T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ

KOORDİNASYON BİRİMİ

TÜRKİYE YERLİ KOYUN IRKLARINDAN AKKARAMAN IRKINDA CANLI AĞIRLIK ARTIŞI ÜZERİNE ETKİLİ ÜÇ ADAY GEN YÖNÜNDEN GENETİK KARAKTERİZASYONLARI VE GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Proje No: TSA-2016-6541

Proje Türü

Çok Disiplinli Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Davut BAYRAM

Veteriner Fakültesi/Zootekni ABD

Araştırmacıların Adı Soyadı

Bilal AKYÜZ-Veteriner Fakültesi/Genetik ABD

Mehmet Ulaş ÇINAR-Ziraat Fakültesi/Zootekni Bölümü

Korhan ARSLAN-Veteriner Fakültesi/ Genetik ABD

Esma Gamze İLGAR-Veteriner Fakültesi/ Genetik ABD

Fadime ÖZDEMİR- Veteriner Fakültesi/ Genetik ABD

Şubat 2018

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Araştırma projesi olarak yürütülen bu çalışmada araştırma konusunun belirlenmesinde ve konunun planlanıp yürütülmesinde emek veren çok değerli proje ekibine,

Araştırmanın saha aşamasında kuzulardan canlı ağırlık kayıtlarının alınmasında katkı sağlayan Veteriner Hekim Kazım DEMİRAL ve Veteriner Sağlık Teknisyeni Osman ÇELİK'e,

Araştırmayı TSA-2016-6541 nolu proje olarak kabul ederek 49987,14 TL'lik maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve birim çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Yrd. Doç. Dr. Davut BAYRAM

Şubat 2018

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	**6**
ABSTRACT	**7**
1. GİRİŞ	**8**
2. MATERYAL ve YÖNTEM	**15**
2.1. Hayvan Materyali	15
2.2. Kalpastatin (CAST) gen polimorfizimlerinin belirlenmesi	16
2.3. Diacylglycerol Acyltransferase1 (DGAT1) gen polimorfizimlerinin belirlenmesi	16
2.4. İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) gen polimorfizimlerinin belirlenmesi	17
2.5. İstatisitik Analizler	17
3. BULGULAR	**19**
3.1. Genotip ve Allel Frekansları	19
3.1.1. CAST-MspI polimorfizmi	19
3.1.2. DGAT1-AluI polimorfizmi	20
3.1.3. IGF-1-Bsp143II polimorfizmi	20
3.2. Genotip fenotip ilişkisi	22
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	**22**
5. KAYNAKLAR	**27**

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye yerli koyun ırklarından Akkaraman ırkı kuzularda *CAST-Msp*I, *DGAT1-Alu*I ve *IGF-1-Bsp143*II polimorfizmleri ile bu polimorfizmler ve bazı büyüme özellikleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada toplam 374 kuzu *CAST-Msp*I, *DGAT1-Alu*I ve *IGF-1-Bsp143*II polimorfizmleri yönünden polimeraz zincir reaksiyon-restriksiyon parçalık uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile genotiplenmiştir. Çalışma sonunda incelenen örneklerde *CAST-Msp*I polimorfizmi yönünden üç genotip, *DGAT1-Alu*I polimorfizmi yönünden iki genotip ve *IGF-1-Bsp143*II polimorfizmi yönünden ise tek genotip belirlenmiştir. İncelenen örneklerde *CAST-Msp*I polimorfizmi yönünden MM genotipinin, *DGAT1-Alu*I polimorfizmi yönünden CC genotipinin en yaygın genotipler olduğu ve *IGF-1-Bsp143*II polimorfizminde ise BB genotipin tek genotip olduğu belirlenmiştir. Yapılan Ki-kare analiz sonunda incelenen Akkaraman ırkı kuzularına *CAST-Msp*I ve *DGAT1-Alu*I polimorfizmleri yönünden Hardy-Weinberg dengesinde oldukları görülmüştür. İncelenen polimorfizmleriden *DGAT1-Alu*I polimorfizmi ile kuzu doğum ağırlığı arasında istatistiksel olarak önemli seviyede ilişki olduğu, TC genotipli kuzuların diğer genotiplilere göre daha yüksek doğum ağırlığına sahip oldukları görülmüştür ($p<0.05$). Çalışma sonunda *DGAT1-Alu*I-TC genotipinin doğum ağırlığı üzerine pozitif bir etkisi olduğu, koyunlarda farklı dönemlerdeki canlı ağırlık artışı ile *DGAT1-Alu*I polimorfizmi arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Akkaraman koyunu, Belirteç gen, *DGAT1*, Doğum ağırlığı, Genotip frekansı.

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the *CAST-Msp*I, *DGAT1-Alu*I and *IGF-1-Bsp143*II polymorphisms, in Akkaraman lambs and provide a foundation for studying the relationship of these polymorphisms with some live weights and the genetic relationship between Akkaraman sheep breed. A total of 374 lambs were genotyped for *CAST-Msp*I, *DGAT1-Alu*I and *IGF-1-Bsp143*II polymorphisms by the polymerase chain reaction and restriction length polymorphism (PCR-RFLP). The results of PCR-RFLP analysis showed that the SNPs had three genotypes of *CAST-Msp*I polymorphism, two genotypes of *DGAT1-Alu*I polymorphism and one genotype of *IGF-I-Bsp143*II polymorphism in which *CAST-Msp*I-MM, *DGAT1-Alu*I-CC and *IGF-I-Bsp143*II-BB were the predominant genotypes in Akkaraman sheep breed. The result of Chi-square analysis indicated that Akkaraman sheep breed was in Hardy-Weinberg equilibrium. At the *DGAT1* locus, the TC genotype showed the significantly heavier birth weight ($P<0.05$). The results of this study demonstrate in which the TC genotype had a positive effect on birth weight in Akkaraman sheep. We concluded that further investigations are needed in *DGAT1-Alu*I polymorphism and live weight at different ages in sheep.

Key words: Akkaraman sheep, Birth weight, *DGAT1*, Genotype frequency, Marker gene.

1. GİRİŞ

Bu çalışmada, Türkiye yerli koyun ırkları içerisinde en büyük popülasyona sahip olan Akkaraman ırkında Calpastatin (*CAST*), Diacylglycerol Acyltransferase1 (*DGAT1*) ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 (*IGF1*) genlerinde bulunan üç tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ile kuzu doğum ağırlığı ve kuzuların süt kesimine kadarki (yaklaşık 90. gün) canlı ağırlık artışları arasındaki ilişkinin araştırılması hedeflenmiştir.

Günümüz hayvancılık işletmelerinde yüksek verimli ırkların tercih edilmesi nedeniyle Avrupa orijinli kültür ırklarının kullanımında özellikle 90'lı yıllardan sonra tüm dünyada hızlı bir artış görülmüştür. Bu durum ise Türkiye gibi yerli ırklar bakımından zengin ülkelerde, yerli ırkların toplam popülasyonda oranlarının azalmasıyla sonuçlanmıştır. Yerli ırklarda azalmanın önlenesi için bir tür içerisindeki genetik çeşitliliğin en önemli kaynağı olan yerli ırkların verimlerinin nitelik ve nicelik bakımından üstün taraflarının belirlenerek, bu ırklar içerisinde yüksek ve kaliteli ürün veren damızlıkların seçilip yetiştiricilikte kullanılması gereklidir. Bu sayede adaptasyon problemi olmayan, yaşadıkları bölgedeki hastalıklara kültür ırklarına göre daha dirençli olan, otlama ve sürü kabiliyeti yüksek yerli ırkların muhtemel potansiyelleri ortaya çıkarılabilecektir.

Bu porjenin hayvan materyalini oluşturan Akkaraman koyun ırkı, Türkiye koyun varlığının yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Akkaraman koyun ırkında öncelikli kazanç kaynağı erkek kuzu satışlarıdır. Akkaraman koyun ırkı Türkiye koyun varlığının %44' ünü oluşturmaktadır. Dolayısıyla Türkiye koyun eti ihtiyacının büyük bir kısmı Akkaraman ırkından sağlanmaktadır. Bu nedenle Akkaraman ırkı ülkemizdeki son yıllarda görülen kırmızı et açığının kapatılmasında, düşük kalitedeki meraların değerlendirilmesinde ve yüksek sürü kapasitesi ile önemli bir potansiyele sahip bir ırktır. Bu nedenle Türkiye koyun eti üretimini arttırmak için özellikle Akkaraman ırkının gelişim özelliklerinin iyileştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Koyun yetiştiricilerinin elde ettiği gelirin arttırılması için kuzu gelişim özelliklerinin (doğum ağırlığı ve günlük canlı ağırlık artışı) ıslah programları kapsamında değerlendirilmesi gerekmektedir. Damızlık seçiminde yetiştiriciler tarafından uygulanan oldukça değişik yöntemler vardır. Bu yöntemler daha ziyade tecrübe ve geleneklere dayalı olarak uygulanmakta seleksiyon limitini aşmada yetersiz kalmaktadır. Yine bu damızlık seçimlerinde sonuçların değerlendirilmesi zaman almakta, genetik ilerleme hızı yetersiz kalmaktadır. Bu çalışma ile günümüzde yüksek verim özelliklerini belirleyen genlerin erken dönemde saptanmasını, sonuç olarak damızlık seçiminin daha erken çağda ve yüksek isabet derecesi ile

yapılabilirliğini ortaya koymayı ve aday genlerin hangisinin/hangilerinin bu amaca uygun olduğunun bulunması hedeflenmiştir.

Akkaraman koyun ırkında ortalama kuzu verimi 1,2'dir. Yüksek kuzulama oranının sağlanması besiye alınacak erkek kuzu sayısında artış sağlamaktadır. Kesim zamanında sürünün yetiştiriciler tarafından yüksek ve bir örnek canlı ağırlığa sahip kuzulardan oluşmuş olması istenir. Erkek kuzuların bitki vejetasyon dönemi sona ermeden yayla hayvancılığı ile semirtilerek kesim ağırlığına getirilmesi mevcut işletmelerin karlılığının devamı ve yeni işletmelerin özendirilmesi için gereklidir. Çiftlik hayvanlarında doğum ağırlığı arttıkça yaşama gücü de artmaktadır. Yine aynı şekilde iyi beslenen ve yemi daha iyi değerlendiren ikiz kuzular ilerleyen dönemlerde tek doğan kuzuları kompenzatif büyüme ile yakalamakta ve hatta geçmektedir. Koyunların erken yaşta kesim ağırlığına ulaşmaları koyun yetiştiriciliğinde karlılığın önemli ölçütlerinden biridir.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından önümüzdeki 50 yıl içinde global olarak gıda talebinin iki kat artacağı tahmin edilmektedir (Eggen, 2012). Buna paralel olarak 2030 yılında tüm dünya da et ihtiyacının, 2000 yılındaki ihtiyaçtan %68 daha fazla olacağı öngörülmüştür (Steinfeld ve Gerber, 2010). Bu nedenle süt, et ve döl verimi, hastalıklara direnç ve yemden yararlanma gibi özellikler yönünden eldeki ırkın veya popülasyonun iyileştirilmesinde, bu özelliklerle ilişkili genlerin belirlenmesi ve istenen allelleri taşıyan hayvanların seçilmesinin avantajlı olabileceği düşünülmektedir (Goddard ve Hayes, 2009). Jenerasyon aralığı uzun olan çiftlik hayvanları türlerinde damızlık adaylarının mümkün olduğu kadar erken ve yüksek bir doğrulukta belirlenebilmesi hayvan ıslahı açısından önemlidir. Dünya'da ve Türkiye'de koyunlarda büyüme ve et verimi üzerine etkili oldukları düşünülen genler ve bu genler yönünden bireylerin genotipleri ile fenotip arasındaki ilişkileri araştırıldığı çalışmalar diğer çiftlik hayvanlarına göre oldukça sınırlıdır.

