunların tamamının araştırma organizasyonlarının kendi uhdelerinde bulundurulma imkânı çok düşüktür. Dolayısıyla ülkesel ölçekli örneklemelere ihtiyaç vardır ve kayıtların yüksek doğrulukta olması gerekir. Hem klasik ıslahın hem genotipe dayalı ıslahın başarısı açısından ülkesel veri tabanlarının iyileştirilmesi ve bu veri tabanlarına doğru veri girişinin sağlanması için gereken ne varsa yapılması ülke hayvancılığı açısından hayati öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- 1 Yu Y, Pang Y, Zhao H, et al. Association of a missense mutation in the luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor gene (LHCGR) with superovulation traits in Chinese Holstein heifers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2012;**3**(1):35.
- 2 Reproductive Anatomy and Physiology of Cattle. [cited 05.06.2017]; Available from: http://www.selectsires.com/resources/fertilitydocs/reproductive_anatomy.pdf?version=20160606
- 3 Parker R. Reproductive tract anatomy and physiology of the cow. ASC-University of Kentucky, Cooperative Extension Service (USA). 1979.
- 4 Whittier JC. Reproductive Anatomy and Physiology of the Cow 1993 [cited 05.06.2017]; Available from: <http://extension.missouri.edu/publications/DisplayPrinterFriendlyPub.aspx?P=G2015>
- 5 Husv th F. Physiological and reproductional aspects of animal production. Debrecen University, University of West Hungary, Pannon University p3; 2011.
- 6 Senger P. Placentation, the endocrinology of gestation and parturition; 2003.
- 7 Peters A, Lamming E. Hormone patterns and reproduction in cattle. In practice. 1983;**5**(5):153.
- 8 Anatomy and endocrinology of cow reproduction. [cited 15.8.2017]; Available from: <http://www.fao.org/Wairdocs/ILRI/x5442E/x5442e04.htm#TopOfPage>
- 9 James IJ, Williams TJ. Physiology of Lactation. [cited 05.06.2017]; Available from: https://www.unaab.edu.ng/attachments/460_LECTURE%20NOTES%20ON%20ANP%20501.pdf
- 10 Physiology: Mammary System, Structure and Function. [cited 05.06.2017]; Available from: <http://www.birchwoodfarmdairy.com/resources/education-physiology/>
- 11 Reece WO, Erickson HH, Goff JP, Uemura EE. Dukes' physiology of domestic animals: Am Vet Med Assoc; 2004.
- 12 Frandson RD, Wilke WL, Fails AD. Anatomy and physiology of farm animals: John Wiley & Sons; 2009.
- 13 Facts About Holstein Cattle. [cited 05.06.2017]; Available from: http://www.holsteinusa.com/holstein_breed/holstein101.html?tab=2#TabbedPanels1
- 14 Holstein Breed Characteristics. [cited 05.06.2017]; Available from: http://www.holsteinusa.com/holstein_breed/breedhistory.html
- 15 2015 Annual Statistics. [cited 05.06.2017]; Available from: <http://www.euholsteins.com/info/documents/2015AnnualStatistics-Europeanv2.pdf>

- 16 Kaya I, Uzmay C, Kaya A, Akbaş Y. Comparative analysis of milk yield and reproductive traits of Holstein-Friesian cows born in Turkey or imported from Italy and kept on farms under the Turkish-ANAFI project. *Italian Journal of Animal Science*. 2016;**2**(2):141-50.
- 17 Erdem H, Atasever S, Kul E. Gökhöyük Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah Alaca Sığırların Süt ve Döl Verim Özellikleri 1. Süt Verim Özellikleri. *OMÜ Zir Fak Dergisi* 2007;**22**(1):41-6.
- 18 Şahin A, Ulutaş Z. Polatlı Tarım İşletmesi'nde Yetiştirilen Siyah Alaca İneklerde Süt ve Döl Verim Özellikleri. *Anadolu Tarım Bilim Derg.* 2010;**25**(3):202-12.
- 19 Akman N, Ulutaş Z, Efil H, Biçer S. Gelemen Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah-Alaca Sürüsünde Süt ve Döl Verimi Özellikleri Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg. 2001;**32**(2):173-9.
- 20 Bakır G, Kaygısız A, Çilek S. Milk yield traits of Holstein cattle reared at Tahirova state farm in Balıkesir Province in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2009;**8**(11):2369-74.
- 21 Erdem H, Atasever S, Kul E. Gökhöyük Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah Alaca Sığırların Süt ve Döl Verim Özellikleri 2. Döl Verim Özellikleri OMÜ Zir Fak Dergisi. 2007;**22**(1):47-54.
- 22 Özçakır A, Bakır G. Tahirova Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah Alaca Sığırlarda Döl ve Süt Verim Özellikleri. 2. Döl Verim Özellikleri. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg.* 2003;**34**(3):223-8.
- 23 Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynaklar Tanıtım Kataloğu. [cited 05.06.2017]; Available from: <http://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf>
- 24 Ecemiş M. Karaköy harası sığır yetiştiriciliği. *Türk Vet Hek Dergisi*. 1961;**2**(1-3):178-9.
- 25 Eker M, E.Tuncel. Jersey Boğası kullanılarak Yerli Kara sığırların ıslahı üzerine araştırmalar. *AÜ Ziraat Fak Yıllığı*, 1972. 1971.
- 26 Batu S. Türkiye Sığır ırkları ve yetiştirme bilgisi. 3 ed. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1962.
- 27 Yarkın İ. Orta Anadolu sığır ırkları bakım, yemleme ve yetiştirme vaziyeti. *YZE Çalışmaları*. 1939(95).
- 28 Yarkın İ. Sığırcılık. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1950.
- 29 Savaş T. Hayvan Islahı. [cited 04.06.2017]; Available from: <http://albinacmsfile.albinasoft.com/Dosyalar/61/289/LK289D102062015151059063.pdf>
- 30 Alpan O, Arpacık R. Sığır yetiştiriciliği. Baskı, Şahin Matbaası, Ankara. 1998:184-97.

- 31 Chapter 10 Gene Expression Regulation of Eukaryocyte. [cited 05.06.2017]; Available from: <http://greatcourse.cnu.edu.cn/xbfzswx/wlkc/kcxx/14-04.htm>
- 32 Difference Between Primary and Secondary Structure of Proteins. [cited 18.7.2017]; Available from: <http://www.majordifferences.com/2013/02/difference-between-primary-and.html#.WM5wM9LyIU>
- 33 Post-Translational Modification (PTM) Antibodies. [cited 15.7.2017]; Available from: <http://www.rockland-inc.com/post-translational-modification-antibodies.aspx>
- 34 Beuzen ND, Stear MJ, Chang KC. Molecular markers and their use in animal breeding. *Veterinary Journal*. 2000 Jul;**160**(1):42-52.
- 35 Haley CS. Livestock QTLs—bringing home the bacon? *Trends in Genetics*. 1995;**11**(12):488-92.
- 36 Weller J, Kashi Y, Soller M. Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 1990;**73**(9):2525-37.
- 37 Rozman D. Functional Genomics. [cited 13.08.2017]; Available from: <http://cfgbc.mf.uni-lj.si/people/damjana/teaching/fg/FG-2009-1.pdf>
- 38 Kozik A. Genetics of autoimmune diseases (systemic lupus erythematosus) in human. [cited 13.8.2017]; Available from: http://www.atgc.org/Presentation/Genotyping_TDT.html
- 39 Shumaker JM, Metspalu A, Caskey CT. Mutation detection by solid phase primer extension. *Human Mutation*. 1996;**7**(4):346-54.
- 40 Kurg A, Tõnisson N, Georgiou I, Shumaker J, Tollett J, Metspalu A. Arrayed primer extension: solid-phase four-color DNA resequencing and mutation detection technology. *Genetic Testing*. 2000;**4**(1):1-7.
- 41 Kamiński S, Ahman A, Ruś A, Wójcik E, Malewski T. MilkProtChip--a microarray of SNPs in candidate genes associated with milk protein biosynthesis--development and validation. *Journal of Applied Genetics*. 2004;**46**(1):45-58.
- 42 Singh J, Birbian N, Sinha S, Goswami A. A critical review on PCR, its types and applications. *Int J Adv Res BiolSci*. 2014;**1**(7):65-80.
- 43 Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics*. 2001;**157**:1819-29.
- 44 Zhu M, Zhao S. Candidate gene identification approach: progress and challenges. *Int J Biol Sci*. 2007;**3**(7):420-7.
- 45 Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nature Reviews Genetics*. 2002;**3**(5):391-7.

- 46 Aschaffenburg R, Drewry J. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk. *Nature*. 1955;**176**(4474):218-9.
- 47 Jakob E, Puhán Z. Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins—A review. *International Dairy Journal*. 1992;**2**(3):157-78.
- 48 Mao I, Buttazzoni L, Aleandri R. Effects of polymorphic milk protein genes on milk yield and composition traits in Holstein cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica A-Animal Sciences*. 1992;**42**(1):1-7.
- 49 Bleck GT, Bremel RD. Correlation of the α -lactalbumin (+ 15) polymorphism to milk production and milk composition of Holsteins. *Journal of Dairy Science*. 1993;**76**(8):2292-8.
- 50 Geldermann H, Gogol J, Kock M, Tacea G. DNA variants within the 5' flanking region of bovine milk protein encoding genes. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1996;**113**(1-6):261-7.
- 51 Kaminski S. Simultaneous SSCP genotyping of two bovine casein loci. *Animal Science Papers and Reports*. 1999;**17**:29-33.
- 52 Kaminski S, Zabolewicz T. SSCP polymorphism within 5' region of bovine lactoglobulin (LBG) gene. formerly *Genetica Polonica*. 1998.
- 53 Schild T, Geldermann H. Variants within the 5'-flanking regions of bovine milk-protein-encoding genes. III. Genes encoding the Ca-sensitive caseins α s1, α s2 and β . *TAG Theoretical and Applied Genetics*. 1996;**93**(5):887-93.
- 54 Schild T, Wagner V, Geldermann H. Variants within the 5'-flanking regions of bovine milk protein genes: I. κ -casein-encoding gene. *TAG Theoretical and Applied Genetics*. 1994;**89**(1):116-20.
- 55 Voelker GR, Bleck GT, Wheeler MB. Single-base polymorphisms within the 5' flanking region of the bovine α -lactalbumin gene. *Journal of Dairy Science*. 1997;**80**(1):194-7.
- 56 Wagner V, Schild T, Geldermann H. DNA variants within the 5'-flanking region of milk-protein-encoding genes II. The β -lactoglobulin-encoding gene. *TAG Theoretical and Applied Genetics*. 1994;**89**(1):121-6.
- 57 Bleck GT, Bremel RD. Sequence and single-base polymorphisms of the bovine α -lactalbumin 5'-flanking region. *Gene*. 1993;**126**(2):213-8.
- 58 Ehrmann S, Bartenschlager H, Geldermann H. Quantification of gene effects on single milk proteins in selected groups of dairy cows. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1997;**114**(1-6):121-32.
- 59 Kamiński S, Zabolewicz T. Associations between bovine beta-lactoglobulin polymorphism within coding and regulatory sequences and milk performance traits. *Journal of Applied Genetics*. 2000;**41**(2):91-9.

- 60 Antoniou E, Grosz M, J S. Cloning, analysis and SSCP characterization of the SH2 domain of the bovine gene STAT5. *Journal of Animal Science*. 1998;**76**(Supplement 1):379.
- 61 Flisikowski K, Zwierzchowski L. Single-strand conformation polymorphism within exon 7 of the bovine STAT5A gene. *Animal Science Papers and Reports*. 2002;**20**(2):133-7.
- 62 Blott S, Kim J-J, Moisisio S, et al. Molecular dissection of a quantitative trait locus: a phenylalanine-to-tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and composition. *Genetics*. 2003;**163**(1):253-66.
- 63 Sørensen P, Grochowska R, Holm L, Henryon M, Løvendahl P. Polymorphism in the bovine growth hormone gene affects endocrine release in dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 2002;**85**(7):1887-93.
- 64 Falaki M, Gengler N, Sneyers M, et al. Relationships of polymorphisms for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *Journal of Dairy Science*. 1996;**79**(8):1446-53.
- 65 Martin P, Szymanowska Mg, Zwierzchowski L, Leroux C. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reproduction Nutrition Development*. 2002;**42**(5):433-59.
- 66 Ogorevc J, Kunej T, Razpet A, Dovc P. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*. 2009;**40**(6):832-51.
- 67 Cross JC, Werb Z, Fisher SJ. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science*. 1994;**266**(5190):1508.
- 68 Mamo S, Sargent C, Affara N, et al. Transcript Profiles of Some Developmentally Important Genes Detected in Bovine Oocytes and In Vitro-produced Blastocysts Using RNA Amplification and cDNA Microarrays. *Reproduction in Domestic Animals*. 2006;**41**(6):527-34.
- 69 Pfister-Genskow M, Myers C, Childs LA, et al. Identification of differentially expressed genes in individual bovine preimplantation embryos produced by nuclear transfer: improper reprogramming of genes required for development. *Biology of Reproduction*. 2005;**72**(3):546-55.
- 70 Corcoran D, Fair T, Park S, et al. Suppressed expression of genes involved in transcription and translation in in vitro compared with in vivo cultured bovine embryos. *Reproduction*. 2006;**131**(4):651-60.
- 71 Berglund B. Genetic improvement of dairy cow reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. 2008 Jul;**43 Suppl 2**(s2):89-95.

- 72 Berglund B, Philipsson J. Increasing stillbirth rates in the Swedish Friesian population. Paper in 43rd Ann Meet of the European Ass for Anim Prod, Madrid. 1992:14-7.
- 73 Hansen M, Lund MS, Pedersen J, Christensen LG. Genetic parameters for stillbirth in Danish Holstein cows using a Bayesian threshold model. *Journal of Dairy Science*. 2004;**87**(3):706-16.
- 74 Lucy M. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science*. 2001;**84**(6):1277-93.
- 75 Royal M, Mann G, Flint A. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *The Veterinary Journal*. 2000;**160**(1):53-60.
- 76 Chessa S, Rignanese D, Ceriotti G, Caroli A, Castiglioni B, Pagnacco G. Analysis of 22 mutations within milk protein genes in Italian Friesian cattle. *Ital J Anim Sci*. 2007;**6**(Suppl.1):76.
- 77 Huang W, Penagaricano F, Ahmad KR, Lucey JA, Weigel KA, Khatib H. Association between milk protein gene variants and protein composition traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2012 Jan;**95**(1):440-9.
- 78 Penagaricano F, Khatib H. Association of milk protein genes with fertilization rate and early embryonic development in Holstein dairy cattle. *The Journal of Dairy Research*. 2012 Feb;**79**(1):47-52.
- 79 Nilsen H, Olsen HG, Hayes B, et al. Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genetics Selection Evolution*. 2009;**41**(1):24.
- 80 Dagnachew BS, Thaller G, Lien S, Adnøy T. Casein SNP in Norwegian goats: additive and dominance effects on milk composition and quality. *Genetics, Selection, Evolution : GSE*. 2011 Aug 24;**43**:31.
- 81 Ogorevc J, Kunej T, Razpet A, Dovc P. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*. 2009 Dec;**40**(6):832-51.
- 82 Molee A, Poompramun C, Mernkrathoke P. Effect of casein genes - beta-LGB, DGAT1, GH, and LHR - on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. *Genetics and Molecular Research : GMR*. 2015 Mar 30;**14**(1):2561-71.
- 83 Szymanowska M, Strzalkowska N, Siadkowska E, Krzyzewski J, Ryniewicz Z, Zwierzchowski L. Effects of polymorphism at 5'-noncoding regions (promoters) of α S1- and α S2-casein genes on selected milk production traits in Polish Black-and-White cows. *Animal Science Papers and Reports*. 2003;**21**(2):97-108.
- 84 Sztankóová Z, Mátlová V, Rychtarova J. Genetic polymorphism at the milk protein genes (CSN1S1, CSN2, and CSN3) in the Czech Sumava and Walachian sheep breeds. *Grant Journal*. 2012;**1**(2):63-6.

- 85 Kučerová J, Matějček A, Jandurová OM, et al. Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech J Anim Sci.* 2006;**51**(6):241-7.
- 86 Prinzenberg E-M, Weimann C, Brandt H, et al. Polymorphism of the Bovine CSN1S1 Promoter_Linkage Mapping, Intragenic Haplotypes, and Effects on Milk Production Traits. *J Dairy Sci.* 2003;**86**:2696-705.
- 87 Zhihua J. The polymorphisms of κ -casein gene and their associations with milk production traits and expression analysis in Chinese Holstein cattle. *African Journal of Biotechnology.* 2011;**10**(62).
- 88 Ng-Kwai-Hang K, Hayes J, Moxley J, Monardes H. Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science.* 1986;**69**(1):22-6.
- 89 Lunden A, Nilsson M, Janson L. Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *Journal of Dairy Science.* 1997;**80**(11):2996-3005.
- 90 Ganai NA, Bovenhuis H, van Arendonk JA, Visker MH. Novel polymorphisms in the bovine beta-lactoglobulin gene and their effects on beta-lactoglobulin protein concentration in milk. *Animal Genetics.* 2009 Apr;**40**(2):127-33.
- 91 Goodman G, Akers R, Tucker H. Hormonal regulation of alpha-lactalbumin secretion from bovine mammary tissue cultured in vitro. *Journal of Dairy Science.* 1980;**63**(Suppl. 1):158-9.
- 92 Schopen GC, Visker MH, Koks PD, Mullaart E, van Arendonk JA, Bovenhuis H. Whole-genome association study for milk protein composition in dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 2011 Jun;**94**(6):3148-58.
- 93 He F, Sun D, Yu Y, Wang Y, Zhang Y. Association between SNPs within prolactin gene and milk performance traits in Holstein dairy cattle. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences.* 2006;**19**(10):1384.
- 94 Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, et al. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Arch Tierz, Dummerstorf.* 2005;**48**(2):149-56.
- 95 Mehmannaavaz Y, Amirinia C, Bonyadi M, Torshizi RV. Effects of bovine prolactin gene polymorphism within exon 4 on milk related traits and genetic trends in Iranian Holstein bulls. *African Journal of Biotechnology* 2009;**8**(19):4797-801.
- 96 Viitala S, Szyda J, Blott S, et al. The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Genetics.* 2006 Aug;**173**(4):2151-64.

- 97 Anton I, Kovács K, Holló G, et al. Effect of DGAT1, leptin and TG gene polymorphisms on some milk production traits in different dairy cattle breeds in Hungary. *Archiv Tierzucht*. 2012;**55**(55):307-14.
- 98 Glantz M, Lindmark Mansson H, Stalhammar H, Paulsson M. Effect of polymorphisms in the leptin, leptin receptor, and acyl-coenzyme A:diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) genes and genetic polymorphism of milk proteins on cheese characteristics. *Journal of Dairy Science*. 2011 Jul;**94**(7):3295-304.
- 99 Lu J, Boeren S, van Hooijdonk T, Vervoort J, Hettinga K. Effect of the DGAT1 K232A genotype of dairy cows on the milk metabolome and proteome. *Journal of Dairy Science*. 2015 May;**98**(5):3460-9.
- 100 Molee A, Duanghaklang N, Na-Lampang P. Effects of acyl-CoA:diacylglycerol acyl transferase 1 (DGAT1) gene on milk production traits in crossbred Holstein dairy cattle. *Tropical Animal Health and Production*. 2012 Apr;**44**(4):751-5.
- 101 Komisarek J, Arkadiusz Michalak, Walendowska A. The effects of polymorphisms in DGAT1, GH and GHR genes on reproduction and production traits in Jersey cows. *Animal Science Papers and Reports*. 2011;**29**(1).
- 102 Collis E, Fortes MR, Zhang Y, et al. Genetic variants affecting meat and milk production traits appear to have effects on reproduction traits in cattle. *Animal Genetics*. 2012 Aug;**43**(4):442-6.
- 103 Tabaran A, Balteanu VA, Gal E, et al. Influence of DGAT1 K232A polymorphism on milk fat percentage and fatty acid profiles in Romanian holstein cattle. *Animal Biotechnology*. 2015;**26**(2):105-11.
- 104 Argov-Argaman N, Mida K, Cohen BC, Visker M, Hettinga K. Milk fat content and DGAT1 genotype determine lipid composition of the milk fat globule membrane. *PloS one*. 2013;**8**(7):e68707.
- 105 Farkas V. Study of the effect of DGAT1 K232A, leptin C528T, TG 5' UTR polymorphisms on milk production and meat quality in Hungarian cattle populations: University of Pannonia, Georgikon Faculty of Agriculture; 2012.
- 106 Suchocki T, Komisarek J, Szyda J. Testing candidate gene effects on milk production traits in dairy cattle under various parameterizations and modes of inheritance. *Journal of Dairy Science*. 2010 Jun;**93**(6):2703-17.
- 107 Javanmard A, Khaledi K, Asadzadeh N, Solimanifarjam A. Detection of Polymorphisms in the Bovine Leptin (LEP) Gene_Association of a Single Nucleotide Polymorphism with Breeding Value of Milk Traits in Iranian Holstein Cattle. *Journal of Molecular Genetics*. 2010;**2**(1):10-4.
- 108 Zabolewicz T, Barcewicz M, Brym P, Puckowska P, Kamiński S. Association of polymorphism within LTF gene promoter with lactoferrin concentration in milk of Holstein cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2014;**17**(4):633-41.