FAO verilerine göre toplam 31 507 934 koyun varlığı ile Türkiye toplam koyun varlığı açısından Dünya'da 7. sırada bulunmaktadır (FAO, 2016). Türkiye'nin mevcut koyun varlığının yaklaşık %45'ini ülkenin iç kesiminde yetiştirilen yağlı kuyruklu bir ırk olan Akkaraman ırkı oluşturmaktadır (Aktaş vd., 2014). Yaşadığı düşük kaliteli mera ve karasal iklim şartlarına oldukça iyi uyum sağlamış olan Akkaraman ırkı Türkiye koyun eti ihtiyacının büyük kısmını karşılanmaktadır (Aktaş vd., 2014). Yapılan çalışmalarda Akkaraman ırkı koyunlarda kuzu doğum ağırlığının 3.80 kg (Yildiz ve Denk, 2006) ile 4.90 kg (Yilmaz vd., 2007) arasında değiştiği bildirilmiştir. Çalışmalar göstermektedir ki doğum ağırlığı yönünden

Akkaraman ırkı önemli varyasyon göstermektedir. Dolayısıyla bu ırkta kuzu doğum ağırlığı ve büyüme özelliklerinin iyileştirilmesi yönünde yapılacak çalışmalar önemlidir.

Koyunlarda yapılan kantitatif genetik çalışmaları kuzu doğum ağırlığı üzerine etkili bazı genetik faktörlerinde bulunduğunu göstermiştir. Farklı koyun ırklarında kuzu doğum ağırlığının kalıtım derecesi 0.15 ile 0.24 arasında olduğu bildirilmiştir (Safari vd., 2005). Bu nedenle genomik seleksiyon uygulamalarının kuzu doğum ağırlığının iyileştirilmesinde başarılı olabileceği düşünülmektedir (Esmailizadeh, 2010). Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde küçük etkili olmalarına rağmen bireyin genetik değerinin doğru olarak tahmin edilmesine yardımcı olarak, büyüme gibi poligenik özelliklerin iyileştirilmesi çalışmalarında kullanılabilecek bazı aday genlerin bulunduğu bildirilmiştir (Dekkers, 2004; Ranjbari vd., 2012).

Diacylglycerol acyltransferase1 (DGAT1), adipositlerde trigliseridlerin sentezlenmeside rolü olan bir enzimdir (Mayorek vd., 1989). DGAT1 enzimi, yüksek yapılı ökaryotlarda, yağların bağırsaklarda emilimi, lipoprotein yapıların üretimi, adipoz doku yapımı ve laktasyon döneminde bulunan sığırlarda triaçilgliserol metabolizmasında görev alan bir enzimdir (Pareek vd., 2005). Farelerde DGAT1 enzimini kodlayan genin süt verimi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *DGAT1* geninin her iki kopyasının da susturulduğu dişi farelerde laktasyonun şekillenmediği görülmüş ve bunun meme bezinde yetersiz trigliserid sentezlenmesinden veya trigliserid sentez reaksiyonunun bozulmasından kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir. Araştırma sonunda memelilerde *DGAT1* geninin süt verimi ve süt kompozisyon özellikleri için fonksiyonel bir genetik markır olabileceği bildirilmiştir (Winter vd., 2002). *DGAT1* geni en çok adipoz doku hücreleri ve ince bağırsaklar olmak üzere bir çok dokuda ekprese olmaktadır (Buhman vd., 2002). Koyun karyotipinin 9. kromozomunda bulunan DGAT1 geninin sütteki yağ içeriği için bir aday gen olduğu bildirilmiştir (Barillet vd., 2005). Benzer şekilde *DGAT1* geninin sığırlarda süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir (Ripoli vd., 2006; Näslund vd., 2008; Oikonomou vd., 2008). Yapılan çalışmalarda DGAT1 geni ile karkastaki yağ birikimi arasında ilişkili olduğu bildirilmiştir (Xu vd., 2009; Mohammadi vd., 2013). Etçi sığır ırklarında DGAT1 geninin subkutan ve intramusküler kas birikim ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Anton vd., 2011; Curi vd., 2011; Gill vd., 2009). Ancak koyunlarda DGAT1 geninde bulunan SNP'ler ile et verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar azdır. Bu çalışmaların birinde, İran'da yetiştirilen yerli Moghani ırkı koyunlarda DGAT1 geninin 17. ekzonunda bulunan polimorfizm ile karkas ağırlığı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Noshahr ve Rafat, 2014).

μ-kalpain, m-kalpain ve kalpastatin olarak adlandırılan üç üyeden oluşan kalpain-kalpastatin sistemi birçok dokuda bulunan ve iskelet kasının büyüme ve gelişmesinin de dahil olduğu birçok önemli süreçte rol oynamaktadır (Gabor vd., 2009; Nanekarani vd., 2011; Dehnavi vd., 2012). Kalpastatin aktivitesi ile kas büyüme oranı arasında yüksek korrelasyon vardır. İskelet kaslarındaki büyüme, kalpastatin aktivitesindeki artış sonucu protein yıkımlanmasındaki azalmadan kaynaklanmaktadır. Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde canlı ağırlık artışı ve et kalitesinin iyileştirilmesi çalışmalarında calpastatin (*CAST*) geninin özellikle ilgilenilmesi gerektiği bildirilmiştir (Amanda vd., 2004; Nikmard vd., 2012). Sığır ve domuzlarda *CAST* geninin et kalitesinin iyileştirilmesi çalışmalarında da markır olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Casas vd., 2006; Koćwin- Podsiadła vd., 2003; Schenkel vd., 2006). Bu nedenle *CAST* geninin çiftlik hayvanlarında kas büyümesi ve et kalitesinin iyileştirilmesi çalışmaları için önemli bir aday gen olduğu düşünülmektedir (Khederzadeh, 2011). Koyun otozomal beşinci kromozomu üzerinde bulunan *CAST* geninin, farklı koyun ırklarında büyüme ve canlı ağırlık artışı ile ilişki olduğu bildirilmiştir (Khan vd., 2012; Sunilkumar vd., 2014).

Hayvanlarda büyüme somatotorapoik yolağın çok önemli rol oynadığı compleks bir sistem tarafından kontrol edilir (Deng vd., 2010). Postnatal büyüme sürecinden asıl olarak bu yolakta bulunan kas ve kemik büyümesini düzenleyen insülin benzeri büyüme faktörü I'de (insulin-like growth factor I, IGF-1) dahil olduğu büyüme hormonları sorumludur (Sellier, 2000).

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) süper ailesinin bir üyesi olan IGF-I proteini üreme, embriyogenezis ve canlıların büyümesinde görev alan çok önemli bir büyüme faktörüdür (Siadkowska vd., 2006; He vd., 2012; Hajihosseinlo vd., 2013). Sığırlarda 5. kromozomda (Miller vd., 1991) bulunan *IGF-I* geni koyunda ise 3. kromozom üzerinde bulunmaktadır (Anonim 1, 2018). *IGF-I* geninin kodladığı protein 70 amino asitten oluşup 7.5 kDa ağırlığındadır (Daughaday ve Rotwein, 1989). Ayrıca insan, sığır, köpek ve domuzda IGF-I proteininin amino asit sırası aynıdır (Nixon vd., 1999). Doksanlı yıllarda sığırlada yapılan bir çalışmada kan IGF-I seviyesi ile hızlı büyüme arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Barash vd., 1998; Sirotkin vd., 2000). Daha sonra yine sığırlada *IGF-I* geninde belirlenen mutasyonlar ile sütteki yap ve protein oranları arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Ge vd., 2001; Eulalia vd., 2006). Daha sonra sığırlarda (Siadkowska vd., 2006), domuzda (Casas vd., 1997) ve keçide (Zhang vd., 2008) *IGF-I* geni ile canlı ağırlık artışı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Ancak koyunlarda *IGF-I* geni ile canlı ağırlık artışı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışma sayısı nispeten azdır. Bu çalışmaların birinde Hajihosseinlo vd. (2013), Makui ırkı koyunlarda *IGF-I* geninin büyüme ve et verim özellikleri için aday gen olduğu bildirmiştir.

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliği 90'lı yıllardan sonra bir kaç tür ve bir kaç ırk üzerinde yoğunlaşmıştır. Gerek verimi ve gerekse ürün kalitesi düşük olan yerli ırklar, verimlerini nitelik ve niceliğini artırmak amacıyla uygulanan melezleme çalışmaları sonucunda, sahip oldukları genetik zenginlikleri ile birlikte ortadan kalkmaktadır. Bunun yerine mevcut ırklarımızın verimlerini etkileyen gen kombinasyonlarının ortaya çıkarılması amacıyla yapılacak çalışmalarla yerli gen kaynaklarında etkili bir ıslah mekanizması oluşturulabilecektir. Gelecekte mevcut tür ve ırklarda hangi verim özelliklerin daha çok önem kazanacağı veya kaybedeceği bilinemeyeceği için yerli koyun ırklarının verim özelliklerinin iyileştirilerek melezleme veya tamamen yetiştirme dışına çıkarılmasının önlenmesi gereklidir. Son yıllarda Türkiye'de görülen kırmızı et açığının ortadan kaldırılması için koyunlarda yüksek döl verimi ve kesim zamanında yüksek canlı ağırlığa sahip kuzuların yetiştirilmesi yetiştiriciler için ekonomik anlamda çok önemlidir. Ayrıca etçi ve Prolifik kültür ırklarının neredeyse tamamı ince kuyruklu olup bu ırkların yerli ırklarla melezlenmesinde suni tohumlamaya gerek duyulmakta, ince kuyruklu koçlar yağlı kuyruklu ırklara aşım yapamamaktadır. İnce kuyruklu yerli ırklarda ise sürü büyüklüğü 30-40 baş ile sınırlı kalmakta ve bu da çoban maliyetini artırmakta, karlılığı düşürmektedir. Akkaraman ırkında 400 başa kadar bir çoban yeterli olmaktadır (Akçapınar, 2000).Türkiye'de bakımı ve beslemesi kolay olduğu için yetiştiriciliği diğer çiftlik hayvanlarına göre daha ekonomik olan yerli koyun ırklarından daha çok verim elde etmek için projeler üretilmesi bir ihtiyaçtır. Bu nedenle mevcut Türkiye koyun varlığı içerisinde en büyük popülasyona ve sürü kabiliyetine sahip Akkaraman koyun ırkının genetik potansiyelinin belirlenmesi ve verimlerinin arttırılması için yapılacak projeler anlamlı olacaktır.

Genetik markır genler yoluyla genotipleme, damızlıkta kullanılacak bireylerin doğru genotipte ve daha erken yaşlarda seçilmesine olanak sağlayarak hem ekonomik anlamda hem de hızlı genetik ilerleme anlamında iyileşme sağlayabilecektir. Bunun örneklerini çok sayıda olmamak kaydıyla çiftlik hayvanlarında görebiliriz. Koyunlarda Borolla geni ile çoklu doğum oranı arasında ilişki olduğu ve çoklu doğum amacıyla yapılacak seleksiyon çalışmalarında bu genin kullanılabileceği bildirilmiştir. Benzer şekilde myostatin (MSTN) geninin 3'UTR bölgesinde oluşan bir bazlık değişimin Texel koyunlarında kas gelişimine etkisi olduğu saptanmıştır (Clop vd., 2006). Aynı şekilde sığırlarda acylCoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) geninin süt miktarı ve kompozisyonuna önemli derecede etki ettiği bulunmuştur (Grisart vd., 2002, Winter vd.,2002).. Benzer şekilde farklı çiftlik hayvan türlerinde farklı verim özelliklerinden sorumlu yaklaşık 30 kadar belirteç gen bildirilmiştir. Bu sayı

koyunlarda sadece dört olarak verilmiştir. Dolayısıyla bu sayının arttırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmanın konusu ülkemizin en önemli koyun eti kaynağı olan Akkaraman ırkında gelişim özellikleri ile ilgili gen kombinasyonlarının ortaya çıkarılmasıdır. Elde edilecek sonuçlar sadece Akkaraman koyun ırkında değil ülkemizde ve Dünya'da bulunan diğer koyun ırklarında da kullanılabilecektir.