- 109 Seyfert HM, Henke M, Interthal H, et al. Defining candidate genes for mastitis resistance in cattle: the role of lactoferrin and lysozyme. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1996;**113**(1-6):269-76.
- 110 Zabolewicz T, Brym P, Olenski K, et al. Polymorphism within TATA-box of bovine lactoferrin gene and its association with performance traits in Holstein cattle. *Livestock Science*. 2012;**149**(3):267-74.
- 111 Daly M, Ross P, Giblin L, Buckley F. Polymorphisms within the lactoferrin gene promoter in various cattle breeds. *Animal Biotechnology*. 2006;**17**(1):33-42.
- 112 Li G-H, Zhang Y, Sun D-X, Li N. Study on the polymorphism of bovine lactoferrin gene and its relationship with mastitis. *Animal Biotechnology*. 2004;**15**(1):67-76.
- 113 Liron JP, Prando AJ, Fernandez ME, et al. Association between GNRHR, LHR and IGF1 polymorphisms and timing of puberty in male Angus cattle. *BMC Genetics*. 2012 Apr 05;**13**:26.
- 114 Derecka K, Ahmad S, Hodgman T, et al. Associations between SNPs in the bovine GnRH receptor gene and breeding values for fertility traits in dairy cattle. *Advances in Animal Biosciences*. 2010;**1**(1):214.
- 115 Nilsson C, Kaleva M, Virtanen H, Haavisto A, Pettersson K, Huhtaniemi I. Disparate response of wild-type and variant forms of LH to GnRH stimulation in individuals heterozygous for the LH β variant allele. *Human Reproduction*. 2001;**16**(2):230-5.
- 116 Lewy H, Ashkenazi IE, Naor Z. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and estradiol (E2) regulation of cell cycle in gonadotrophs. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2003;**203**(1-2):25-32.
- 117 Li G, Wu H-P, Fu M-Z, Zhou Z-Q. Novel single nucleotide polymorphisms of GnRHR gene and their association with litter size in goats. *Archives of Animal Breeding*. 2011;**54**:618-24.
- 118 Thanky NR, Slater R, Herbison AE. Sex differences in estrogen-dependent transcription of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene revealed in GnRH transgenic mice. *Endocrinology*. 2003 Aug;**144**(8):3351-8.
- 119 Yang W, Tang K, Zhang C, Xu D, Wen Q, Yang L. Short communication: Polymorphism of the GnRHR gene and its association with litter size in Boer goats. *South African Journal of Animal Science*. 2011;**41**(4).
- 120 Marson E, Ferraz J, Meirelles F, Balieiro J, Eler J. Effects of polymorphisms of LHR and FSHR genes on sexual precocity in a *Bos taurus* x *Bos indicus* beef composite population. *Genetics and Molecular Research*. 2008;**7**(1):243-51.
- 121 Nogueira MF, Buratini J, Jr., Price CA, Castilho AC, Pinto MG, Barros CM. Expression of LH receptor mRNA splice variants in bovine granulosa cells: changes with

follicle size and regulation by FSH in vitro. *Molecular Reproduction and Development*. 2007 Jun;**74**(6):680-6.

122 Gaviria SM, Herrera AL, Zuluaga JJE. Association between FSHR polymorphism with productive and reproductive traits in Antioquia Holstein cattle. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. 2016;**69**(1):7793-801.

123 Ishak A, Sumantri C, Noor R, Arifiantini I. Identification of polymorphism of FSH beta-subunit gene as sperm quality marker in Bali cattle using PCR-RFLP. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 2011;**36**(4):221-7.

124 Van Tol H, Van Eijk M, Mummery C, Van Den Hurk R, Bevers M. Influence of FSH and hCG on the resumption of meiosis of bovine oocytes surrounded by cumulus cells connected to membrana granulosa. *Molecular Reproduction and Development*. 1996;**45**(2):218-24.

125 Zhang X, Zhu H, Zhou J, et al. Relationship between polymorphisms in exon 10 of FSHR gene and litter size in swine. *Genetics and Molecular Research*. 2015;**14**(3):8252-61.

126 Davis AJ. Relationship of Polymorphisms in The FSH Beta Subunit Gene With Reproduction in Bos Taurus and Bos Indicus Cattle. 2012.

127 Marsters P, Kendall NR, Campbell BK. Temporal relationships between FSH receptor, type 1 insulin-like growth factor receptor, and aromatase expression during FSH-induced differentiation of bovine granulosa cells maintained in serum-free culture. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2003;**203**(1-2):117-27.

128 Ulbrich SE, Kettler A, Einspanier R. Expression and localization of estrogen receptor α , estrogen receptor β and progesterone receptor in the bovine oviduct in vivo and in vitro. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2003;**84**(2-3):279-89.

129 Sakumoto R, Vermehren M, Kenngott RA-M, Okuda K, Sinowatz F. Changes in the levels of progesterone receptor mRNA and protein in the bovine corpus luteum during the estrous cycle. *Journal of Reproduction and Development*. 2010;**56**(2):219-22.

130 Rekawiecki R, Kotwica J. Molecular regulation of progesterone synthesis in the bovine corpus luteum. *Veterinarni Medicina-Praha-*. 2007;**52**(9):405.

131 Pretheeban T, Balendran A, Gordon MB, Rajamahendran R. mRNA of luteal genes associated with progesterone synthesis, maintenance, and apoptosis in dairy heifers and lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 2010 Sep;**121**(3-4):218-24.

132 Driver AM, Huang W, Gajic S, Monson RL, Rosa GJ, Khatib H. Short communication: Effects of the progesterone receptor variants on fertility traits in cattle. *Journal of Dairy Science*. 2009 Aug;**92**(8):4082-5.

- 133 Shibaya M, Matsuda A, Hojo T, Acosta TJ, Okuda K. Expressions of Estrogen Receptors in the Bovine Corpus Luteum_Cyclic Changes and Effects of Prostaglandin F2 α and Cytokines. *Journal of Reproduction and Development*. 2007;**3**(5):1059-68.
- 134 Mehdikhani A, Salmanoğlu M. Postpartum problemsiz ineklerde prostaglandin F2 alfa ve gonadotrophin releasing hormon kullanımının reprodüktif performans üzerine etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 1998;**4**:75-82.
- 135 Mullen MP, Lynch CO, Waters SM, et al. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and insulin-like growth factor-1 genes are associated with milk production, body condition score and fertility traits in dairy cows. *Genetics and Molecular Research : GMR*. 2011 Aug 26;**10**(3):1819-30.
- 136 Zhou Y. Effects of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I on Milk Protein Gene Expression and Nutrient Uptake and Cell Proliferation in Clonal Bovine Mammary: Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University; 2007.
- 137 Rao JU, Shah KB, Puttaiah J, Rudraiah M. Gene expression profiling of preovulatory follicle in the buffalo cow: effects of increased IGF-I concentration on periovulatory events. *PloS One*. 2011;**6**(6):e20754.
- 138 Reyna XF, Montoya HM, Castrellon VV, Rincon AM, Bracamonte MP, Vera WA. Polymorphisms in the IGF1 gene and their effect on growth traits in Mexican beef cattle. *Genetics and molecular research : GMR*. 2010 May 11;**9**(2):875-83.
- 139 Bevers M, Izadyar F. Role of growth hormone and growth hormone receptor in oocyte maturation. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2002;**197**(1):173-8.
- 140 QTL #15934 Description. [cited 18.8.2017]; Available from: https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/qdetails?QTL_ID=15934
- 141 Sodeland M, Grove H, Kent M, et al. Molecular characterization of a long range haplotype affecting protein yield and mastitis susceptibility in Norwegian Red cattle. *BMC Genetics*. 2011;**12**(1):70.
- 142 Boettcher P, Caroli A, Stella A, et al. Effects of casein haplotypes on milk production traits in Italian Holstein and Brown Swiss cattle. *Journal of Dairy Science*. 2004;**87**(12):4311-7.
- 143 Bovenhuis H, Weller JI. Mapping and analysis of dairy cattle quantitative trait loci by maximum likelihood methodology using milk protein genes as genetic markers. *Genetics*. 1994;**137**(1):267-80.
- 144 Lien S, Gomez-Raya L, Steine T, Fimland E, Rogne S. Associations between casein haplotypes and milk yield traits. *Journal of Dairy Science*. 1995;**78**(9):2047-56.
- 145 Giblin L, Butler ST, Kearney BM, Waters SM, Callanan MJ, Berry DP. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires. *BMC Genetics*. 2010;**11**(1):73.

- 146 Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MF, Delavaud C, Chilliard Y, van der Lende T. A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. *Animal Genetics*. 2004 Apr;**35**(2):138-41.
- 147 Szewczuk M, Zych S, Wojcik J, Czerniawska-Piatkowska E. Association of two SNPs in the coding region of the insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) gene with growth-related traits in Angus cattle. *Journal of Applied Genetics*. 2013 Aug;**54**(3):305-8.
- 148 Yang WC, Tang KQ, Yu JN, Zhang CY, Zhang XX, Yang LG. Effects of MboII and BspMI polymorphisms in the gonadotropin releasing hormone receptor (GnRHR) gene on sperm quality in Holstein bulls. *Molecular Biology Reports*. 2011 Jun;**38**(5):3411-5.
- 149 Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*: Cold spring harbor laboratory press; 1989.
- 150 Goudet J. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*. 1995;**86**(6):485-6.
- 151 Goudet J. FSTAT (version 2.9. 3): a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (updated from Goudet 1995). University of Lausanne, Switzerland. 2001.
- 152 Liu K, Muse S. PowerMarker: integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*. 2005;**21**(9):2128-9.
- 153 Patel RK, Chauhan JB, Singh KM, Soni KJ. Allelic frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian crossbred (*Bos taurus* x *Bos indicus*) dairy bulls. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2008;**31**(6):399-402.
- 154 Vătăşescu B, Georgescu S, Manea M, Dinischiotu A, Costache M. Analysis of beta-lactoglobulin and kappa-casein genotypes in cattle. *Archiva Zootechnica*. 2007;**10**:103-6.
- 155 Forsyth I. The endocrinology of lactation. *Biochemistry of Lactation*; 1983. p. 309-49.
- 156 Bhattacharjee M, Vonderhaar BK. Thyroid hormones enhance the synthesis and secretion of α -lactalbumin by mouse mammary tissue in vitro. *Endocrinology*. 1984;**115**(3):1070-7.
- 157 McFadden TB, Akers RM, Beal W. Influence of Breed and Hormones on Production of Milk Proteins by Mammary Explants from Prepubertal Heifers I. *Journal of Dairy Science*. 1989;**72**(7):1754-63.
- 158 Jemeljanovs A, Zitare I, Paramonova N, et al. Association study of the PRL gene polymorphisms with milk performance traits in Latvian Brown cattle breed. *EAAP Annual Meetings*; 2008; Vilnius, Latvia; 2008.
- 159 Khatib H, Huang W, Wang X, et al. Single gene and gene interaction effects on fertilization and embryonic survival rates in cattle. *Journal of Dairy Science*. 2009 May;**92**(5):2238-47.