Koyunculuk, çayır ve otlakları geniş, kurak iklim şartlarına sahip bölgeleri değerlendirmek amacıyla yapılabilecek önemli hayvancılık faaliyetidir (Akçapınar, 2000). Akkaraman koyun ırkı Orta Anadolu'da hayvancılık faaliyetlerinin önemli bir bölümünü teşkil etmektedir. Bu da halk tarafından eskiden beri uygulanan ve ekstansif olarak yetiştirilen, dolayısıyla ırkın döl verimi, yapağı ve et kalitesi gibi önemli verim özellikleri geliştirilmemiş olan bu ırkın ıslahının önemini artırmaktadır (Akçapınar, 2000). Akkaraman koyun ırkı Türkiye toplam koyun varlığının % 44'ünü oluşturur ve Türkiye kuzu eti ihtiyacının önemli kısmını bu ırk karşılamaktadır (Akçapınar, 2000). Bu ırkın yetiştirildiği bölgelerin komşu olduğu veya çakıştığı yerlerde Çandır, Kesber ve Amasya Heriği gibi geçit melez ırklar oluşmuştur. Ayrıca araştırma kurumları ve kamu kuruluşlarının iştiraki ile Konya Merinosu ve Malya Koyun ırkının geliştirilmesinde ana hattı olarak ta kullanılmıştır (FAO, 2013). Akkaraman ırkı koyunlar yukarıda özetlenen koşullara adapte olma sürecini tamamlamış bir ırktır. Bu ırk geçmişte bölge üreticisinin ihtiyaçlarını karşılayabilmiştir. Ancak Akkaraman koyunu, mevcut verim seviyesi ve kısıtlı konvansiyonel ıslah metotları ile birçok yöre için artık yeterli olmamaya başlamıştır. Bu nedenlerden dolayı bölgenin hâkim ırkı olan Akkaraman koyununa dayalı ıslah çalışmalarına gerek duyulmaktadır. Dünya koyunculuğundaki örnekler ve Türkiye'de meydana gelen değişimlerin yönü dikkate alındığında, artırılması gereken verimler içerisinde döl ve et veriminin öncelik aldığı söylenebilir. Bu da, bilindiği üzere, hem birim zamanda koyun basına kuzu sayısını artırmak, hem de kuzularda büyüme ve gelişme hızını yükseltmekle sağlanabilir. Son yıllarda tüketici tercihlerinin ince kuyruklu koyun etine yönelmesi, daha profesyonel anlamda kuzu besisi yapmak isteyen üreticileri Akkaraman koyun ırkını ince kuyruklu koyun ırklarıyla melezlemeye yöneltmiştir. Bu durumda, Orta Anadolu'nun zor şartlarına uyum sağlamış olan en önemli yerli koyun ırkı olan Akkaraman koyunlarının saf örneklerinin sayısının hızla azalmasına neden olmaktadır.

Son yapılan çalışmalarda, 20-30 yıl öncesinin bildirişlerinden farklı olarak, Akkaraman kuzuların entansif besi kabiliyetlerinin tatminkâr seviyede olduğu ve kuzuların Günlük Canlı Ağırlık Artışının (GCAA) ortalama 305 g olduğu bildirilmiştir. Bu veriler ise Akkaraman

koyunlarının genetik kapasitesinin çok yüksek seviyelerde olduğunu ve bilinçli ıslah çalışmaları ile daha ileri seviyelere çıkarılabileceğini göstermektedir (Aktaş vd., 2011). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının Halk Elinde Islahı Projesi kapsamında 2006-2010 yılları arasında Akkaraman koyunlarında döl verim özellikleri, canlı ağırlık (CA) değerleri, kuzuların büyüme ve yaşama gücü özellikleri ile koyunların bazı yapağı özellikleri incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda koyunların doğum oranının % 86.4-90.4, ikizlik oranının % 18.2-19.3 ve kuzu veriminin ise 1.03-1.08 arasında olduğu belirtilmiştir. Koyunların cidago yüksekliği 66.8 cm, vücut uzunluğu 73.8 cm ve göğüs çevresi ise 101 cm olarak bulunmuştur. İncelenen 23 062 baş koyunun ortalama CA'ğı 57.81 kg, 19 207 baş kuzunun doğum ağırlığı 4.05 kg, sütten kesim ağırlığı 19.50 kg ve 120. gün CA ise 31.76 kg olarak bulunmuştur. Yıllara göre kuzuların sütten kesime kadarki yaşama güçleri % 88.3-94.5 arasında, doğum ve 120. gündeki CA'larına ait kalıtım dereceleri sırasıyla 0.11 ve 0.29 olarak tespit edilmiştir. Araştırıcılar, hızlı büyüme ve CAA yönünden kuzuların genetik kapasitesinin kaynaklarda bildirilenlerden daha yüksek seviyede ve geniş bir variyasyon aralığında olduğunu, bu nedenle Akkaraman koyun ırkı üzerinde uygulanacak planlı, bilinçli ve uzun süreli ıslah çalışmaları ile kuzularda büyüme ve et verim özelliklerinin daha ileri seviyelere yükseltilebileceği bildirilmiştir (Aktaş vd., 2011).

Hayvan ıslahında, önemli verim özellikleri açısından damızlık adaylarının genetik kapasitelerinin doğru olarak belirlenmesi için farklı seleksiyon yöntemleri uygulanmaktadır (Dybus, 2005). Damızlık adaylarının gelecekteki verimlerini doğru tahmin edilebilme sorunu, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğindeki en önemli ve en karmaşık konulardan birisidir. Tüm seleksiyon yöntemlerinde asıl amaç, sonraki jenerasyonların ebeveyni olarak seçilmek istenen bir hayvanın genetik değerini daha yüksek doğrulukta tahmin edecek uygun bir yöntemin seçilmesidir (Dybus, 2004). Bu nedenle jenerasyon aralığı uzun olan koyun, keçi, sığır ve at gibi çiftlik hayvanları türlerinde damızlık adaylarının daha kısa sürede ve daha yüksek doğrulukta belirlenebilmesine olanak verebilecek etkili yöntemler araştırılmaktadır. Bu soruna son 20-30 yıldır geliştirilen ve artık hayvan yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmaya başlanan moleküler genetik yöntemlerin çözüm olabileceği düşünülmektedir (Dybus, 2005). Seleksiyonla sağlanacak genetik ilerlemenin daha fazla olmasına olanak tanıyan Belirteç Destekli Seleksiyon (MAS = Marker Assisted Selection)'nun uygulanabilmesi için her bir belirtecin populasyonlardaki frekansının bilinmesi gerekmektedir (Öner, 2006). Klasik seleksiyon yöntemleri ve farklı moleküler genetik yöntemlerin kullanıldığı MAS metodunun birlikte kullanılması yoluyla damadıızlık değer daha doğru tahmin edilebilecek ve yüksek

verimli damızlıklar daha erken dönemlerde ve cinsiyete bağlı kalmaksızın belirlenebilecektir (Dybus, 2004). Genetik belirteç olarak seçilen genler, fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar ile etkiledikleri verim özellikleri arasında bir ilişkinin olup olmamasına göre seçilirler (Jaan, 2004). Son yıllarda allelik yapıları ve verim ilişkileri nedeniyle çiftlik hayvanlarında verim ile ilgili genetik belirteç olarak kullanılma potansiyeli olan bazı genler belirlenmiştir (Khatami, 2005). Hayvan yetiştiriciliğinde, moleküler belirteçler ve bu genlerdeki polimorfizmler ile farklı verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalarda önem kazanmaya başlamıştır (Khatami, 2005). Türkiye ve Dünya'da yavru verimi ile ilgili genlerin tespiti üzerinde yapılan çalışmaların oldukça sınırlı sayıda oluşu da göz önünde bulundurulacak olursa yapılması planlanan çalışma gelişim özellikleri ile ilişkili genler için önemli bir bilgi kaynağı niteliğinde olacaktır. Eğer genotipler biliniyorsa jenerasyonlar boyunca beklemeye gerek kalmaksızın seleksiyon programları uygulanabilecektir. Bu nedenle bu genlere ilişkin genotip tayinleri büyük bir önem arz etmektedir.

Büyüme, zigotun oluşumundan itibaren başlayıp canlının ergin canlı ağırlığına ulaşana kadar gösterdiği ağırlık artışıdır (Akçapınar, 2000). Büyüme doğum öncesi (prenatal) ve doğum sonrası (postnatal) büyüme olmak üzere iki ana bölümde; doğum sonrası büyümede süt emme dönemi ve sütten kesim sonrası büyüme olarak iki alt bölümde incelenmektedir. Doğum öncesi büyüme, doğum ağırlığı ile kendini gösterir ve genotipin yanında, cinsiyet, doğum tipi, ananın yaşı ile bakım ve beslenmesi gibi faktörlerden etkilenmektedir. Doğum sonrası büyümede bunlara ilave olarak kuzunun bakım ve beslenmesi de etkili olmaktadır (Işık, 2010). Genel itibariyle tek doğanların ikizlerden, dişilerin erkeklerden, doğum ağırlığı yüksek olanların düşük olanlardan, bakım ve beslenmesi iyi olanların kötü olanlardan, yerli ırkların kültür ırklarından, melezlerin saf ırklardan daha yüksek yaşama gücüne sahip oldukları bildirilmektedir (Işık, 2010). Doğum ağırlığı düşük olan kuzuların vücut enerjisi daha azdır ve bu kuzuların ayağa kalkıp ana memesini arayıp bulma ve ana sütünü emme davranışlarında gecikmeye neden olmaktadır. Bu da yeni doğan kuzunun zamanında ve yeterince beslenmesini zorlaştırmaktadır.

Yapılan literatür taramasında gerek Akkaraman koyun ırkı gerekse diğer yerli koyun ırklarında *CAST, DGAT1* ve *IGF-1* genleri ile büyüme özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu çalışmada popülasyon büyüklüğü bakımından Türkiye'nin en önemli koyun ırkı olan Akkaraman ırkında *CAST, DGAT1* ve *IGF-1*

genlerinda bulunan üç SNP ile doğum ve üç aylık yaşa kadarki canlı ağırlıklar arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Hayvan materyali

Çalışma için canlı hayvan kullanılmamıştır, çalışmada genotipleme için kullanılan DNA'lar ERÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 13.11.2013 tarih ve 13/130 karar numarası ile verilen Etik Kurul onay belgesi sonrasında toplanan 400 baş Akkaraman kuzudan alınan kan örneklerinden izole edilmiştir. Çalışmada ırkın daha iyi temsil edilebilmesi ve incelen örnekler arasındaki akrabalığın azaltılması için dört farklı işletmeden daha önce kan örnekleri alınmış Akkaraman erken kuzular incelenmiştir. Çalışmada kullanılacak DNA'lar daha önce alına kan örneklerinde ticari kit kullanılarak izole edilmiştir. Ancak PCR işleminde olası sorunlara karşı klasik fenol-kloroform yöntemi ile izolasyon tekrarlanmıştır. Daha önce kan alınan 400 baş Akkaraman ırkı erkek kuzudan, doğum ağırlıkları ve 90. güne (yetiştiricilerin kuzuları sütten kesip erkek kuzuları sürüden çıkarma yaşı) kadar 15 gün arayla yapılan tartım verileri alınmış olan 374 kuzuda genotip-fenotip ilişkili araştırılmıştır.

2.2. Kalpastatin (CAST) gen polimorfizimlerinin belirlenmesi

İncelenecek örneklerde *CAST* gen polimorfizminin belirlenmesinde Palmaer vd. (1998) tarafından bildirilen ve baz dizilimi F: 5'-TGG GGC CCA ATG ACG CCA TCG ATG-3'; R: 5'-GGT GGA GCA GCA CTT CTG ATC ACC-3' şeklinde olan bir primer seti kullanılmıştır. *CAST* gen polimorfizminin belirlenmesi için yapılacak PCR karışımı her örnek için 25 µl olarak hazırlanmıştır. Karşım 1.5 mM $MgCl_2$, 200 µM dNTPs, ileri ve geri primerlerden 200 µM, 1×PCR tampon solüsyonu, 1U Taq polimeraz enzimi ve 50 ng genomik DNA konduktan sonra karışım ddH_2O ile 25 25 µl'ye tamamlanmıştır. İncelenen bireylerin *CAST* genotiplerinin belirlenmesinde için yapılan PCR işlemi; 95 ^oC'de 5 dakika başlangıç denetürasyonunu takiben 95 ^oC'de 1 dakika, 62 ^oC'de 1 dakika, 72 ^oC'de 2 dakika olacak şekilde 35 siklus yapıldıktan sonra 72 ^oC'de 8 dakika tutularak ve PCR işlemi sonlandırılmıştır. Yapılan PCR işlemi sonunda elde edilmesi beklenen 622 bp'lik ürünlerin varlığı %1.5'luk agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

Elde edilen 622 bp'lik PCR ürünleri 5U *Msp*I restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve incelene bireylerin genotipleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Kesim sonunda MM genotindeki bireylerde 336 ve 286 bp'lik iki bant; MN genotipindeki bireylerde 622, 336 ve

286 bp'lik üç bant; NN genotipindeki bireylerde 622 bp'lik tek bir bandın görülmesi beklenmiştir.

2.3. Diacylglycerol Acyltransferase1 (DGAT1) gen polimorfizimlerinin belirlenmesi

İncelenecek örneklerde *DGAT1* gen polimorfizminin belirlenmesinde Yang vd., (2010) tarafından bildirilen ve baz dizilimi F: 5'-GCA TGT TCC GCC CTC TGG-3'; R: 5'-GGA GTC CAA CAC CCC TGA-3' şeklinde olan bir primer seti kullanılmıştır. *DGAT1* gen polimorfizminin belirlenmesi için yapılacak PCR karışımı her örnek için 25 µl olarak hazırlanmıştır. Karşım 1.5 mM $MgCl_2$, 200 µM dNTPs, ileri ve geri primerlerden 200 µM, 1×PCR tampon solüsyonu, 1U Taq polimeraz enzimi ve 50 ng genomik DNA konduktan sonra karışım ddH_2O ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. PCR işlemi; 95 ^oC'de 5 dakika başlangıç denetürasyonunu takiben 94 ^oC'de 30 saniye, 60 ^oC'de 30 saniye, 72 ^oC'de 30 saniye olacak şekilde 35 siklus yapıldıktan sonra 72 ^oC'de 10 dakika tutulacak ve sonlandırılmıştır. Yapılan PCR işlemi sonunda elde edilmesi beklenen 309 bp'lik ürünlerin varlığı %1.5'luk agaroz jel elektroforezi ile araştırılmıştır. Elde edilen 309 bp'lik PCR ürünleri 5U *Alu*I restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve bireylerin genotipleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Kesim sonunda TT genotindeki bireylerde 272 ve 37 bp'lik iki bant; TC genotipindeki bireylerde 309, 272 ve 37bp'lik üç bant; CC genotipindeki bireylerde 309 bp'lik tek bir bandın görülmesi beklenmiştir.

2.4. İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) gen polimorfizimlerinin belirlenmesi

İncelenecek örneklerde *IGF1* gen polimorfizminin belirlenmesinde He vd. (2012) tarafından bildirilen ve baz dizilimi F: 5'-TGA GGG GAG CCA ATT ACA AAG C-3'; R: 5'-CCG GGC ATG AAG ACA CAC ACA T-3' şeklinde olan bir primer seti kullanılacaktır. *IGF-1* gen polimorfizminin belirlenmesi için yapılacak PCR karışımı her örnek için 25 µl olarak hazırlanmıştır. Karşım 1.5 mM $MgCl_2$, 200 µM dNTPs, ileri ve geri primerlerden 200 µM, 1×PCR tampon solüsyonu, 1U Taq polimeraz enzimi ve 50 ng genomik DNA konduktan sonra karışım ddH_2O ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. İncelenecek bireylerin *IGF-1* genotiplerinin belirlenmesinde yapılacak PCR işlemi; 94 ^oC'de 6 dakika başlangıç denetürasyonunu takiben, 94 ^oC'de 30 saniye, 55 ^oC'de 30 saniye, 72 ^oC'de 30 saniye olacak şekilde 30 siklus yapıldıktan sonra 72 ^oC'de 10 dakika tutulacak ve sonlandırılmıştır. Yapılacak PCR işlemi sonunda elde edilmesi beklenen 294 bp'lik ürünlerin varlığı %2'lik agaroz jel elektroforezi ile araştırılmıştır. Elde edilen 294 bp'lik PCR ürünleri *Bsp143*II restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve bireylerin genotipleri %3'lük agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Kesim sonunda homozigot BB genotipli bireylerde 294 bp'lik tek bant;

homozigot AA genotipli bireylerde 200 ve 94 bp'lik çift bant; heterozigot AB genotipli bireylerde ise 294, 200 ve 94 bp'lik üç bandın görülmesi beklenmiştir

2.5. İstatistik analiz

İncelenen örneklerin genotiplenmeleri yapılan genler yönünden allel ve genotip frekansları ile Hardy–Weinberg dengesi testi için yapılan Ki-kare analizi Pop-Gen 1.32 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Doğum ağırlıkları kuzular doğduktan 12 saat sonra alındı. Kuzuların doğum ağırlıkları ve sütten kesime (90. gün) kadarki canlı ağırlıkları 1 g'lık hassasiyete sahip terazilerle ölçüldü. Her bir kuzu için günlük canlı ağırlık artışı, iki ölçüm arasındaki canlı ağırlık farkının arasındaki zamana bölmek suretiyle hesaplanmıştır. Her bir allel için canlı ağırlık ve genotip etkisi belirlenmesinde Genel Lineer Model (ANOVA-GLM) kullanıldı. Hesaplamalar Minitab 16.0 istatistik paket programı ile yapıldı.

Çalışma dört farklı işletmede yapıldığı için modellerde ki işletme değişkeni olarak dört düzey seçilmiş ve modellerde F_c ile gösterilmiştir. Genotip G_i ile gösterilmiş ve monomorfik olmayan genler 2 veya 3 düzey şeklinde istatistik modellere ilave edilmiştir. Çalışmada kullanılacak Akkaraman ırkı koyunlar bakım ve besleme şartlarına göre tekiz, ikiz veya üçüz doğum yapabilmektedir. Kuzuların doğum ağırlıkları doğum tipinden etkilenebilmektedir. Bu nedenle doğum tipi modellerde T_j ile gösterilmiştir. Kayseri ilinde kuzu doğumları Şubat ve Nisan ayları arasında olması nedeniyle çevre şartlarına bağlı olarak doğum ayının kuzu doğum ağırlıklarına ve postnatal büyümelerine etkili olabileceği düşünülerek istatistik modellere M_l olarak dahil edilmiştir. Memelilerde ana yaşı ile yavru doğum ağırlığı ve dolayısıyla postnatal büyüme arasında ilişki olması nedeniyle kuzuların analarının yaşları da istatistik modellere N_k olarak dahil edilmiştir. Ayrıca canlı ağırlık (CA) ve günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ile kuzu doğum ağırlıkları (DA) arasında orantılı bir ilişki olabileceği için DA kovaryans olarak Model 2'ye A_b ile gösterilerek dahil edilmiştir.

Model 1: Kuzu DA için,

$y_{cijlk}=\mu+F_c+G_i+T_j+N_k\ M_l+e_{cijlk}$

y_{cijlk}: fenotip (DA)

μ: popülasyon ortalaması

F_c: işletme için sabit etki (4 düzey)

G_i: genotip için sabit etki (3 düzey)

T_j: doğum tipi için sabit etki (3 düzey; tek, ikiz, üçüz)

N_k: ana yaşı için sabit etki (ay olarak)

$M_{l:}$ doğum zamanı için sabit etki (doğumun gerçekleştiği ay)

e_{cijlk}: hata değeri

Model 2: Kuzu CA ve GCAA için,

$y_{cijlkb}=\mu+F_c+G_i+T_j++N_k\ M_l\ +A_b+e_{cijlk}b$

y_{cijlkb}: fenotip (CA ve GCAA)

μ: popülasyon ortalaması

F_c: işletme için sabit etki (4 düzey)

G_i: genotip için sabit etki (3 düzey)

T_j: doğum tipi için sabit etki (3 düzey; tek, ikiz, üçüz)

N_k: ana yaşı için sabit etki (ay olarak)

M_l: doğum zamanı için sabit etki (doğumun gerçekleştiği ay)

A_b: kovaryans olarak kuzunun doğum ağırlığı

e_{cijlkb}: hata değeri

Çalışmada canlı hayvan kullanılmayacaktır. Bu nedenle Etik Kurul onay belgesine gerek yoktur. Çalışmada kullanılacak DNA örnekleri proje ekibinin daha önce Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 13.11.2013 tarih, 13/130 karar numarası ile uygundur kararı verilen "Erkek Akkaraman Kuzularında Beş Aday Gen ve Canlı Ağırlık Artışı Arasındaki İlişkinin Araştırılması" başlıklı projelerde toplanan kan örneklerinden elde edilmiştir.

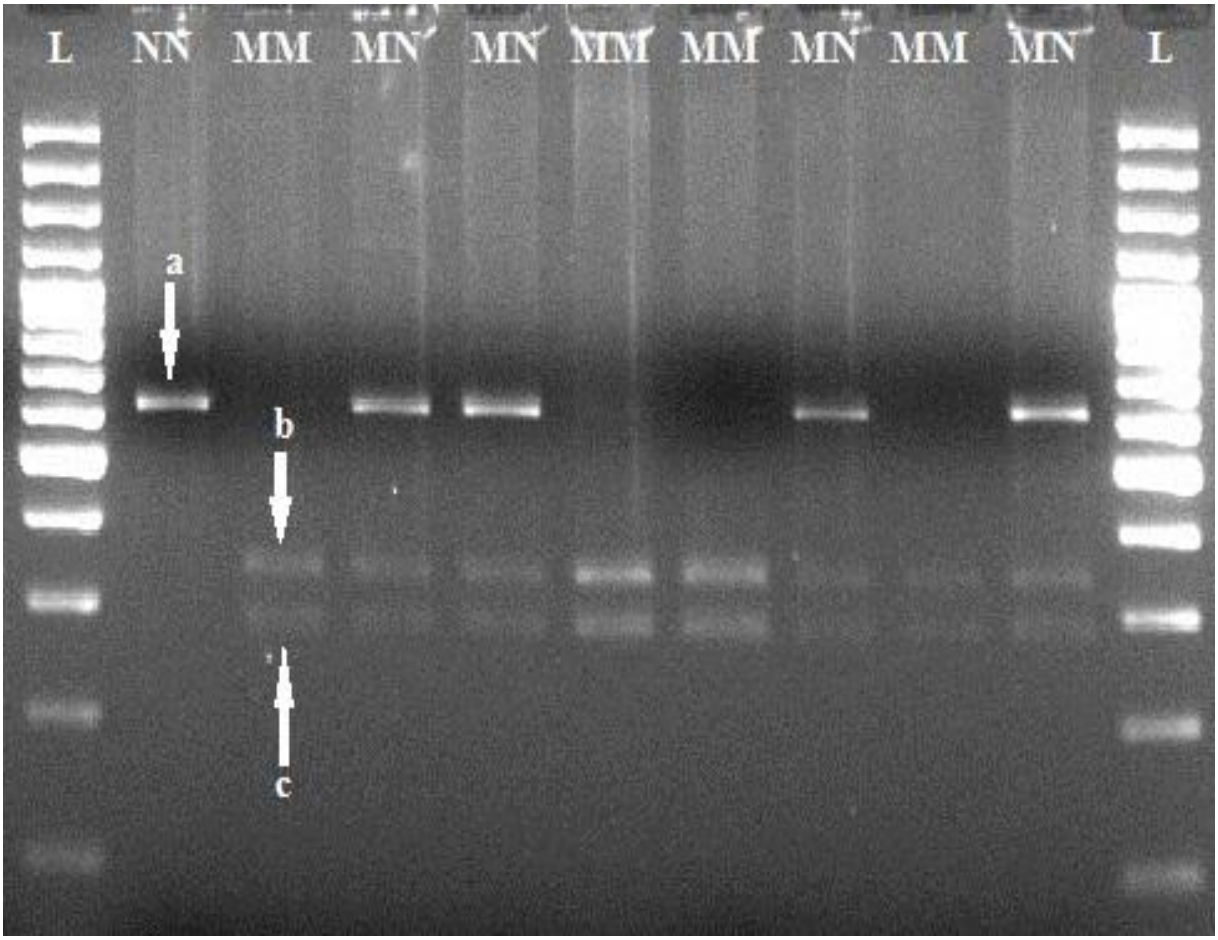
3. BULGULAR

3.1. Genotip ve Allel Frekansları

3.1.1. CAST-MspI polimorfizmi

CAST geni için yapılan PCR işlemi sonunda 622 bp uzunluğunda PCR ürünleri elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin *Msp*I restiriksiyon enzimi ile kesilmesinin takiben yapılan elektroforez işlemi sonucunda incelenen Akkaraman kuzularında MM, MN, ve NN olarak adlandırılan üç genotipin bulunduğu görülmüştür. MM genotipli bireylerde enzim

kesimi sonucunda 336 ve 286 bp uzunluğunda iki bant; MN genotipli bireylerde 662, 336 ve 286 bp uzunluğunda üç bant; NN genotipli bireylerde ise 622 bp uzunluğunda tek bant görülmüştür (Şekil 1)