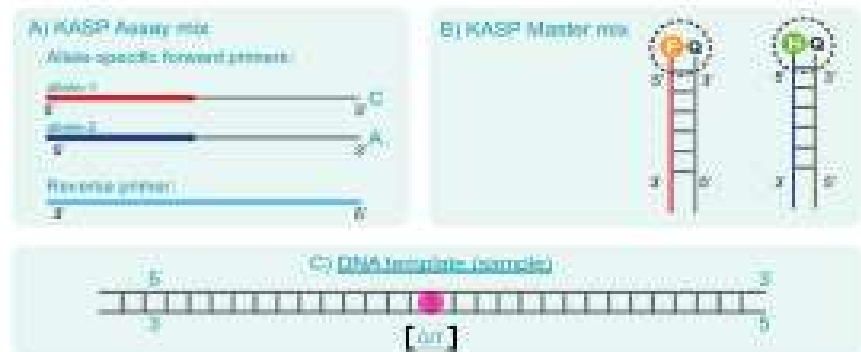
- 160 Grisart B, Coppieters W, Farnir F, et al. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Research*. 2002;**12**(2):222-31.
- 161 Kong H, Oh J, Lee J, et al. Association of sequence variations in DGAT 1 gene with economic traits in Hanwoo (Korea cattle). *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 2007;**20**(6):817.
- 162 Kaupé B, Winter A, Fries R, Erhardt G. DGAT1 polymorphism in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds. *Journal of Dairy Research*. 2004;**71**(2):182-7.
- 163 Glantz M, Månsson HL, Stålhammar H, Paulsson M. Effect of polymorphisms in the leptin, leptin receptor and acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) genes and genetic polymorphism of milk proteins on bovine milk composition. *Journal of Dairy Research*. 2012;**79**(1):110-8.
- 164 Schenkel F, Miller S, Moore S, et al. Association of SNPs in the leptin and leptin receptor genes with different fat depots in beef cattle. *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006*; 2006: Instituto Prociência; 2006. p. 03-80.
- 165 Guo Y, Chen H, Lan X, et al. Novel SNPs of the bovine LEPR gene and their association with growth traits. *Biochemical Genetics*. 2008;**46**(11-12):828-34.
- 166 Paredes-Sánchez FA, Sifuentes-Rincón AM, Cabrera AS, Pérez CAG, Bracamonte GMP, Morales PA. Associations of SNPs located at candidate genes to bovine growth traits, prioritized with an interaction networks construction approach. *BMC Genetics*. 2015;**16**(1):91.

EKLER

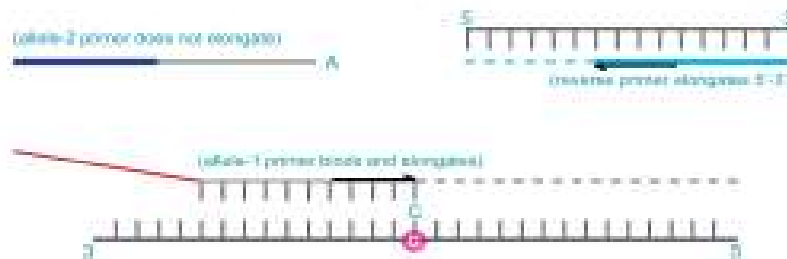
EK1:Kasp™ çalışma prensibi

1) Assay components:

KASP uses three components: test DNA with the SNP of interest; KASP Assay Mix containing two different, allele-specific, competing forward primers with unique tail sequences and one reverse primer; the KASP Master mix containing FRET cassette plus Taq polymerase in an optimised buffer solution.



2) Denatured template and annealing components – PCR round 1:

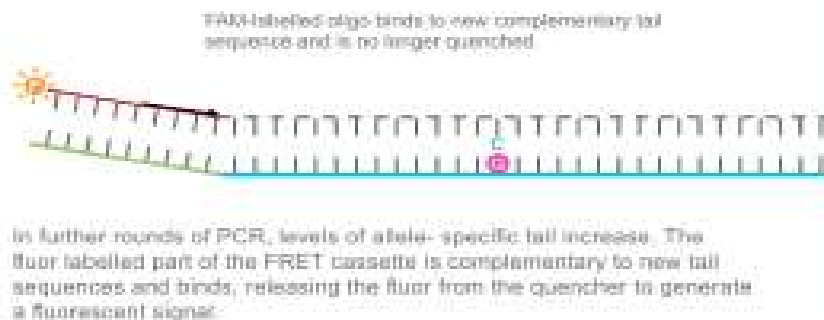


In the first round of PCR, one of the allele-specific primers matches the target SNP and, with the common reverse primer, amplifies the target region.

3) Complement of allele-specific tail sequence generated – PCR round 2:

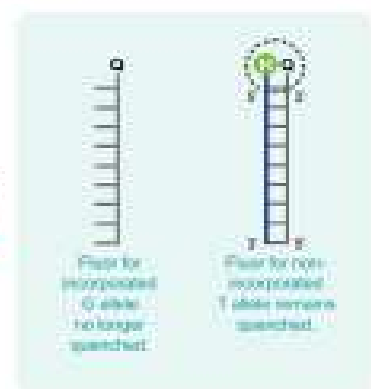


4) Signal generation – PCR round 3:



In further rounds of PCR, levels of allele-specific tail increase. The fluor-labelled part of the FRET cassette is complementary to new tail sequences and binds, releasing the fluor from the quencher to generate a fluorescent signal.

Legend	
	Allele-1 tail FAM-labelled oligo sequence
	Allele-2 tail HEX-labelled oligo sequence
	Common reverse primer
	FAM dye
	HEX dye
	Target SNP
	Quencher



EK2:Aminoasit Kodları

IUPAC Amino asit kodu	Üç harfli kod	Amino asit
A	Ala	Alanine
C	Cys	Cysteine
D	Asp	Aspartic Acid
E	Glu	Glutamic Acid
F	Phe	Phenylalanine
G	Gly	Glycine
H	His	Histidine
I	Ile	Isoleucine
K	Lys	Lysine
L	Leu	Leucine
M	Met	Methionine
N	Asn	Asparagine
P	Pro	Proline
Q	Gln	Glutamine
R	Arg	Arginine
S	Ser	Serine
T	Thr	Threonine
V	Val	Valine
W	Trp	Tryptophan
Y	Tyr	Tyrosine

EK3: Nükleotid varyasyon Kodları

IUPAC Nükleotid Kod	Baz
A	Adenin
C	Sitozin
G	Guanin
T (veya U)	Timin (veya Urasil)
R	A veya G
Y	C veya T
S	G veya C
W	A veya T
K	G veya T
M	A veya C
B	C veya G veya T
D	A veya G veya T
H	A veya C veya T
V	A veya C veya G
N	Herhangi bir baz
./ -	boşluk

EK4: Siyah Alaca örnekleminin TürkVet sisteminde kayıtlı kulak küpe numaraları

Tüp No	Kulak Küpe No	Tüp No	Kulak Küpe No	Tüp No	Kulak Küpe No	Tüp No	Kulak Küpe No
1	TR330000435204	21	TR800000331350	41	TR350001475647	61	TR410000336138
2	TR540000642668	22	TR010000389404	42	TR450000854803	62	TR010000656265
3	TR010000389527	23	TR350001338799	43	TR010000738114	63	TR010000738131
4	TR540000652556	24	TR450000887548	44	TR800000331361	64	TR410000310357
5	TR540000682825	25	TR410000320761	45	TR010000003815	65	TR540000655173
6	TR010000517411	26	TR010000609304	46	TR350001567490	66	TR540000676767
7	TR640000384364	27	TR200000680638	47	TR010000005276	67	TR160000416754
8	TR010000655653	28	TR410000333567	48	TR010000609257	68	TR160000397208
9	TR010000609316	29	TR640000400202	49	TR160000416794	69	TR540000652552
10	TR540000684622	30	TR160000397216	50	TR800000331390	70	TR450000899742
11	TR010000389521	31	TR540000680192	51	TR540000702103	71	TR350000904062
12	TR010000484130	32	TR010000002899	52	TR540000694903	72	TR350001591021
13	TR540000642673	33	TR010000609320	53	TR010000003844	73	TR010000007479
14	TR800000331373	34	TR450000923375	54	TR010000609287	74	TR640000384095
15	TR100001500011	35	TR640000393500	55	TR450000830910	75	TR330000354305
16	TR010000609295	36	TR160000397206	56	TR350001119517	76	TR010000004045
17	TR540000607812	37	TR010000738104	57	TR010000738112	77	TR200000677752
18	TR540000607473	38	TR410000340496	58	TR640000429302	78	TR640000393878
19	TR410000327229	39	TR800000331351	59	TR450000904170	79	TR350001550553
20	TR540000658484	40	TR010000738112	60	TR450000910633	80	TR010000609273

EK5:Yerli Kara örnekleminin TürkVet sisteminde kayıtlı kulak küpe numaraları

Tüp No	Kulak Küpe No	Tüp No	Kulak Küpe No	Tüp No	Kulak Küpe No	Tüp No	Kulak Küpe No
1	TR060000637734	21	TR060000617140	41	TR060000899738	61	TR06000905544
2	TR060000393277	22	TR060000617103	42	TR060000909764	62	TR06000355614
3	TR060000637762	23	TR060000344858	43	TR060000344661	63	TR06000355615
4	TR060000899769	24	TR060000661866	44	TR06000899733	64	TR06000476271
5	TR060000578944	25	TR06000899591	45	TR060000899721	65	TR06000355516
6	TR060000826681	26	TR060000578888	46	TR060000671455	66	TR060000476253
7	TR060000795708	27	TR060000795692	47	TR060000798715	67	TR06000857934
8	TR060000637738	28	TR060000617143	48	TR060000550496	68	TR060000347452
9	TR060000754370	29	TR060000755588	49	TR060000344729	69	TR06000344859
10	TR060000763655	30	TR060000578971	50	TR060000770240	70	TR180000367401
11	TR060000899501	31	TR060000755599	51	TR060000542415	71	TR180000413217
12	TR060001019459	32	TR060000345238	52	TR060000755700	72	TR180000457094
13	TR060000393300	33	TR060000899648	53	TR060000636570	73	TR180000413997
14	TR060000475984	34	TR060000344685	54	TR060000790203	74	TR180000374086
15	TR060000755574	35	TR060000702658	55	TR060000816378	75	TR180000374177
16	TR060000899776	36	TR060000909716	56	TR060000905550	76	TR180000367312
17	TR060000344955	37	TR060000798749	57	TR06000355693	77	TR180000523877
18	TR060000661909	38	TR060001019112	58	TR060000790211	78	TR180000500357
19	TR060000899773	39	TR060000798790	59	TR06000355662	79	TR180000413935
20	TR060000795930	40	TR060000542491	60	TR06000355655	80	TR180000457356

EK6: Yerli Kara hayvan materyalinin yetiştiricileri ve lokasyonları.