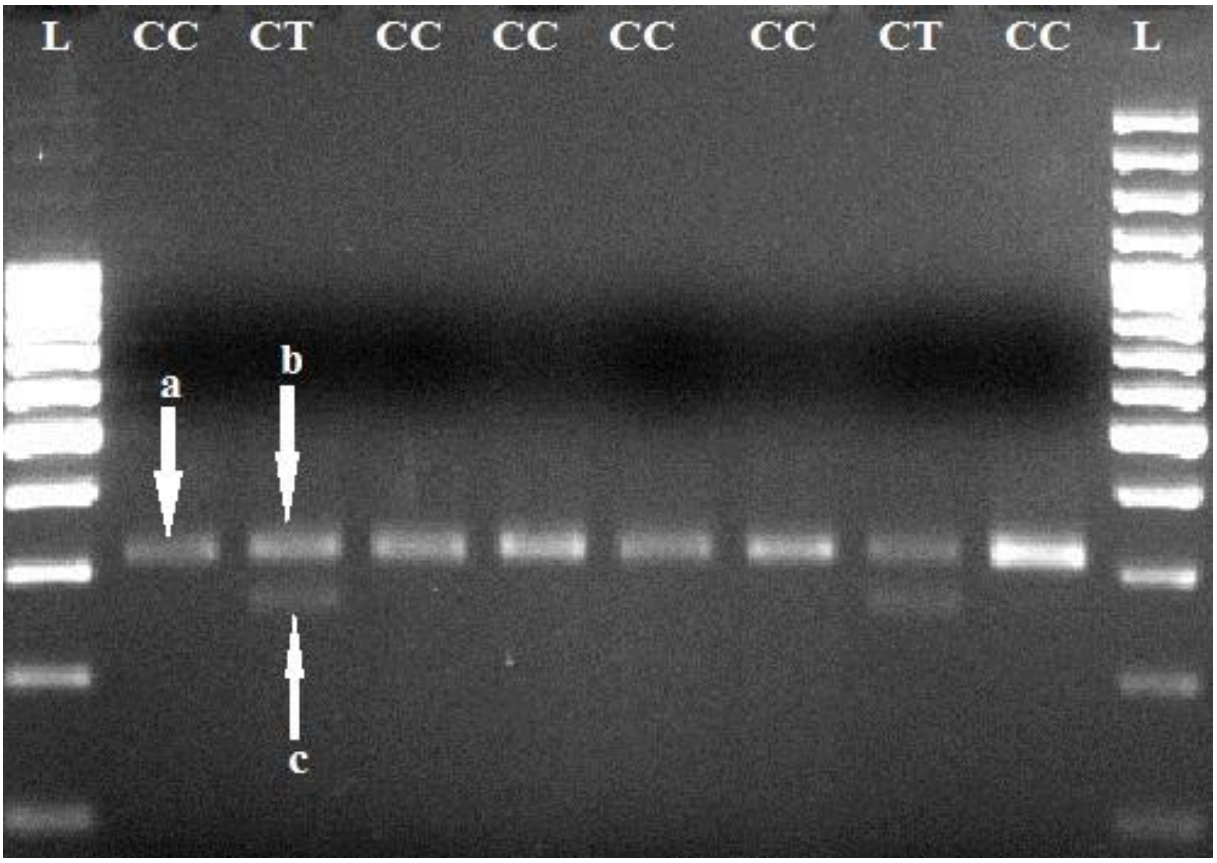
Şekil 1. Akkaraman kuzuların *CAST-Msp*I polimorfizminin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü (L; 100 bp DNA merdiveni; a: 622 bp'lik bant; b: 336 bp'lik bant; 286 bp'lik bant).

İncelenen örneklerde MM genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğu (0.81) görülmüştür. Buna karşılık NN genotipinin ise en az görülen genotip (0.01) olduğu görülmüştür. Akkaraman ırkında M allel frekansının (0.9), N allel frekansından yüksek olduğu ve incelenen Akkaraman popülasyonunun *CAST-Msp*I polimorfizmi yönünden Hardy-Weinberg dengesinde oldukları görülmüştür (Tablo 1).

3.1.2. DGAT1-AluI polimorfizmi

*DGAT1-Alu*I polimorfizmi için yapılan PCR işlemi sonunda 309 bp uzunluğunda PCR ürünleri elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin *Alu*I restiriksiyon enzimi ile kesilmesinin takiben yapılan elektroforez işlemi sonucunda incelenen Akkaraman kuzularında CC ve CT olarak adlandırılan iki genotipin bulunduğu, TT genotipinin ise incelenen örneklerde

bulunmadığı görülmüştür. CC genotipli bireylerde enzim kesimi sonucunda 309 bp uzunluğunda tek bant; MN genotipli bireylerde 309, 372 ve 37 bp uzunluğunda üç bandın görülmesi beklenmiştir. Ancak 37 bp uzunluğundaki bant çok küçük olması nedeniyle %3'lük agaroz jel elektroforezinde görülememiştir. Ancak 372 bp'lik bandın bunup bulunamaması bireylerin genotiplerinin belirlenmesinde yeterli olduğu için 37 bp'lik bandın aranması için ihtiyaç duyulmamıştır (Şekil 2)



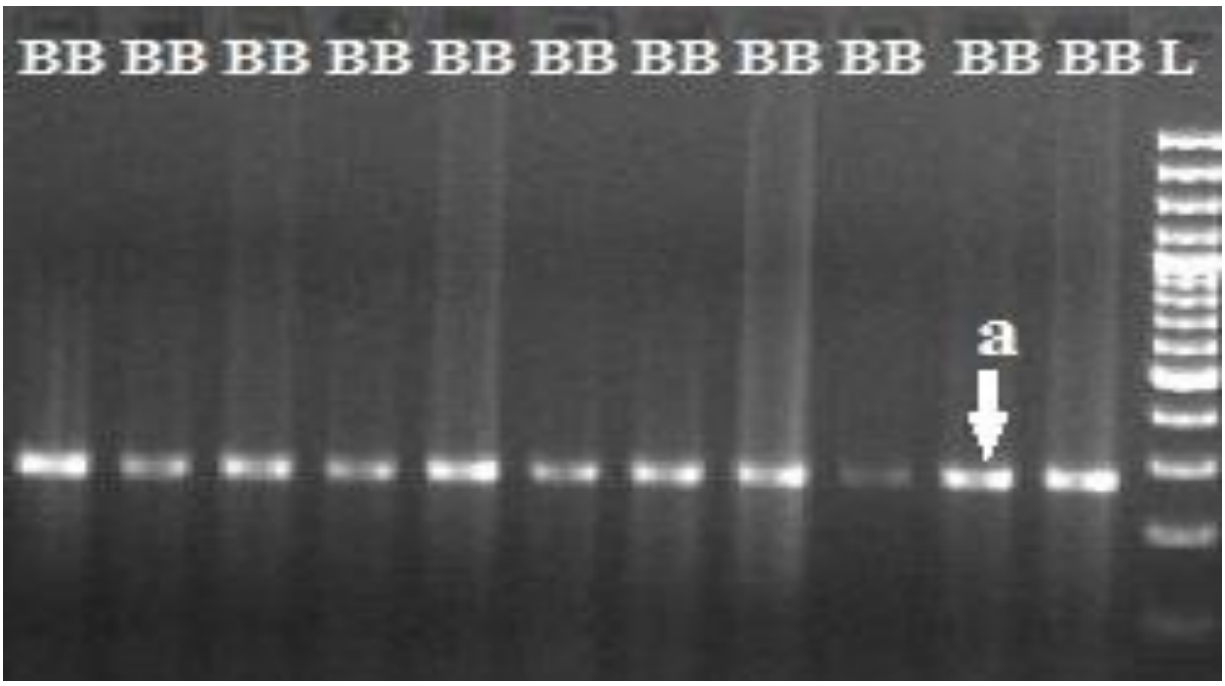
Şekil 2. Akkaraman kuzuların *DGAT1-Alu*I polimorfizminin %3'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü (L; 100 bp DNA merdiveni; a: 309 bp'lik bant; b: 372 bp'lik bant).

İncelenen örneklerde CC genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğu (0.91) görülmüştür. İncelenen Akkaraman popülasyonunun *DGAT1-Alu*I polimorfizmi yönünden Hardy-Weinberg dengesinde oldukları görülmüştür (Tablo 1).

3.1.3. IGF-1-Bsp143II polimorfizmi

*IGF-1-Bsp143*II polimorfizmi için yapılan PCR işlemi sonunda 294 bp uzunluğunda PCR ürünleri elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin *Bsp143*II restiriksiyon enzimi ile

kesilmesinin takiben yapılan elektroforez işlemi sonucunda incelenen Akkaraman kuzularında sadece BB genotipinin ve B allelinin bulunduğu görülmüştür (Şekil 3).



Şekil 3. Akkaraman kuzuların *IGF-1-Bsp*143II polimorfizminin %3'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü (L; 100 bp DNA merdiveni; a: 294 bp'lik bant).

Tablo 2. Akkaraman koyun ırkında *CAST, DGAT1* ve *IGF-1 genlerinin* allel ve genotip frekansları

Gene	**n**		**Allele Frequency**		**Genotype Frequency (%)**			X^2 **(df=1)**
			M	N	MM	MN	NN	
CAST	374	Observed	0.9	0.1	302 (0.81)	70 (0.18)	2 (0.01)	X^2=0.93^{NS}
		Expected			303.66	66.68	3.66	P=0.3355
			C	T	CC	CT	TT	
DGAT1	374	Observed	0.96	0.04	342 (0.91)	32 (0.09)	0 (0%)	X^2=0.75 ^{NS}
		Expected			342.68	30.63	0.68	P=0.3874
			A	B	AA	AB	BB	
IGF-1	374	Observed	0	1	0	0	374	-

X^2: Ki-kare; ^{NS}: İstatistiksel olarak önemsiz (P<0.01)

3.2. Genotip fenotip ilişkisi

Elde edilen genotip verileri ile farklı dönemlerdeki canlı ağırlıklar arasındaki ilişkinin araştırıdığı bu çalışmada incelenen polimorfizmlerden incelenen örneklerin *IGF-1-Bsp*143II

polymorfizmi yönünden monomorfik olmaları nedeniyle genotip fenotip ilişkisi araştırılamamıştır. İncelenen polimorfizmlerden polimorfik olan *CAST-Msp*I genotipleri (MM, MN, ve NN) ile doğum, 30. gün, 60. gün ve 90. gün canlı ağırlıkları arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 2). Ancak *DGAT1-Alu*I genotipleri (CC and CT) ile kuzu doğum ağırlıkları arasında ilişki olduğu, CT genotipli kuzuların CC genotipli kuzulardan daha ağır doğdukları görülmüştür (Tablo 2)

Tablo 2. Akkaraman kuzularında farklı yaş ağırlıkları ile *CAST* ve *DGAT1* genotipleri arasındaki ilişki