No	Hayvan Sahibi	Hayvan Sayısı	Köy ¹	No	Hayvan Sahibi	Hayvan Sayısı	Köy ¹
1	Satılmış ÇEKÜÇ	1	Çakırbağ	22	Femi IŞIK	1	Osmansin
2	Hakkı BAKIR	1	Çakırbağ	23	Hassan KÜÇCÜK	4	Osmansin
3	Şeref Çakıl	1	Çakırbağ	24	Hava KOCA	2	Osmansin
4	Muharrem URUL	2	İncekaya	25	Kemal KÜÇCÜK	2	Osmansin
5	Asiye Oklu	1	İncekaya	26	Kemal TEKER	3	Osmansin
6	Mustafa AKAR	1	Kavak	27	Mehmet Ali ÇELİK	2	Osmansin
7	Şerafettin Akkaya	2	Kavak	28	Mustafa KÜTÜK	2	Osmansin
8	Satılmış HIZLI	2	Topçu	29	Ömer SARI	2	Osmansin
9	Ahmet ÖZTÜRK	2	Dağkuzören	30	Rıza ÇABUK	2	Osmansin
10	Ali ÇAKMAK	2	Dağkuzören	31	Süleyman ÇELİK	2	Osmansin
11	Durmuş Ali ŞİMŞEK	3	Dağkuzören	32	Ünal ARSLAN	1	Osmansin
12	Feyzullah BİLGİN	1	Dağkuzören	33	Duran YILMAZ	1	Yılanlı
13	Hüseyin DEMİREL	1	Dağkuzören	34	Durdaniye TOPÇU	1	Yılanlı
14	Mehmet IŞIK	1	Dağkuzören	35	Durmuş Ali AYDIN	2	Yılanlı
15	Osman KAZANCI	5	Dağkuzören	36	Durmuş AYDIN	1	Yılanlı
16	Süleyman KORKMAZ	1	Dağkuzören	37	Hasan ALTUNOK	3	Yılanlı
17	Süleyman ŞİMŞEK	2	Dağkuzören	38	Kemal ÇUKURCA	1	Yılanlı
18	Şerafettin ÖZCAN	3	Dağkuzören	39	Mehmet AYDIN	1	Yılanlı
19	Bekir ÇAKIR	2	Osmansin	40	Mehmet ÇİMŞİR	2	Yılanlı
20	Bekir ÇELİK	5	Osmansin	41	Mehmet ER	2	Yılanlı
21	Fatma YÖNLÜ	2	Osmansin	42	Ömer ÇEVİK	2	Yılanlı

1.Çakırbağ, İncekaya, Kavak ve Topçu köyleri Çankırı ili Bayramören ilçesinde; Osmansin, Dağkuzören, Yılanlı köyleri Ankara ili Çamlıdere ilçesindedir.

EK7: Polimorfizm bölgelerinin dizileri

Sıra No	dbSNP kod	Allel	Dizi
1	rs43703010	A/G	AATCCCATTGGCTCTGAGAACAGTG [A/G] AAAGACTACTATGCCACTGTGGTG
2	rs110981354	G/C	AAGAACCTATGATAGGAGTGAATCA [G/C] GTAAGTGTGTGCTGTCTGTGTGTA
3	rs207498943	C/T	TTGTGCCAATCCATCAGAGATATTC [C/T] ATTGCCTGGACTACTTGTCTTCTT
4	rs109261203	T/C	GTCATATAAGTTATATTTGATGTGC [T/C] CTCTCATATTTATTAAGTCCTTAT
5	rs43703013	G/C	ATCCAGTTGAGCCCTTTACTGAAAG [G/C] CAGAGCCTGACTCTCACTGATGTTG
6	rs43703011	G/T	CAGATAGGGAAGGGACCCGGGTAGG [G/T] ATTGTGCGAGGGTGTTTTGTAGGGA
7	rs43703016	C/A	GAGAGCACTGTAGCTACTCTAGAAG [C/A] TTCTCCAGAAGTTATTGAGAGCCCA
8	rs43703017	A/G	AGAAGMTTCTCCAGAAGTTATTGAG [A/G] GCCCACCTGAGATCAACACAGTCCA
9	rs137581281	C/G	CATGGCGCCAGCGACATCTCCCTG [C/G] TGGACGCCAGAGTGCCCCCTGAG
10	rs109625649	T/C	AGTGCTGAGCCCAGCAAAGCCTGG [T/C] CTGCCAGTGCCTGGGTGGGTGCCAA
11	rs444355314	T/A	CTTCCAGATAAATAATAAATTTGG [T/A] GCAAAGACGACCAGAACCCTCACTC
12	rs209045823	G/A	GTGGTGACCCCATTTTCAAGTCTTG [G/A] GGGGTACCCAAATGATGTCCTTTG
13	rs209106815	T/A	CATTAAGAACCATCTCAGAAATGGA [T/A] GGATGAATGTGGGCTTAGCAGTTG
14	rs211032652	T/C	CATCTGGGGTCTCTTTCATACCCCG [C/T] ACCTCGGTGACTAGGTGATAGAGAG
15	rs43158737	G/A	TTAGCAAGAAGCACACCTCCATATG [A/G] AAGATGTACGTATCACAGTAAACG
16	rs109428015	C/T	GGCCCTCCCTAGACTCATTTFCTC [C/T] GAAGCAAACCTAGCTTAAGATTTTC
17	rs135164815	G/A	GTTTTCATTTTGCTACTTTTTTCTCA [G/A] TGTACGCTTCTGAATGGTAAGTAA
18	rs457826018	G/A	CTCGCTCTTCCAGCCCCGACATC [A/G] ACCCTGCCTGGTACGCGGGCCGTGG
19	rs440624852	T/C	GGAATGAAGCGGGTGGGGCCTGGC [C/T] CCTCTGCCTGCTGCTGCTGGGCCTG
20	rs136116329	A/C	CAGGCAGTTGCCACAAGCCCCACG [A/C] CCACCACGATGCTGTAGAGCAGCAC
21	rs137554581	C/T	CTTTATTCCTTTCAGAAATCTCCAAA [C/T] ACAGTAGCCTAGATTGTGTGCTGAG
22	rs379782196	T/A	GGGCCTGGACAAGTGTGTGCCAAC [A/T] CTAAGGAGAAGTACTATGGCTATAC
23	rs134083952	T/C	CAGGAACCTCCGAGTCCATCACCTAC [C/T] TCTGGCAGAAGTGAACATCCCTGT
24	rs109234250	G/A	CTTGCTCGTAGCTTTGGCAGTAAG [G/A] CGGCCAACGGGGAGCTGCCACGG
25	rs109178802	A/C	TCCTTCTATTTTGGACGAGACATAT [A/C] TGTCTACTGTAACCTCCCTTCCGTA
26	rs29004487	A/T	AGGAAAATGCGCTGTGGACCCCTGT [A/T] TCGATTCTGTGGCTTTGGCCCTA
27	rs133672995	C/T	GCAACTACAGATGCTCTACTTTTGA [C/T] GACTCCAGATCTTGAAGGGTTCT
28	rs134687399	G/A	CTTCATGACCTCAGGTACGTCTCC [G/A] TCTTATGCAGTCTTCCGGAAGCA
29	rs384417222	G/A	GTCTCCGTCTTATGCAGGTCTTCC [G/A] GAAGCAGGAGAGCAGACCGTAGTTC
30	rs41923484	G/C	CCAGCCCAGGGGGTGCATCTTCCA [G/C] CTCCTGCCAAGGGAGGGAGAGACA
31	rs385640152	A/T	TTGCTGTTTAGAAAATATGAGTAAA [A/T] ATAATGTCACTGCTAGCCCAAGTA
32	rs209676814	C/T	GGGGCCAGGGCAATGTACTTTTTGG [C/T] GTCTACCTCGCAGAAGTAAGCGTTG
33	rs134261880	A/T	CACTCACAAACACACACTTTTTTC [A/T] GTACTGATGCTGGGTGTGGAGGCTG
34	rs133774330	C/T	CGGCGACAGCTGCCTGGGTGACCT [C/T] GGTGACCTGCGTTTCCCTCCACTG
35	rs134527338	A/G	GAGTAATAAGGACGATTGGTTAAGT [A/G] AAGGTCTGAAACGTGAAGTCTTCGT
36	rs134699109	A/C	AAGTGACGTCTGCACCTCACCTCC [A/C] CCACCACGTGGAAGAACCGAATCAT
37	rs41640706	G/A	AGAGTCCGGAACCGAGGGTCCAGTG [G/A] CCGGGTCTTACAGTAGACGAGGAA
38	rs110116537	A/G	TAACATTCATGCCATTTTATTTCCA [A/G] TACGAGCACTTCCATCATGAAATCC
39	rs379846774	T/A	GATGCTGCTGTTGATCGCTGAACAG [T/A] GGTTTTCATTTCTGTTTCCAGGAGGT
40	rs41654417	T/C	ACTTCATTCTCGAGAGTTTTTTCCT [T/C] TTCTCTTCTCTTTGAGTCCAATTCT
41	rs210206517	G/A	ATGTCACTGCAGCAAGTGCACAGC [G/A] ACAGCACTGACTGCACCGTGAGAGG
42	rs209882669	G/C	ATGAAAGTTGTGGGCAGTGGATGAG [G/C] TTTCTGACCTATAGGTCTGGGCTTG
43	rs134716865	T/G	CGCCCAGCAGCAGCCACAGCAGCAG [T/G] CCTAGGACAAGGCCAGTGCCTCAG
44	rs41256848	C/A	AGTGTCAGTAGTGTGATCTTCTAC [C/A] GTGTGGTAGTGGATACGATAAGTTG
45	rs385085505	G/A	AAAATGCTAGGCCCGTGGCCCCC [G/A] GAAGGCGTCTGTTGTGCATCTTCT
46	rs134410731	A/C	CTGCTGCTGGAGATGCTGGATGCC [A/C] CCGCCTGCACGCCAGCCAACTTC
47	rs137800872	T/C	CGCGGCCCGCCTCCGCGCCGTC [T/C] ACGGCCAGTCCGGCCTCCCTACGG
48	rs435395847	T/G	GGCGGCTCTTACATAGGAAGAGGG [T/G] AAATAGATGGGGCTGGCTCCAGGG

49	rs450941529	T/G	TTTTTGGAAATGCTCGAGGCCATGA [T/G] GGACTGAGGCAAGGGGTGGGCATGG
50	rs135747177	G/C	GTCCAGCCCGTCCTCGGGGATTGAT [C/G] CCCTCAGCCACCACAGCCCCAGCGG
51	rs135080645	T/G	CGAAGAGCCACCTGGGCTGTGGTGG [T/G] TGACGCTGTCCGTCAGGGAGGCCGG
52	rs133668769	T/C	ATGAGAACAACACTAGATGCTGTTGCC [T/C] CCCACAGCCGGTGGGTATTCCAAAC
53	rs434893320	C/A	GTTCCTTTAGAAGGACTAAGAAGTC [C/A] AAACCAGTTTGAAGAGATGAGATCA
54	rs132742501	A/G	CGGTCGAGAATAGAGGTATTGTTAC [A/G] GGTGCTTGTCAAGATATGTCGGTCA
55	rs135545931	T/C	ATAACAATGTCCACGAACAGTTCTA [T/C] ACAGCCAGTGTCTCCTGAATCTGAG
56	rs136616281	A/C	GTCACAGTCACGGCAGCCGGAGCCG [A/C] CACAGCCTCCGCCACCTTGTGCCAG
57	rs43331778	T/C	GTATTTCCGGCAGCGAAGAAGGCT [T/C] GGGCTGCCTTGCCCTTACCACAAGC
58	rs29004488	A/G	CATAAAGGCCGTCGCTTCTTTCCGA [A/G] CCCGACGGAACGGAAGTGGTGTTCG



EK8: Genotiplendirmede kullanılan floresan boyalar ve PCR protokolleri

Sıra	SNP	FAM	HEX	PCR protokolü	Sıra	SNP	FAM	HEX	PCR Protokolü
1	rs29004488	A	G	TD61-55	30	rs135164815	A	G	TD61-55
2	rs41256848	G	T	TD61-55	31	rs135545931	C	T	TD61-55
3	rs41640706	C	T	TD61-55	32	rs135747177	C	G	TD61-55
4	rs41654417	C	T	TD61-55	33	rs136116329	A	C	TD61-55
5	rs41923484	C	G	TD61-55	34	rs136616281	A	C	TD61-55
6	rs43158737	A	G	TD61-55	35	rs137554581	C	T	TD61-55
7	rs43331778	C	T	TD61-55	36	rs137581281	C	G	TD61-55
8	rs43703010	A	G	TD68-62	37	rs137800872	C	T	TD61-55
9	rs43703011	A	C	TD61-55	38	rs207498943	C	T	TD61-55
10	rs43703013	C	G	TD61-55	39	rs209045823	A	G	TD61-55
11	rs43703016	A	C	TD61-55	40	rs209106815	A	T	TD61-55
12	rs43703017	A	G	TD61-55	41	rs209676814	C	T	TD61-55
13	rs109178802	G	T	TD61-55	42	rs209882669	C	G	TD61-55
14	rs109234250	A	G	TD61-55	43	rs211032652	C	T	TD68-62
15	rs109261203	A	G	TD61-55	44	rs379782196	A	T	TD61-55
16	rs109428015	C	T	TD61-55	45	rs379846774	A	T	TD61-55
17	rs109625649	C	T	TD61-55	46	rs382153066	C	G	TD68-62
18	rs110116537	A	G	TD68-62	47	rs384417222	A	G	TD61-55
19	rs110981354	C	G	TD61-55	48	rs385085505	A	G	TD61-55
20	rs132742501	C	T	TD61-55	49	rs385640152	A	T	TD61-55
21	rs133668769	C	T	TD61-55	50	rs29004487	A	T	TD61-55
22	rs133672995	C	T	TD61-55	51	rs134699109	A	C	TD61-55
23	rs133774330	C	T	TD61-55	52	rs210206517	G	A	TD61-55
24	rs134083952	C	T	TD61-55	53	rs457826018	G	A	TD61-55
25	rs134261880	A	T	TD61-55	54	rs450941529	T	G	TD61-55
26	rs134410731	A	C	TD61-55	55	rs434893320	C	A	TD61-55
27	rs134687399	A	G	TD61-55	56	rs435395847	T	G	TD61-55
28	rs134716865	G	T	TD61-55	57	rs444355314	T	A	TD61-55
29	rs135080645	G	T	TD61-55	58	rs440624852	T	C	TD61-55

EK9: Genotiplendirmede kullanılan PCR protokolleri

Touchdown (TD) 61-55 °C protokolü

1. 94 °C 15 dakika
2. 94 °C 20 saniye
3. 61 °C 60 saniye
4. 0.6 °C/döngü sıcaklığı düşür

Adım 2-4 55 °C sıcaklığa erişene kadar 9 kez tekrarla (toplam 10 döngü)

5. 94 °C 10 saniye
6. 55 °C 60 saniye

Adım 5-6 25 kez tekrarla (toplam 26 döngü)

Recycling protokolü

1. 94 °C 20 saniye
2. 57 °C 60 saniye

Toplamda 3 döngü olacak şekilde adım 1-2 yi 2 kez tekrarla

Touchdown (TD) 68-62 °C protokolü

1. 94 °C 15 dakika
2. 94 °C 20 saniye
3. 68 °C 60 saniye
4. 0.6 °C/döngü sıcaklığı düşür

Adım 2-4, 62 °C sıcaklığa erişene kadar 9 kez tekrarla (toplam 10 döngü)

5. 94 °C 10 saniye
6. 62 °C 60 saniye

Adım 5-6 25 kez tekrarla (toplam 26 döngü)

Recycling protokolü

1. 94 °C 20 saniye
2. 57 °C 60 saniye

Toplamda 3 döngü olacak şekilde adım 1-2 yi 2 kez tekrarla

EK10: Yerli Kara hayvanlara ait bireysel veri toplamak amacıyla üreticilere yöneltilen sorular ve cevapları.

SORULAR													
1	Hayvanın Yaşı (yıl)												
2	Doğum sayısı												
3	İlk kızgınlık yaşı(Ay)												
4	İlk doğum yaşı(Ay)												
5	buzağılama aralığı(Ay)												
6	kuruda kalma süresi (Ay)												
7	ölü doğum-düşük												
8	ilk 3 ay günlük süt verimi (L)												
9	3 aydan sonra günlük süt verimi (L)												
10	Laktasyon süresi (gün)												
Sıra No	Hayvan Sahibi	Hayvan Kulak Küpe No	Hayvanın Doğum Tarihi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	Süleyman ÇELİK	TR060000637734	15.02.2008	6	3	24	36	12	3		3	2	180
2.	Süleyman ÇELİK	TR060000393277	02.03.2004	10	7	24	36	12	4		1	1.5	150
3.	Mehmet Ali ÇELİK	TR060000637762	20.02.2008	6	3	24	36	12	4		2	1	150
4.	Mehmet Ali ÇELİK	TR060000899769	24.03.2011	3	1	24	36		2		5	2	150
5.	Rıza ÇABUK	TR060000578944	05.01.2007	7	4	24	36	11	2		5	2	270
6.	Rıza ÇABUK	TR060000826681	01.10.2010	4	1	24	36		4		3	2	210
7.	Bekir ÇAKIR	TR060000795708	01.04.2010	4	2	18	30	11	2		3	1	180
8.	Bekir ÇAKIR	TR060000637738	15.02.2008	6	3	24	36	13	4		5	2	210
9.	Ünal ARSLAN	TR060000754370	23.05.2009	5	2	18	30	13	4		4	2	180
10.	Kemal KÜÇCÜK	TR060000763655	28.04.2010	4	2	7	18	12	2		2	1.5	180
11.	Kemal KÜÇCÜK	TR060000899501	20.03.2011	3	1	27	36		2		2	1.5	180
12.	Fatma YÖNLÜ	TR060001019459	03.05.2011	3	1	24	36		3		3	1	210
13.	Fatma YÖNLÜ	TR060000393300	02.03.2001	13	10	24	36	12	3		10	3	180
14.	Hava KOCA	TR060000475984	01.01.2002	12	9	24	36	12	3		3	1	150
15.	Hava KOCA	TR060000755574	27.05.2009	5	2	24	36	12	3		3	1	240
16.	Bekir ÇELİK	TR060000899776	24.03.2011	3	1	24	36		3		3	1.5	180
17.	Bekir ÇELİK	TR060000344955	05.04.2004	10	7	24	36	12	3		1.5	1.5	150
18.	Bekir ÇELİK	TR060000661909	01.10.2008	6	3	24	36	12	3		7	2	180
19.	Bekir ÇELİK	TR060000899773	24.03.2011	3	1	24	36		5		5	2	180
20.	Bekir ÇELİK	TR060000795930	15.03.2010	4	2	12	24	14	5		3	2	150
21.	Hasan KÜÇCÜK	TR060000617140	01.02.2007	7	4	18	30	14	5		3	1.5	150
22.	Hasan KÜÇCÜK	TR060000617103	01.11.2006	8	5	24	36	12	3		2	1	150
23.	Hasan KÜÇCÜK	TR060000344858	09.04.1999	15	12	24	36	12	4		4	1	150
24.	Hasan KÜÇCÜK	TR060000661866	20.09.2008	6	3	24	36	12	3		6	3	150
25.	Kemal TEKER	TR060000899591	20.03.2011	3	1	18	30		5		3	1	180
26.	Kemal TEKER	TR060000578888	03.12.2006	8	5	24	36	12	2	1	4	3	180
27.	Kemal TEKER	TR060000795692	05.02.2010	4	1	24	36		3		5	1.5	120
28.	Ömer SARI	TR060000617143	01.11.2002	12	6	24	36	18	4		3	1	240
29.	Ömer SARI	TR060000755588	27.05.2009	5	2	24	36	12	3		7	2	180
30.	Femi IŞIK	TR060000578971	05.01.2007	7	3	24	36	18	5		3	1	240