CAST	**Birth**	**30. day**	**60. day**	**90. day**
MM	4.730 ± 0.081	10.922 ± 0.203	18.593 ± 0.368	28.264 ± 0.512
MN	4.825 ± 0.120	10.920 ± 0.300	18.500 ± 0.544	27.638 ± 0.758
NN	4.387 ± 0.082	9.681 ± 0.206	19.768 ± 0.374	31.766 ± 0.520
P	0.636	0.818	0.934	0.533
DGAT1	**Birth**	**30. day**	**60. day**	**90. day**
CC	4.489 ± 0.275	10.530 ± 0.689	19.118 ± 1.252	29.250 ± 1.743
CT	4.805 ± 0.312	10.443 ± 0.782	18.790 ± 1.418	29.196 ± 1.975
P	0.044	0.824	0.645	0.956

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Büyüme bir çok gen tarafından kontrol edilen kantitatif özelliktir. Kantitatif özelliklerin ortaya çıkmasında görevli genler genellikle küçük etkili olmalarına rağmen bazı genler, bireylerdeki genetik varyasyonun büyük kısmından sorumludur ve bunlar major gen olarak adlandırılırlar. Bu genler genetik markırlara bağlı ve birlikte segrede olabilirler (Mohammadi vd., 2013). İdeal bir markırın polimorfik olması, basit kalıtım şekli göstermesi ve kolayca belirlenebilmesi istenir (Thaller vd., 2003). Bu çalışmada çiftlik hayvanlarında büyüme ve canlı ağırlık artışı için markır olarak kullanılabileceği düşünülen *DGAT1, CAST* ve *IGF-I* genleri ile Türkiye yerli koyun ırklarından Akkaraman ırkı erkek kuzuların doğum, 30., 60. ve sütten kesim ağırlığı olan 90. gün ağırlıkları arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Akkaraman koyun ırkının incelendiği bu çalışmada, *DGAT1-Alu*I polimorfizmi yönünden CC genotipinin en yaygın genotip (0.91) olduğu, TT genotipinin ise bulunmadığı görülmüştür. C allel frekansının (0.96), T allelinden yüksek olduğu ve incelenene örneklerin *DGAT1-Alu*I polimorfizmi yönünden HW dengesinde oldukları görülmüştür. Bu çalışmadaki bulgulara benzer şekilde, Türkiye'de yetiştirilen Gökçeada ve Sakız ırkı koyunlarda CC genotipi her iki

ırkta da en yaygın genotip olduğu (68.33% ve 51.92% sırasıyla) bildirilmiştir (Cerit ve Demir, 2016). Türkiye'deki yerli koyun ırklarındaki *DGAT1-Alu*I polimorfizmi bulguları ile uyumlu olarak Hindistan (Kumar vd., 2016), İran (Nanekarani vd., 2016), Romanya (Tăbăran vd., 2014) ve Çin (Xu vd., 2009; Yang vd., 2011) yerli koyun ırklarında CC genotip frekansın diğer genotiplerden yüksek, TT genotipinin ise en düşük frekansta olduğu bildirilmiştir. Bizim bulgularımızdan farklı olarak TT genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğunu bildirilen az sayıda çalışmada bulunmaktadır (Noshahr ve Rafat, 2014).

Çiftlik hayvanlarında *DGAT1* geni çoğunlukla et kalitesi ile ilgili çalışmalarda incelenmiş bir gendir. *DGAT1* geni ile büyüme ve canlı ağırlık artışı ile ilgili özelliklerin araştırıldığı çalışmalar nispeten azdır. Bu çalışmaların birinde, İran'da yetiştirilen yağlı kuyruklu Lori-Bakhtiari koyunları ile küçük kuyruklu Zel koyun ırklarında *DGAT1-Alu*I-CC genotipli bireylerin diğer genotiplere göre daha yüksek sıcak karkas ağırlığına ve daha yüksek randımana sahip oldukları bildirilmiştir (Mohammadi vd., 2013). Yine İran'da yetiştirilen Moghani ırkı koyunlarda CC genotipli bireylerin sıcak karkas ağırlığı ve hot dressing percentage yönünden diğer genotiplilerden üstün oldukları bildirilmiştir (Noshahr vd., 2014). Türkiye'deki en önemli koyun et kaynağı olan Akkaraman ırkında *DGAT1-Alu*I polimorfizmi ve bazı farklı dönemlerdeki canlı ağırlıklara arasındaki ilişkinin araştırıldığı bu çalışmada, incelenen örneklerde TC genotipli bireylerin diğer genotipli kuzulara göre daha yüksek doğum ağırlığına sahip oldukları belirlenmiştir ($P<0.05$). Doğan kuzuların hayatta kalmaları için doğum ağırlığı önemli bir kriterdir. Doğum ağırlığı 4.36-4.77 kg olan kuzuların, doğum sonrası ve sütten kesime kadar ki dönemde hayatta kalma oranının maksimum olduğu bildirilmiştir (Morris vd., 2000). Bu çalışmada incelenen 374 Akkaraman kuzuda CC genotiplilerin doğum ağırlık ortalamalarının (4.489 kg), TC genotiplilere (4.805 kg) göre düşük olmasına rağmen sütten kesime kadarki dönemde TC genotiplilere yetişip ve hatta geçtikleri görülmektedir. Çalışmada kullanılan kuzuların babaları durumları istatistik metoda değişken olarak yerini aldığı için kuzular arasındaki doğum ağırlığı farklarının genotipten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kas hücrelerinin gelişiminin düzenlenmesindeki rolü nedeniyle *CAST* geninin çiftlik hayvanlarında büyümenin kontrolünde önemli bir aday gen olduğu düşünülmektedir. Rusya'da yetiştirilen Soviet Merino ve Salks koyun ırklarında (Gorlov vd., 2016); Bulgaristan da yetiştirilen yerli Karnobat ve Stara Zagora koyunlarında (Hristova vd., 2015); Slovakya'da yetiştirilen Thigai, Valachian, Lacaune ve East Friesian koyunlarında (Gabor vd., 2009); İran'da yetiştirilen Lori (Nanekarani ve Goodarzi, 2014), Zel (Dehnavi vd., 2012), Afshari,

Ghezel, Makui, Sanjabi, Arkhamerino (Tohidi vd., 2013), Zandi (Khederzadeh vd., 2016) koyunlarında; Mısırda yetiştirilen Barki (Ibrahim vd., 2015), Osseimi, Barki and Rahmani (Mahrous vd., 2015) koyunlarında; Pakistan'da yetiştirilen Kajli, Lohi ve Thalli koyunlarında (Suleman vd., 2012) MM genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğu bildirilmiştir. Türkiye'de yetiştirilen Kıvırcık, Karacabey Merinosu (Alman Et Merinosu × Kıvırcık melezi) ve Gökçeada koyun ırklarında da MM genotip frekansı diğer genotiplerden yüksek bulunmuşken, Sakız ırkında MN genotip frekansı ve N allel frekansı yüksek bulunmuştur (Yılmaz vd., 2014a, Yılmaz vd., 2014b). Bir başka Türkiye yerli koyun ırkı olan Çine Çaparı ırkında MM genotip frekansı yüksek bulunmuşken, Karya (Sakız × Kıvırcık melezi) ırkı koyunlarda ise MN genotip frekansı yüksek bulunmuştur (Ata ve Cemal, 2013). Balcıoğlu vd. (2014) tarafından Akkaraman ve varyetelerinde *CAST-Msp*I polimorfizmi araştırdıkları çalışmada NN genotip frekansının 0-0.18 arasında olduğunu, Akkaraman ırkında MM genotipi en yaygın genotipin olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırıcıların inceledikleri ırklar arasında sütçülük özelliği diğer ırklardan daha iyi olan İvesi ırkında NN genotip frekansının diğer ırklardan yüksek olduğu (0.31) bildirilmiştir (Balcıoğlu vd., 2014). Bizim çalışmamızda da Akkaraman ırkı koyunlarda MM genotipinin en yaygın genotip (0.81), NN genotipinin ise en az görülen genotip (0.01) olduğu belirlenmiştir. Akkaraman ırkının *CAST-Msp*I polimorfizmi yönünden polimorfik olduğu, bu ırkta genetik varyasyonun devam ettiği ve Ki-kare testi sonucu bu ırkın genetik dengede olduğu belirlenmiştir.

Kas hücrelerinin gelişiminin düzenlenmesindeki rolü nedeniyle *CAST* geninin çiftlik hayvanlarında büyümenin kontrolünde önemli bir aday gen olduğu düşünülmektedir. Koyunlarda *CAST* geninde belirlenen polimorfizmler ile farklı dönemlerdeki canlı ağırlıklar arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Yeni Zelanda'da yetiştirilen Romney ırkı kuzularda, *CAST* geni ile doğum ağırlığı arasında ilişki olduğu ancak günlük canlı ağırlık artışı arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir (Byun vd., 2008). Chung ve Davis (2012) tarafından yapılan bir çalışmada *CAST* genotipleri ile kuzu doğum ağırlığı ve günlük canlı ağırlık artışı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Mısırda yetiştirilen Barki ırkı koyunlarda *CAST* geni ile yağsız karkas verimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Ibrahim vd., 2015). Pakistan' da yetiştirilen lokal Balkhi ve Kajli koyun ırklarında "MN" genotipindeki bireylerin günlük canlı ağırlık artışının diğer genotiplere göre daha iyi oldukları bildirilmiştir (Khan vd., 2012). Türkiye'de yetiştirilen Kıvırcık ırkı yerli koyunlarda NN genotipli bireylerin günlük canlı ağırlık artışlarının diğer genotiplilerden daha kötü olduğu bildirilmiştir (Yılmaz vd., 2014a). Rusya'da yetiştirilen Soviet Merino ve Salks koyun ırklarında MN genotipli bireylerin sütten

kesim ağırlığı ve günlük ortalama ağırlık artışı yönünden diğer genotiplerden daha iyi olduğu bildirilmiştir (Gorlov vd., 2016). Ancak, farklı koyun ırklarında *CAST* geni ile büyüme özellikleri arasında ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Dehnavi vd., 2012; Greguła-Kania, 2012; Nikmard vd., 2012). Bu bulgularla uyumlu olarak Türkiye yerli koyun ırklarından Akkaraman ırkının incelendiği bu çalışmada da *CAST-Msp*I ile polimorfizmi ile incelenen örneklerde doğum ağırlığı ve sütten kesime kadarki (90. gün) ağırlıklar arasında ilişki bulunamamıştır.

IGF-I geninin çiftlik hayvanlarında ki büyüme özellikleri için bir aday markır olabileceği bildirilmiştir (Zhang vd., 2008; Wu-Jun vd., 2010). Bu nedenle, bu çalışmada *IGF-1-Bsp*143II polimorfizmi ile kuzu doğum ağırlığı ve kuzuların sütten kesime kadarki ölçülen ağırlıkları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Ancak bu çalışmada incelene diğer genlerden farklı olarak, 374 Akkaraman ırkı kuzunun hepsinin *IGF-1-Bsp*143II polimorfizmi yönünden monomorfik BB genotipinde oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle *IGF-I* geni ile farklı dönemlerdeki ağırlıklar arasındaki ilişki araştırılamamıştır. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak Çin'de yetiştirilen yerli Small Tail Han ve Hu koyunlarında AA, AB ve BB üç genotipin bulunduğu, Avrupa orijinli Texel ırkında AA ve AB genotiplerinin bulunmasına karşılık, Dorset ırkında ise sadece AA genotipinin bulunduğu ve dört ırkta da A alel frekansının B allelinden yüksek bildirilmiştir (He vd., 2012).