31.	Mustafa KÜTÜK	TR060000755599	27.05.2009	5	1	24	36		6		4	1	150
32.	Mustafa KÜTÜK	TR060000345238	08.01.2003	11	9	18	30	12	3		5	2	180
33.	Süleyman KORKMAZ	TR060000899648	01.04.2011	3	1	24	36		3		4	1.5	180
34.	Durmuş Ali ŞİMŞEK	TR060000344685	05.02.1999	15	11	24	36	13	4		3	1	210
35.	Durmuş Ali ŞİMŞEK	TR060000702658	19.09.2008	6	3	24	36	12	4		5	2	180
36.	Durmuş Ali ŞİMŞEK	TR060000909716	08.04.2011	3	1	24	36		4		5	2	180
37.	Mehmet IŞIK	TR060000798749	23.07.2010	4	1	24	36		3		5	2	150
38.	Feyzullah BİLGİN	TR060001019112	20.04.2011	3	1	24	36		4		5	2	270
39.	Süleyman ŞİMŞEK	TR060000798790	17.08.2010	4	1	24	36		4		5	1	150
40.	Süleyman ŞİMŞEK	TR060000542491	04.02.2006	8	5	24	36	12	4		5	1	180
41.	Şerafettin ÖZCAN	TR060000899738	20.03.2011	3	1	18	30		3		3	1	180
42.	Şerafettin ÖZCAN	TR060000909764	08.04.2011	3	1	24	36		3		2	1	180
43.	Şerafettin ÖZCAN	TR060000344661	13.02.1999	15	11	24	36	12	4	1	4	3	240
44.	Hüseyin DEMİREL	TR060000899733	20.03.2011	3	1	24	36		3		3	5	150
45.	Osman KAZANCI	TR060000899721	20.03.2011	3	1	24	36		3		2	5	180
46.	Osman KAZANCI	TR060000798715	23.07.2010	4	1	36	48		3		2	5	150
47.	Osman KAZANCI	TR060000550496	05.04.2007	7	5	24	36	9	3		2	4	180
48.	Osman KAZANCI	TR060000344729	01.01.2000	14	11	24	36	12	3		4	2	150
49.	Ali ÇAKMAK	TR060000770240	19.02.2010	4	1	24	36		3	1	2	2.5	180
50.	Ali ÇAKMAK	TR060000542415	06.02.2006	8	5	24	36	12	3		3	4	180
51.	Ahmet ÖZTÜRK	TR060000755700	27.05.2009	5	3	18	30	12	3		5	2	210
52.	Ahmet ÖZTÜRK	TR060000636570	01.03.2007	7	3	36	48	12	3		2	2	180
53.	Mehmet ER	TR060000790203	27.01.2010	4	2	18	24	12	2		4	1	150
54.	Mehmet ER	TR060000816378	13.03.2006	8	5	24	36	12	3	1	6	3	180
55.	Durdaniye TOPÇU	TR060000905550	20.03.2011	3	1	24	36		4	1	3	1	180
56.	Ömer ÇEVİK	TR06000355693	14.01.2000	14	11	24	36	12	5		4	1.5	150
57.	Ömer ÇEVİK	TR060000790211	27.01.2010	4	1	24	36		5		2	1	150
58.	Mehmet ÇİMŞİR	TR06000355662	11.01.1997	17	13	36	48	12	4		5	3	150
59.	Mehmet ÇİMŞİR	TR06000355655	04.01.2001	13	9	36	48	12	4		4	2	150
60.	Hasan ALTUNOK	TR06000905544	20.03.2011	3	1	24	36		4		3	1	180
61.	Hasan ALTUNOK	TR06000355614	04.01.1999	15	12	18	30	12	3		2	1	210
62.	Hasan ALTUNOK	TR06000355615	05.01.1999	15	12	24	36	12	5		3	1	150
63.	Mehmet AYDIN	TR06000476271	13.11.2004	10	7	24	36	12	4		5	1	150
64.	Duran YILMAZ	TR06000355516	26.12.2003	11	8	24	36	12	4		3	1	150
65.	Kemal ÇUKURCA	TR060000476253	06.10.2004	10	7	18	30	13	4		4	2	210
66.	Durmuş AYDIN	TR06000857934	09.12.2009	5	3	12	24	12	4		4	2	180
67.	Durmuş Ali AYDIN	TR060000347452	01.12.2003	11	8	24	36	12	3		2	1	120
68.	Durmuş Ali AYDIN	TR06000344859	10.04.1999	15	11	24	36	13	4		3	2	150
69.	Satılmış ÇEKÜÇ	TR180000367401	03.03.2010	4	1	24	36		4		4	2	180
70.	Satılmış HIZLI	TR180000413217	30.09.2011	3	1	24	36		6		5	3	180
71.	Satılmış HIZLI	TR180000457094	16.04.2009	5	2	24	36	12	2	1	3	2	210
72.	Muharrem URUL	TR180000413997	25.09.2011	3	1	24	36		6	1	3	3	150
73.	Muharrem URUL	TR180000374086	08.12.2006	8	5	24	36	12	5		3	1	120
74.	Mustafa AKAR	TR180000374177	05.03.2003	11	8	24	36	12	3		5	2	210

EK11: Yerli Kara ırkının bazı verim özellikleri hakkında bilgi toplamak amacıyla üreticilere sorulan sorular ve cevapları.

SORULAR											
1	Kaç yaşına kadar verimlidir (yıl)										
2	Kaç doğum yapar										
3	İlk kızgınlık yaşı (ay)										
4	İlk doğum yaşı (ay)										
5	İkiz doğurur mu(E-H)										
6	Doğum kolaylığı (Kolay-Zor)										
7	Doğumlar arası süre (ay)										
8	En yüksek günlük süt verimi (L)										
9	En düşük günlük süt verimi(L)										
10	Laktasyon süresi (gün)										
Üretici	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Ahmet ÖZTÜRK	14	12	24	36	H	K	9	2	1	180	
Ali ÇAKMAK	17	14	24	36	H	K	9	4	2	180	
Asiye OKLU	10	8	24	36	H	K	12	4	1	180	
Bekir ÇAKIR	14	12	19	28	H	K	12	4	1	240	
Bekir ÇELİK	13	11	24	36	H	K	12	3	1	180	
Belgüzar UYANIK	12	9	24	36	H	K	12	3	1	150	
Duran YILMAZ	13	7	24	36	H	K	12	3	1	150	
Durdaniye TOPÇU	10	7	24	36	H	K	12	5	2	180	
Durmuş Ali AYDIN	11	8	24	36	H	K	12	4	1,5	150	
Durmuş Ali ŞİMŞEK	10	7	24	36	H	K	12	2	1	150	
Durmuş AYDIN	17	13	24	36	E	K	12	5	2	210	
Fatma YÖNLÜ	13	10	18	30	H	K	12	3	1	180	
Femi IŞIK	15	10	24	36	H	K	12	3	1,5	180	
Feyzullah BİLGİN	10	8	24	36	E	K	12	4	1	210	
Hakkı BAKIR	12	10	36	48	H	K	12	5	3	180	
Hasan ALTUNOK	10	7	24	33	H	K	18	10	3	150	
Hassan KÜÇCÜK	14	12	18	30	H	K	12	3	1	240	
Hava KOCA	13	9	24	36	H	K	12	5	2	210	
Hüseyin DEMİREL	15	12	24	36	H	K	12	4	3	270	
Kemal ÇUKURCA	11	7	24	36	H	K	12	4	1	120	
Kemal KÜÇCÜK	13	8	18	30	E	K	12	3	1	240	
Kemal TEKER	14	11	24	36	E	K	12	2	1	120	
Mehmet Ali ÇELİK	13	8	24	36	H	K	12	3	1	150	
Mehmet AYDIN	15	10	24	36	E	K	15	5	1	180	
Mehmet ÇİMŞİR	15	7	36	48	H	K	18	3	2	120	
Mehmet ER	13	9	24	36	H	K	12	5	2	180	
Mehmet IŞIK	10	7	24	36	E	K	12	3,5	1	210	
Muharrem URUL	10	8	24	36	H	K	12	10	3	150	
Murat GÜLDÜR	14	10	24	36	E	K	12	5	2	150	
Mustafa AKAR	10	7	24	36	H	K	12	5	4	300	
Mustafa KÜTÜK	12	6	24	36	H	K	15	3	1	180	
Osman KAZANCI	15	13	24	36	H	K	9	4	2	180	

Ömer ÇEVİK	15	9	30	42	E	K	12	4	1	180
Ömer SARI	15	10	24	36	H	K	15	3	1	120
Rıza ÇABUK	13	10	24	36	H	K	12	5	2	150
Satılmış AŞLAK	10	8	24	36	E	K	12	5	3	150
Satılmış ÇEKÜÇ	12	8	24	36	H	K	12	5	3	180
Satılmış HIZLI	11	9	24	36	H	K	12	5	2	150
Süleyman ÇELİK	13	11	24	36	H	K	15	3	1	180
Süleyman KORKMAZ	11	7	24	36	H	K	12	2,5	1,5	150
Süleyman ŞİMŞEK	12	9	24	36	H	K	12	4	1	150
Şerafettin AKKAYA	9	7	24	36	H	K	12	5	3	150
Şerafettin ÖZCAN	13	11	24	36	H	K	12	5	2	120
Şeref ÇAKIL	8	5	24	36	H	K	12	5	1	120
Ünal ARSLAN	13	10	24	36	H	K	15	5	3	150
Yakup ARSLAN	10	8	24	36	H	K	12	4	2	180
Zeliha ÇETİNKAYA	15	11	24	36	H	K	12	3	1	150

EK12: DNA ekstraksiyon protokolü

Liziz Solüsyonu I (10x, Kırmızı kan hücreleri için): 0.77 M NH₄Cl (A9434, SIGMA) 46 mM KHCO₃ (P9144, SIGMA). Kullanmadan önce 2x olacak şekilde sulandırılır.

Liziz Solüsyonu II (Beyaz kan hücreleri için): 100 mM NaCl (S7653), 25 mM EDTA (E6758)

%10 SDS (L4390 SIGMA) (%20lik stoktan hazırlanır)

10 mg/mL proteinaz K (P2308 SIGMA)

Fenol (Trisile doyurulmuş, pH 8)(P4557, SIGMA)

Kloroform:izoamilalkol(24:1)(25666, SIGMA)

7.5 M NH₄OAc (Amonyum asetat) (A2706, SIGMA)

%100 Etanol

%70 Etanol

TE tampon (93283 SIGMA-ALDRICH)

Yöntem

1. 2 mL kan 15 mL falkon tüplerine aktarılır. 3000 rpm 10 dak. santrifüj edilir.
2. Sıvı kısım dikkatlice uzaklaştırılır.
3. Çökeltinin üstüne 10 mL 2x Liziz Solüsyonu I eklenir. İyice karıştırıp 10 dak. Alt üst edilerek kırmızı kan hücrelerinin parçalanması sağlanır. Sıvı, berrak bir kırmızı renk alınca liziz tamamlanmıştır.
4. 3000 rpm 10 dak. santrifüj edilir. Beyaz hücrelerden oluşan bir pelet görülmelidir. Üstteki sıvı dikkatlice çekilerek dökülür. 3. ve 4. Adımlar beyaz temiz bir pelet elde edilinceye kadar tekrarlanır.
5. 1 mL Liziz solüsyonu II, 100 µL %10 SDS ve 200 µL proteinaz K eklenerek iyice pipetlenir. Sıvı viskoz bir hal almalıdır. Gerekirse biraz daha Liziz Solüsyonu II eklenir.
6. 37 °C gece boyu veya 55 °C 4-5 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra viskozite control edildiğinde artık sıvının daha rahat akıyor olması gerekir böylece liziz aşamasının tamamlandığı anlaşılır. Aksi takdirde biraz daha proteinaz K eklenerek inkübasyona devam edilir.