He vd. (2012) tarafından yapılan çalışma sonunda incelene dört koyun ırkından Small Tail Han ırkında AA genotipi ile bir batında doğan kuzu sayısı arasında negatif ilişki olduğu bildirilmiştir. Rus Merinoslarında yapılan bir çalışmada *IGF-I* geninde bulunan c.91A>C SNP'si ile et verim özellikleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Trukhachev vd., 2016). Ancak *IGF-1* geni ile koyunlarda farklı verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışma sayısı diğer çiftlik hayvanlarına oranla azdır. Örnek olarak *IGF-I* geni ile domuz yavrularının doğum ağırlığı (Korwin-Kossakowska vd. 2004), Angus sığırlarında *IGF-1* geni ile buzağı büyüme özellikleri (Ge vd., 2001), keçilerde *IGF-I* geni ile oğlaklarda doğum ağırlığı ve sütten kesim ağırlığı özellikleri (Zhang vd., 2008; Pralomkarn, 2013; Rasouli vd., 2016) arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışma Türkiye yerli koyun ırklarından Akkaraman ırkında *CAST-Msp*I, *DGAT1-Alu*I ve *IGF-1-Bsp*143II polimorfizminin birlikte araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışma sonunda Akkaraman ırkında *CAST-Msp*I ve *DGAT1-Alu*I devam ettiği ve bu polimorfizmler yönünden HW dengesinde oldukları, *IGF-1-Bsp*143II polimorfizmi yönünden ise monomorfik olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular sonucunda Akkaraman ırkında genetik çeşitliliğin devam ettiği

görülmektedir. Diğer taraftan, bu çalışma sonunda, Akkaraman ırkı koyunlarda *DGAT1-Alu*I polimorfizmi ile doğum ağırlığı ilişki olduğu ortaya konmuşken, *CAST-Msp*I polimorfizmi ile ölçülen özellikler arasında herhangi bir ilişki belirlenememiştir. Dolayısıyla Akkaraman koyun ırkında kuzu doğum ağırlığının iyileştirilmesi çalışmalarında *DGAT1-Alu*I polimorfizminin potansiyel bir moleküler markır olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

5- KAYNAKLAR

Akçapınar, H. 2000. “Koyun Yetiştiriciliği”, Yenilenmiş 2. Baskı, İsmat Matbaacılık, Ankara, S:7, 109.

Aktaş, A. H., Yaylacı, E., Ankaralı, B., Halıcı, İ., Demirci, U ve Atik, A. 2011. “Akkaraman Koyun Irkının Halk Elinde Islahı Projesi” (Basılmamış Ara Raporu).

Aktaş, A. H., Ankaralı, B., Halıcı, İ., Demirci, U., Atik, A., ve Yaylacı, E. 2014. “Growth Traits And Survival Rates Of Akkaraman Lambs In Breeder Flocks In Konya Province”. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 38, 40-45.

Amanda, W., Thompson, V. F., ve Goll, D. E. 2004.“Interaction Of Calpastatin With Calpain: A Review”, Biological Chemistry, 385, 465-472.

Anonim 1 2018. “IGF1 insulin like growth factor 1 [Ovis aries (sheep)]”. Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/443318. Erişim tarihi:23.01.2018.

Anton, I., Kovacs, K., Hollo, G., Farkas, V., Lehel, L., Hajda, Z. ve Zsolnai, A. 2011. “Effect Of Leptin, DGAT1 And TG Gene Polymorphisms On The Intramuscular Fat Of Angus Cattle in Hungary”, Livestock Science, 135, 300–303.

Ata, N., Cemal, I. 2013. “Calpastatin gene polymorphism in Çine Çapari and Karya sheep”. Scientific Papers, Series D. Animal Science, 56, 48-51.

Balcıoğlu, M. S., Karslı, T., Şahin, E., Ulutaş, Z ve Aksoy, Y. 2014. “Türkiye’de yetiştirilen bazı yerli koyun ırklarında kalpastatin (CAST) geni polimorfizminin PCR-RFLP yöntemiyle belirlenmesi”. Tarım Bilimleri Dergisi–Journal of Agricultural Sciences, 20, 427-433

Barash, H., Aharoni, Y., Brosh, A ve Holzer, Z. 1998. “Effect of low energy diets followed by a compensatory diet on body weight gain and plasma hormone concentrations in bull calves”. Journal of Dairy Science, 81, 250-254.

Barillet, F., Arranz, J. J ve Carta, A. (2005). Mapping Quantitative Trait Loci For Milk Production And Genetic Polymorphisms Of Milk Proteins In Dairy Sheep”, Genetics Selection Evolution, 37, 109–123.

Buhman, K. K., Smith, S. J., Stone, S. J., Repa, J. J ve Wong, J. S. 2002. “DGAT1 is not essential for intestinal triacylglycerol absorption or chylomicron synthesis”. The Journal of Biological Chemistry, 277, 25477–25479.

Byun, S. O., Zhou, H., Forrest, R. H. J., Frampton, C. M ve Hickford, J. G. H. 2008. "Association of the ovine calpastatin gene with birth weight and growth rate to weaning". Animal Genetics, 39(5), 572.

Casas, E., Kirkpatrick. B. W., Prill, A., Price, S. G ve Clutter. A. C. 1997. "Relationship of growth hormone and insulin-like growth factor-1 genotypes with growth and carcass traits in swine". Animal Genetics, 28, 88-93.

Casas, E., White, S. N., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Rile, D. G., Chale, C. C., Johnson, D. D ve Smith, P. L. 2006. "Effects of calpastatin and μ-calpain markers in beef cattle on tenderness traits". Journal of Animal Science, 84, 520–525.

Cerit, H., Demir, H. 2016. "Detection of Diacylglycerol Acyltransferase 1 (DGAT1) Gene Polymorphism in Imroz and Chios Sheep Breeds in Turkey Using PCR-RFLP Method". Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 22(6), 847-852.

Clop, A., Marcq, F., Takeda, H., Pirottin, D., Tordoir, X., Bibé, B., Bouix, J., Caiment, F., Elsen, J-M., Eychenne, F., Larzul, C., Laville, E., Meish, F., Milenkovic, D., Tobin, J., Charlier, C ve Georges, M. A. 2006. "Mutation Creating a Potential Illegitimate MicroRNA Target Site in the Myostatin Gene Affects Muscularity in Sheep". Nature Genetics, 38, 813-818.

Curi, R. A., Chardulo, L. A. L., Arrigon, M. D. B., Silveira, A.C. ve Oliveira, H. N. 2011. "Associations Between LEP, DGAT1 And FABP4 Gene Polymorphisms And Carcass And Meat Traits In Nelore And Crossbred Beef Cattle", Livestock Science, 135, 244–250.

Daughaday, W., Hand Rotwein, P. 1989. "Insulin-like growth factors I and II. Peptide messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations". Endocrin Reviews, 10, 68-91.

Chung, H., Davis, M. 2012. "PCR-RFLP of the Ovine Calpastatin Gene and its Association with Growth". Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 7(8), 641-652.

Dehnavi, E., Azari, M. A., Hasani, S., Nassiry, M. R., Mohajer, M., Ahmadi, A. K., Shahmohamadi, L. ve Yousefi, S. 2012. "Polymorphism Of Myostatin Gene In Intron 1 And 2 And Exon 3, And Their Associations With Yearling Weight, Using PCR-RFLP And PCR-SSCP Techniques in Zel Sheep", Biotechnology Research International.

Dehnavi, E., Azari, M. A., Hasani, S., Nassiry, M. R., Mohajer, M., Khan, Ahmadi, A. R., Shahmohamadi L ve Yousefi, S. 2012. "Association between Yearling Weight and

Calpastatin and Calpain Loci Polymorphism in Iranian Zel Sheep". Iranian Journal of Applied Animal Science 2(2), 131-135.

Dekkers, J. C. M. 2004. "Commercial Application of Marker- and Gene-assisted Selection in Livestock: Strategies and Lessons". Journal of Animal Science, 82, 313-328.

Deng, C., Ma, R., Yue, X., Lan, X., Chen, H ve Lei, C. 2010. "Association of IGF-I gene polymorphisms with milk yield and body size in Chinese dairy goats". Genetics and Molecular Biology, 33(2), 266-270.

Dybus A., Grzesiak W., Szatkowska I ve Błaszczyk P. 2004. "Association Between the Growth Hormone Combined Genotypes and Dairy Traits in Polish Black-and-White Cows", Animal Science Paper Reports, 22(2), 185-194.

Dybus, A., Grzesiak, W., Kamieniecki, H., Szatkowska, I., Sobek, Z., Błaszczyk, P., Czerniawska-Piątkowska, E., Zych, S ve Muszyńska, M. 2005. "Association of Genetic Variants of Bovine Prolactin with Milk Production Traits of Black-and-White and Jersey Cattle". Arch Tierz Dummerstorf, 48(2), 149-156.

Eggen, A. 2012. "The development and application of genomic selection as a new breeding paradigm". Animal Frontiers, 2(1), 10-15.

Esmailizadeh, A.K. 2010. "A Partial Genome Scan To Identify Quantitative Trait Loci Affecting Birth Weight In Kermani Sheep", Small Ruminant Research, 94, 73–78.

Eulalia, S., Lech, Z., Jolanta, O., Nina S., Emilia B ve Krzyzewski J. 2006. "Effect of polymorphism in IGF-I gene on production traits in Polish Holstein-Friesian cattle". Animal Science Paper and Reports, 24, 225-237.

FAO, 2017. Live Animals. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA

Gabor, M., Trakovicka, A. ve Miluchova, M. 2009. "Analysis Of Polymorphism Of CAST Gene And CLPG Gene In Sheep By PCR-RFLP Method" Lucrări ştiinţifice Zootehnie şi Biotehnologii, 42, 470-476.

Ge, W., Davis, M. E., Hines, H. C., Irvin, K. M ve Simmen, R. C. 2001. "Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle". Journal of Animal Science, 79, 1757-1762.

Gill, J. L., Bishop, S. C., McCorquodale, C., Williams, J. L. ve Wiener, P. 2009. "Association Of Selected SNP With Carcass And Taste Panel Assessed Meat Quality Traits In A

Commercial Population Of Aberdeen Angus-Sired Beef Cattle", Genetics Selection Evolution, 41, 36–48.

Goddard, M. E., Hayes, B. J. 2009. "Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes". Nature Reviews Genetics, 10, 381-391.

Gorlov, I. F., Shirokova, N. V., Randelin, A. V., Voronkova, V. N., Mosolova, N. I., Zlobina E. Y., Kolosov, Y. A., Bakoev, N. F., Leonova, M. A., Bakoev, S. Y., Kolosov, A. Y ve Getmantseva, L. V. 2016. "CAST/*Msp*I gene polymorphism and its impact on growth traits of Soviet Merino and Salsk sheep breeds in the South European part of Russia". Turkish Journal of Veterinary Animal and Science, () 40: 399-405.

Greguła-Kania, M. 2012. "Effect of calpastatin gene polymorphism on lamb growth and muscling". Annals of Animal Science, 12(1), 63-72.

Grısart B., Coppieters W., Farnir F., Karim L., Ford C., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Spelman R., Georges M ve Snell R. 2002. "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, 12, 222-231.

Hajihosseinlo, A., Hashemi, A., Razavi-Sheshdeh, S. A. ve Pirany, N. 2013. "Association Of The Polymorphism In The 5' Flanking Region Of The Ovine IGF-I Gene With Growth And Development Traits in Makui Sheep Of Iran", European Journal of Zoological Research, 2(4), 19-24.

Hristova, D., Georgieva, S ve Tanchev, S. 2015. "Analysis of DNA polymorphism of CAST gene in Local Karnobat and Stara Zagora sheep breeds". Agrıcultural Scıence and Technology, 7(1), 36-39.

Ibrahim, A. H. M., Ismail, I. M., Shehata, M. F ve El-Beltagy, A. R. 2015. "Calpastatin Polymorphism in Barki Lambs and their Effects on Growth and Carcass Traits". Journal of Animal Science, 11(3), 106-112.

Işık, S. 2010. "Bafra Koyununun (Sakız × Karayaka G1) Kazım Karabekir Tarım Işletmesi Şartlarında Döl Verimi, Yaşama Gücü ve Büyüme Özellikleri, (Doktora Tezi)". Kafkas Üniversitesi Sağlik Bilimleri Enstitüsü.

Jaan, O. C., Ibeagha-Awemu, E. M., Özbeyaz, C., Zaragoza, P., Williams, J. L., Ajmonw-Marsan, P., Lenstra, J. A., Moazami-Goudarzi, K ve Erhardt, G. 2004. "Geographic

Distribution of Haplotype Diversity at the Bovine Casein Locus". Genetic Selection Evolution, 36, 243-257.

Khan, S. H., Riaz, M. N., Ghaffar, A ve Ullah, M. F. 2012. "Calpastatin (CAST) gene polymorphism and its association with average daily weight gain in Balkhi and Kajli sheep and Beetal goat breeds". Pakistan Journal of Zoology, 44, 377-382.

Khatami, S. R., Lazebny, O. E., Maksimenko, V. F ve Sulimova, G. E. 2005. "Association of DNA Polymorphisms of the Growth Hormone and Prolactin Genes with Milk Productivity in Yaroslavl and Black-and-White Cattle". Russian Journal of Genetics, 41(2), 167-173.

Khederzadeh, S. 2011. "Polymorphism Of Calpastatin Gene In Crossbreed Dalagh Sheep Using PCR-RFLP", African Journal of Biotechnology, 10(53), 10839-10841.

Khederzadeh, S., Iranmanesh, M ve Motamedi-Mojdehi R. 2016. "Genetic diversity of myostatin and calpastatin genes in Zandi sheep". Journal of Livestock Science and Technologies, 4 (1), 45-52.

Koćwin - Podsiadła, M., Kurył, J., Krzęcio, E., Zybert, A ve Przybylski, W. 2003. "The interaction between calpastatin and RYR1 genes for some pork quality traits". Master of Science, 65, 731–735.

Korwin-Kossakowska, A., Sender, G ve Kuryl, J. 2004. "Associations between the microsatellite DNA sequence in the IGF1 gene, polymorphism in the ESR gene and selected reproduction traits in F1 (Zlotnicka Spotted 9 Polish Large White) sows". Animal Science Papers and Repoprts, 22, 215–226.

Kumar, R., Gupta, S., Meena, A. S., Naqvi, S. M. K ve Kumar, S. 2016. "Polymorphism in exon 17 of diacylglycerol acyltransferase-1 (DGAT-1) gene in Indian sheep breeds". Indian Journal of Small Ruminants, 22(2), 170-173.

Mahrous, K. F., Hassanane, M. S., Mordy, A. M., Shafey, H. I ve Rushdi, H. E. 2015. "Polymorphism of some Genes Associated with Meat-Related Traits in Egyptian Sheep Breeds". Iranian Journal of Applied Animal Science, 5(3), 655-663

Mayorek, N., Grinstein, I. ve Bar-Tana, J. 1989. "Triacylglycerol Synthesis In Cultured Rat Hepatocytes. The Rate-Limiting Role Of Diacylglycerol Acyltransferase", European Journal of Biochemistry, 182, 395–400.

Miller, J. R., Thomsen, P. D., Dixon, S. C., Tucker, E. M., Konfortov, B. A ve Harbitz, I. 1991. "Synteny mapping of the bovine IGHG2, CRC and IGF-I genes". Animal Genetics, 23, 51-58.

Mohammadi, H., Shahrebabak M. M. ve Sadeghi, M. 2013. "Association Between Single Nucleotide Polymorphism In The Ovine DGAT1 Gene And Carcass Traits In Two Iranian Sheep Breeds", Animal Biotechnology, 24, 159–167.

Morris, C. A., Hickey, S. M ve Clarke, J. N. 2000. "Genetic and environmental factors affecting lamb survival at birth and through to weaning". New Zealand Journal of Agricultural Research, 43(4), 515-524.

Nanekarani, S., Asadi, N ve Khederzadeh S. 2011."Genotypic frequency of calpastatin gene in Lori sheep by PCR-RFLP method." Animal Science, 72, 606-620.

Nanekarani, S., Goodarzi, M. 2014. "Polymorphism of Candidate Genes for Meat Production in Lori Sheep". IERI Procedia, 8, 18 – 23.

Nanekarani, S., Kolivand, M ve Goodarzi, M. 2016. "Polymorphism of a mutation of DGAT1 gene in Lori sheep breed". Journal of Advanced Agricultural Technologies, 3(1).

Näslund, J., Fikse, W. F., Pielberg G. R ve Lundén, A. 2008. "Frequency and effect of the bovine Acyl-CoA:Diacylglycerol Acyltransferase 1 (DGAT1) K232A polymorphism in Swedish dairy cattle". Journal of Dairy Science, 91, 2127–2134.

Nikmard, M., Molaee, V., Eskandarinasab, M. P., Dinparast Djadid, N ve Vajhi, A. R. 2012. "Calpastatin polymorphism in Afshari sheep and its possible correlation with growth and carcass traits". Journal of Applied Animal Research, 40(4), 346-350.

Nixon, A. J., Brower-Toland, B. D ve Sanell, L. J. 1999. "Primary nucleotide structure of predominant and alternate splice forms of equine insulin-like growth factor I and their gene expression patterns in tissues". American Journal of Veterinary Research, 60, 1234-1241.

Noshahr, F.A., Rafat, A. 2014. "Polymorphism of DGAT1 Gene and its relationship with carcass weight and dressing percentage in Moghani sheep breed". Iranian Journal of Applied Animal Science. 4(2), 331–334.

Oikonomou, G., Angelopoulou, K., Arsenos, G., Zygoyiannis, D ve Bano. 2008. "The effects of polymorphisms in the DGAT1, leptin and growth hormone receptor gene loci on body energy, blood metabolic and reproductive traits of Holstein cows". Animal Genetics, 40, 10–17.

Öner, Y., Elmaci, C. 2006. "Milk Protein Polymorphisms in Holstein Cattle". International Journal of Dairy Technology, 59 (3), 180-182.

Palmer, B. R., Roberts, N., Hickford, J. G. ve Bickerstaffe, R. 1998. "Rapid Communication: PCR-RFLP For MspI And NcoI In The Ovine Calpastatin Gene", Journal of Animal Science, 76, 1499-1500.

Pareek, C. S., Czarnik, U., Zabolewicz, T., Pareek, R. S ve Walawski, K. 2005. "DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide polymorphism in Polish Black-and-White cattle". Journal of Applied Genetics, 46(1), 85-87.

Pralomkarn, C., Pralomkarn, W. 2013. "Genetic polymorphisms of growth hormone (GH), insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and diacylglycerol acyltransferase 2 (DGAT-2) genes and their effect on birth weight and weaning weight in goats". The Philippine Agricultural Scientist, 96(1), 18-25.

Ranjbari, M., Hashemi, A., Mardani, K. ve Darvishzadeh, R. 2012. "Allelic Polymorphism of Makoei Sheep Calpastatin Gene Identified by Polymerase Chain Reaction and Single Strand Conformation Polymorphism". Journal of Agricultural Science and Technology, 14, 533-538.

Rasouli, S., Abdolmohammadi, A., Zebarjadi, A., ve Mostafaei, A. 2016. "Evaluation of polymorphism in IGF-I and IGFBP-3 genes and their relationship with twinning rate and growth traits in Markhoz goats". Annals of Animal Science.

Ripoli, M. V., Corva, P ve Giovambattista, G. 2006. "Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods". Research in Veterinary Science, 80, 287–290.

Safari, E., Fogarty, N. M ve Gilmour, A. R. 2005. "A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep". Livestock Production Science, 92(3), 271-289.

Schenkel, F. S., Miller, S. P., Jiang, Z., Mandell, B. I., Ye, X., Li, H ve Wilton, W. J. 2006. "Association of single nucleotide polymorphism in the calpastastin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle". Journal of Animal. Science, 84, 291–299.

Sellier, P. 2000. "Genetically caused retarded growth in animals". Domestic Animal Endocrinology, 19, 105-119.

Siadkowska, E., Zwierzchowski, L., Oprzadek, J., Strzalkowska, N., Bagnicka E. ve Krzyżewski J. 2006. "Effect Of Polymorphism In IGF-1 Gene On Production Traits In Polish Holstein-Friesian Cattle", Animal Science Papers and Reports, 24(3), 225-237.

Sirotkin, A. V., Chrenek, P., Makarevich, A. V., Huba, J ve Bulla, J. 2000. Interrelationships between breed, growth hormone, plasma IGF-I level and meat performance in bulls of different ages. ArchTierzucht, 6, 591-596.

Steinfeld, H ve Gerber, P. 2010. "Livestock production and the global environment: Consume less or produce better?" Proceedings of the National Academy of Sciences, 107, 18237–18238.

Suleman, M., Khan, S. U., Riaz, M. N., Yousaf, M., Shah, A., Ishaq, R ve Ghafoor, A. 2012. "Calpastatin (CAST) gene polymorphism in Kajli, Lohi and Thalli sheep breeds". African Journal of Biotechnology, 11(47), 10655-10660.

Sunilkumar, M. A., Nagaraja, C. S., Jayashankar, M. R., Fairoze, N ve Veeregowda, B. M. 2014. "Molecular studies on meat quality gene in Bandur sheep". Journal of Cell and Tissue Research, 14, 4049-4053.

Tăbăran, A., Mıhaıu, M., Dan, S. D., Reget, O., Pivariu, B., Cordiş, I., Cordea, D ve Mureşan, C. 2014. "Identification of Polymorphism in Goat and Sheep DGAT1 Gene Associated with Milk Production Traits". Bulletin UASVM Veterinary Medicine, 71(2), 283-286.

Thaller, G., Kuhn, C ve Winter, A. 2003. "DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle". Animal Genetics, 34, 354–357.

Tohidi R., Elyasi G., Javanmard A., Shoja J., Rezaei R. ve Pirahary O. 2013. "Molecular Analysis of Ovine Calpastatin Gene in Six Iranian Sheep Breeds Using PCR-RFLP". Journal of Animal Production Advances, 3(9), 271-277.

Trukhachev, V., Skripkin, V., Kvochko, A., Kulichenko, A., Kovalev, D., Pisarenko, S., Volynkina A, Selionova M, Aybazov M, Shumaenko S, Omarov A, Mamontova T, Yatsyk O ve Krivoruchko A. 2016. "Polymorphisms of the IGF1 gene in Russian sheep breeds and their influence on some meat production parameters. Slovenian Veterinary Research, 53(2).

Winter, A., Krämer, W., Werner, F. A. O., Kollers, S., Kata, S., Durstewitz, G., Buitkamp, J., Womack, J. E., Thaller, G ve Fries, R., 2002. "Association of a lysine-232_alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase

(DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content". PNAS, 99(14), 9300–9305.

Wu-Jun, L., Guang-Xin, F., Yi, F., Ke-Chuan, T., Xi-Xia, H., Xin-Kui, Y., Mou, W., Hui, Y., Yong-Zhen, H., Jing-Jing, H., Ya-Ping, X., Shi-Gang, Y ve Hon, G. H. 2010. "The polymorphism of a mutation of IGF-1 gene on two goat breeds in China". Journal of Animal Veterinary Advances, 9, 790–794.

Xu, Q. L., Chen, Y. L., Ma, R. X. ve Xue, P. 2009. "Polymorphism of DGAT1 associated with ıntramuscular fat-mediated tenderness ın sheep", Journal of the Science of Food and Agriculture, 89, 232–237.

Yang, J. T., Zang, R. X., Liu, W. J., Xu, H. W, Bai, J. L, Lu, J. X ve Wu, J. P. 2011. "Polymorphism of a mutation of DGAT1 gene in four Chinese indigenous sheep breeds". Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(5), 460-468.

Yıldız, N., Denk, H. 2006. "Some of production traits of Akkaraman ewes raised by farmers in Van Region II. Fleece yield, fleece length, body measurements, birth weights of lambs and lamb survival". Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 20: 29–37.

Yılmaz, O., Denk, H ve Bayram D. 2007. "Effects of lambing season, sex, and birth type on growth performance in Norduz lambs". Small Ruminant Research, 68: 336–339.

Yılmaz, O., Cemal, İ., Karaca, O ve Ata, N. 2014a. "Association of calpastatin (CAST) gene polymorphism with weaning weight and ultrasonic measurements of loin eye muscle in Kıvırcık lambs". Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 20 (5), 675-680.

Yılmaz, O., Sezenler, T., Ata, N., Yaman, Y., Cemal, İ. ve Karaca, O. 2014b. "Polymorphism of the ovine calpastatin gene in some Turkish sheep breeds". Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 38: 354-357.

Zhang, C., Zhang, W., Luo, H., Yue, W., Gao, M ve Jia, Z. 2008. "A new single nucleotide polymorphism in the IGF-I gene and its association with growth traits in the Nanjiang Huang goat". Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 21(8), 1073-1079.