7. Tüpteki sıvıya eşit miktarda (yaklaşık 1.5 mL) fenol eklenir. Karıştırılır ve 3000 rpmde 5 dakika santrifüj edilir.
8. Üstteki sıvı kısım başka bir tüpe aktarılır ve yine eşit miktarda fenol eklenir. 3000 rpm 5 dakika santrifüj edilir.
9. Üstteki sıvı kısım yeni bir tüpe aktarılır. Eşit miktarda kloroform:izoamilalkol (24:1) eklenir. 3000 rpm 5 dakika santrifüj edilir.
10. Üstteki sıvı kısım yeni tüpe aktarılır. 2 µL 4 M Amonyum asetat ve tüpteki sıvının 2 katı miktarda %100 etanol eklenerek hafifçe karıştırılarak DNA çöktürülür.
11. 3000 rpm 5 dak santrifüj edilir ve DNA peletini oluşması sağlanır.
12. Dikkatlice üstteki sıvı dökülür. Pelete zarar vermemeye dikkat edilir ve peletin üstüne 1 mL %70 etanol eklenir. 3000 rpm 5 dakika santrifüj edilir.
13. Etanol dikkatlice dökülür ve kalan kısmı çeker ocakta kurumaya bırakılır.
14. 100-200 µL TE tamponu eklenir ve peletin çözülmesi için 4 °C de 4-5 saat bırakılır.

EK13: Panelde Yeralan Genler ve SNPler ile ilgili bazı özet bilgiler

Sıra No	dbSNP kod	Allel	NCBI Gen	Krom.	AA ¹	Etki ²
1	rs43703010	A/G	<i>CSN1S1</i>	6	207	E/G
2	rs110981354	G/C	<i>CSN1S1</i>	6	155	Q/H
3	rs207498943	C/T	<i>CSN1S2</i>	6	-50	5' UTR
4	rs109261203	T/C	<i>CSN1S2</i>	6	*159	3' UTR
5	rs43703013	G/C	<i>CSN2</i>	6	137	S/R
6	rs43703011	G/T	<i>CSN2</i>	6	82	P/H
7	rs43703016	C/A	<i>CSN3</i>	6	169	A/D
8	rs43703017	A/G	<i>CSN3</i>	6	176	S/G
9	rs137581281	C/G	<i>LGB</i>	11	48	L/V
10	rs109625649	T/C	<i>LGB</i>	11	134	V/A
11	rs444355314	T/A	<i>LALBA</i>	5	80	C/S
12	rs209045823	G/A	<i>LALBA</i>	5	-13	5' UTR
13	rs209106815	T/A	<i>PRL</i>	23	*16	3' UTR
14	rs211032652	T/C	<i>PRL</i>	23	(396)	Syn
15	rs43158737	G/A	<i>PRLR</i>	20	96	W/Stop
16	rs109428015	C/T	<i>PRLR</i>	20	186	P/L
17	rs135164815	G/A	<i>PRLR</i>	20	18	S/N
18	rs457826018	G/A	<i>PRLH</i>	3	38	N/D
19	rs440624852	T/C	<i>PRLH</i>	3	8	L/P
20	rs136116329	A/C	<i>PRLHR</i>	26	72	V/G
21	rs137554581	C/T	<i>LTF</i>	22	439	H/Y
22	rs379782196	T/A	<i>LTF</i>	22	538	S/T
23	rs134083952	T/C	<i>DGATI</i>	14	370	F/L
24	rs109234250	G/A	<i>DGATI</i>	14	232	A/T
25	rs29004488	A/G	<i>LEP</i>	4	25	C/R
26	rs29004487	A/T	<i>LEP</i>	4	7	Y/F
27	rs109178802	A/C	<i>LEPR</i>	3	102	Y/Stop
28	rs133672995	C/T	<i>LEPR</i>	3	945	T/M
29	rs134687399	G/A	<i>GHI</i>	19	198	T/M
30	rs384417222	G/A	<i>GHI</i>	19	192	R/W
31	rs41923484	G/C	<i>GHI</i>	19	153	L/V
32	rs385640152	A/T	<i>GHR</i>	20	279	F/Y
33	rs209676814	C/T	<i>GHR</i>	20	536	A/T
34	rs134261880	A/T	<i>GHRHR</i>	4	325	W/R
35	rs133774330	C/T	<i>GHRHR</i>	4	-36	5' UTR
36	rs134527338	A/G	<i>IGF1</i>	5	-26	5' UTR
37	rs134699109	A/C	<i>IGF1R</i>	21	285	T/P
38	rs41640706	G/A	<i>IGF1R</i>	21	(1872)	Syn
39	rs110116537	A/G	<i>GNRHI</i>	8	*142	3' UTR
40	rs379846774	T/A	<i>GNRHR</i>	6	13	H/L
41	rs41654417	T/C	<i>GNRHR</i>	6	(207)	Syn
42	rs210206517	G/A	<i>FSHB</i>	15	108	D/N
43	rs209882669	G/C	<i>FSHR</i>	11	658	T/S

44	rs134716865	T/G	<i>LHB</i>	18		Splice R
45	rs41256848	C/A	<i>LHCGR</i>	11	467	W/C
46	rs385085505	G/A	<i>LHCGR</i>	11	221	R/W
47	rs134410731	A/C	<i>ESR1</i>	9	548	H/P
48	rs137800872	T/C	<i>ESR1</i>	9	73	Y/H
49	rs435395847	T/G	<i>ESR2</i>	10	32	L/F
50	rs450941529	T/G	<i>ESRRA</i>	29	421	M/R
51	rs135747177	G/C	<i>ESRRB</i>	10	74	A/P
52	rs135080645	T/G	<i>ESRRG</i>	16	46	N/T
53	rs133668769	T/C	<i>PGR</i>	15	62	L/P
54	rs434893320	C/A	<i>PGR</i>	15	243	Q/P
55	rs132742501	A/G	<i>PTGFR</i>	3	2	S/P
56	rs135545931	T/C	<i>PTGFR</i>	3	7	I/T
57	rs136616281	A/C	<i>PTGFRN</i>	3	397	S/A
58	rs43331778	T/C	<i>PTGFRN</i>	3	561	K/E

1. “Sayı”: Amino asit lokasyonu/ -“Sayı”: 5’UTR başlangıç kodonunun ilk bazından kaç baz önce/ **“Sayı”:
3’UTR, stop kodonunun son bazından kaç baz sonra/ (“Sayı”): Synonymous
2. SNP sebebiyle meydana gelen amino asit değişimi (EK 2.de üçlü ve tekli aminoasit kodlamaları verilmiştir.)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Vedat Karakaş
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 04.05.1974
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce (YDS Kasım 2014, 95)

Eğitim Durumu

Lise: Ankara Laborant Meslek Lisesi, 1991

Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü, 1998

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik AD, 2006

İş Tecrübesi

Kurumu:	Görevi:	Yılları:
Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü	Laborant	1991-1993
Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi	Laborant	1993-2000
Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi	Araştırmacı	2000-2014
Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi	Bölüm Başkanı	2014-

Yayınlar

SCI'da Yer Alan Makaleler:

- 1 Öner Y, Keskin A, Üstüner H, Soysal D, **Karakaş V**. Genetic diversity of the 3' and 5' untranslated regions of the HSP70.1 gene between native Turkish and Holstein Friesian cattle breeds. South African Journal of Animal Science. 2017;47(4):424-439

Hakemli Dergilerde Yer Alan Makaleler:

- 2 Ünay E, Yaman S, Kinet H, Tuncer BP, Büyükleblebici S, **Karakaş V**. Rasyon çinko miktarının boğalarda sperma miktar ve kalitesine etkisi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi (LHAE) ISSN 1016-877X. 2014;54(1):1-7.
- 3 Ünay E, Yaman S, **Karakaş V**. Ruminantlarda selülozun sindirimi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi(LHAE) ISSN 1016-877X. 2008;48 (2): 93-99.

Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler:

- 4 Yaman S, **Karakaş V**, Bilgen A, Erol H. Use of Urea Molasses Feed Blocks as Supplementary Feed in Sheep Feeding”, 5th International Symposium of Animal Nutrition and Biology, Bucharest, Romania. 2006.
- 5 Yaman S, Yıldırım M, Aşkar Ş, **Karakaş V**, Bilgen A, Avcı M, Ayaşan T. Effect of Storage Method and Forage Dry Matter on Fermentation Characteristics, Aerobic Stability of Alfalfa Ensiled in Round Bales, 9th International Symposium of Animal Biology and Nutrition, September 23th-24th, 2010, Bucharest, Romania
- 6 Yaman S, Ünay E, Özkul H, Kılıç A, **Karakaş V**, Yıldırım M, Aşkar Ş, Bilgen A, Yavrutürk Y, Boran O, Uygur M. Effect of Forage Dry Matter Content and Bale Size on Chemical Properties, Fermentation Characteristics, Aerobic Stability, Metabolisable Energy and Organic Matter Digestibility of Vetch-Barley Ensiled in Round Bales. 11th International Symposium of Animal Biology and Nutrition. November 15, 2012 - Bucharest, Romania
- 7 Yaman S, Ünay E, **Karakaş V**, Yıldırım M, Aşkar Ş, Bilgen A, Avcı M, Ayaşan T. Effect of Forage Dry Matter Content and Bale Size on Fermentation Characteristics and Aerobic Stability of Alfalfa Ensiled in Round Bales. XV. International Feed Technology Symposium Feed to Food. 3-5 October 2012, 21000 Novi Sad, SERBIA. ISBN 978-86-7994-032-2
- 8 Yaman S, Ünay E, **Karakaş V**. Selenium status of wool of Akkaraman sheep in grazing season related to pasture selenium content in some districts of Ankara Province. 7th Balkan Conference on Animal Science. Balnimalcon 2015. Sarajevo, June 3–6, 2015.

Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler:

- 9 Yaman S, Ünay E, Özkul H, Kılıç A, **Karakaş V**, Yıldırım M, Aşkar Ş, Bilgen A, Avcı M, Ayaşan T. Soldurma Oranı ve Balya Büyüklüğünün Fiğ-Buğday Rulo Balya Silajlarının Ham Besin Madde, Fermantasyon Özellikleri, Aerobik Stabilité, Metabolize Olabilir Enerji ve Organik Madde Sindirilebilirliklerine Etkisi. V. Fhabesas Hayvan Besleme ve Sağlığı Sempozyumu. 8-11 Kasım, 2012. Side, Antalya
- 10 Ünay E, Yaman S, Kinet H, Tuncer PB, Büyükleblebici S, **Karakaş V**. Boğalarda rasyona ilave edilen cinkonun sperma motilitesi üzerine etkisi. V. Fhabesas Hayvan Besleme ve Sağlığı Sempozyumu. 8-11 Kasım, 2012. Side, Antalya.

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR