

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI  
2015-YL-002**

**AYDIN İLİNDE YETİŞTİRİLEN YERLİ SIĞIRLARDA  
LEPTİN GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

**Zekai ÇOBAN**

**Tez Danışmanı:**

**Prof. Dr. İbrahim CEMAL**

**AYDIN - 2015**



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Zootekni Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Zekai ÇOBAN tarafından hazırlanan “Aydın İlinde Yetiştirilen Yerli Sığırlarda Leptin Gen Polimorfizminin Belirlenmesi” başlıklı tez, 30.12.2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

| Ünvanı, Adı Soyadı                 | Kurumu | İmzası                                                                               |
|------------------------------------|--------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Başkan : Prof. Dr. Güldehen BİLGİN | EÜ     |  |
| Üye : Prof. Dr. Orhan KARACA       | ADÜ    |   |
| Üye : Prof. Dr. İbrahim CEMAL      | ADÜ    |  |

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla / /2015 tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

30.12.2014

Zekai ÇOBAN



## ÖZET

### AYDIN İLİNDE YETİŞTİRİLEN YERLİ SIĞIRLARDA LEPTİN GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ

Zekai ÇOBAN

Yüksek Lisans Tezi, Zootečni Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim CEMAL

2015, 47 sayfa

Bu çalışma, Aydın ilinde yetiştirilen yerli sığırlarda leptin gen polimorfizminin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. DNA, 5 farklı lokasyonda bulunan 117 bireyden alınan kan örneklerinden elde edilmiştir. Genotiplerin belirlenmesi için PCR-RFLP metodu kullanılmıştır. Sığır leptin genine ait 422 bp'lik bölge PCR ile çoğaltılmış ve ardından *Sau3AI* restriksiyon enzimi ile kesime tabi tutulmuştur. *Sau3AI* enzim kesimi sonucu 390, 303, 88 ve 32 bp'lik bantlardan oluşan bir karışım elde edilmiştir. Çalışmada, gen frekansları A ve B allelleri için sırası ile 0.803 ve 0.197, genotip frekansları ise AA, AB ve BB genotipleri için sırası ile 0.641, 0.325 ve 0.034 olarak belirlenmiştir. Daha somut bilgilerin ortaya konabilmesi amacıyla bu gen bölgesinin DNA dizi analizinin yapılması faydalı olacaktır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular literatüre önemli katkı sağlayacak düzeydedir.

**Anahtar sözcükler:** Yerli sığır, Leptin geni, PCR-RFLP, *Sau3AI*





## ABSTRACT

### DETECTING LEPTIN GENE POLYMORPHISM IN NATIVE CATTLES RAISING IN AYDIN PROVINCE

Zekai ÇOBAN

M.Sc. Thesis, Department of Animal Sciences

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim CEMAL

2015, 47 pages

This study was carried out to determine leptin gene polymorphism in native cattles raised in Aydın province. DNA was extracted from 117 individual blood samples collected from cattles raised in 5 different locations. The PCR-RFLP methods were used to determine genotypes. A 422 bp DNA fragment within bovine leptin gene was amplified with PCR and then digested with restriction endonuclease enzyme *Sau3AI*. The *Sau3AI* digestion produced a mixture containing of 390, 303, 88 and 32 bp. In present study, A and B allele frequencies were identified with 0.803 and 0.197; AA, AB and BB genotype frequencies were identified with 0.641, 0.325 and 0.034, respectively. In order to reveal more concrete information, sequencing for the leptin gene may be useful. Results obtained from this study will provide a significant contribution to the literature.

**Keywords:** Native cattle, Leptin gene, PCR-RFLP, *Sau3AI*



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimi yaptığım süreç boyunca her konuda bilgilerini esirgemeyen, birçok güncel yöntemlere ve çalışmalara yönelik bilgi dağarcığımın genişlemesine büyük katkı sağlayan, yaşadığım olumlu, olumsuz her ne konuda olursa olsun büyük yardımını ve desteğini gördüğüm, sabrına, iyi niyetine ve çalışma prensiplerine her zaman hayran olduğum tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. İbrahim CEMAL'e,

Bu dönem boyunca katkılarını aldığım ve tez savunma jürisinde yer alarak değerli eleştirileriyle tezimin şekillenmesinde yardımcı olana değerli hocam Prof. Dr. Orhan KARACA'ya,

Tez savunma jürisinde yer alarak değerli eleştirileriyle tezimin şekillenmesinde yardımcı olan Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Güldehen BİLGİN'e,

Bütün Yüksek Lisans dönemimde yanımda bulunan, her zaman sonsuz desteğini gördüğüm değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Onur YILMAZ'a,

Laboratuvar çalışmaları boyunca sürekli yanımda olup eksiklikleri her zaman tamamlayıp yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Nezih ATA'ya,

Tez yazımı ve veri analizleri aşamalarında yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Ziraat Yüksek Mühendisi Semih SEVİM'e,

Hayvanlardan kan örneklerinin alınmasına izin veren tüm yetiştiricilere ve zorlu bir iş olan kan örneklerinin alınması aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Orkun Orhan BAYAR'a, Ziraat Mühendisi Kenan ÇAKICI'ya, Veteriner Hekim Sercan TERPELEK'e ve Veteriner Hekim Uğur ULUIŞIK'a,

Ayrıca, tüm eğitim hayatım boyunca, her konu ve koşulda verdikleri destek ve hoşgöründen dolayı, annem Emine ÇOBAN'a, babam Yahya ÇOBAN'a ve kardeşim Nazan ÇOBAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

|                                                                                              |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY SAYFASI .....                                                                  | iii  |
| BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....                                                          | v    |
| ÖZET.....                                                                                    | vii  |
| ABSTRACT.....                                                                                | ix   |
| ÖNSÖZ.....                                                                                   | xi   |
| SİMGELER DİZİNİ.....                                                                         | xv   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                         | xvii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                                                       | xix  |
| 1. GİRİŞ .....                                                                               | 1    |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ.....                                                                      | 5    |
| 2.1. Türkiye’de Sığır Varlığı ve Et Üretimi.....                                             | 5    |
| 2.2. Leptin Geni Doğası .....                                                                | 7    |
| 2.2.1. Leptin Geninin Yapısal Özellikleri .....                                              | 8    |
| 2.2.2. Leptin Geni Polimorfizmi ve Sığırlardaki Canlı Ağırlık Artışına Etkisi .....          | 9    |
| 2.2.3. Leptin Salgılanmasının Düzenlenmesi .....                                             | 9    |
| 2.2.4. Leptin Reseptörleri.....                                                              | 10   |
| 2.2.5. Leptin Geninin Yem Tüketimi ve Enerji Metabolizmasına Etkisi.....                     | 10   |
| 2.2.6. Obezite-Leptin İlişkisi .....                                                         | 10   |
| 2.3. Leptin Gen Polimorfizmini Belirlemek İçin PCR-RFLP Yöntemi İle Yapılmış Çalışmalar..... | 11   |
| 2.3.1. Leptin Polimorfizminin Besi, Karkas ve Canlı Ağırlık Özellikleri ile İlişkisi.....    | 11   |
| 2.3.2. Leptin Polimorfizminin Süt Verim Özellikleri ile İlişkisi .....                       | 12   |
| 2.4. Et Verimi ve Kalite Özelliklerinin Islahı.....                                          | 15   |
| 2.4.1. Klasik Islah Programlarına Dayalı Seleksiyon .....                                    | 15   |
| 2.4.2. Markör veya Gen Destekli Seleksiyon .....                                             | 16   |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 3. MATERYAL VE METOT.....                                   | 19 |
| 3.1. Hayvan Materyali.....                                  | 19 |
| 3.2. Metot .....                                            | 21 |
| 3.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve Muhafazası .....      | 21 |
| 3.2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu .....               | 22 |
| 3.2.3. PCR ile DNA Çoğaltımı.....                           | 23 |
| 3.2.4. RFLP (Kısıtlanmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi) ..... | 25 |
| 3.2.5. Agaroz Jel Elektrophorezi.....                       | 27 |
| 3.2.6. Leptin Genotiplerine Yönelik Değerlendirmeler .....  | 28 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....                                | 29 |
| 4.1. Leptin Genotiplerine İlişkin Gözlemler .....           | 29 |
| 4.2. Leptin Geni Bakımından Gen ve Genotip Frekansları..... | 30 |
| 5. SONUÇ .....                                              | 37 |
| KAYNAKLAR.....                                              | 41 |

**SİMGELER DİZİNİ**

AB : Avrupa Birliği

bç : Baz çifti

DNA : Deoksiribonükleik asit

EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit

kDA :Kilo Dalton

PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

RE : Restriction Endonuclease (Restiriksiyon Endonükleaz)

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Kısıtlanmış ParçaUzunluk Polimorfizmi)

SNP : Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Farklılığı)

TAGEM: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü

TBE : Tris-Borate-EDTA





## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Aydın iline ait yıllara göre büyükbaş hayvan sayıları .....                                                                  | 6  |
| Şekil 2.2. Leptin geninin sığırlarda bazı verimler üzerine etkileri.....                                                                | 8  |
| Şekil 2.3. Sığır leptin geninin yapısı .....                                                                                            | 8  |
| Şekil 3.1. Örnekleme lokasyonların Aydın ili haritası üzerinde gösterimi.....                                                           | 19 |
| Şekil 3.2. Çalışmanın hayvan materyalini oluşturan hayvanlara ait kimi görseller.....                                                   | 21 |
| Şekil 3.3. Leptin geninin PCR ile çoğaltılan 422 bç'lik bölgesine ait dizilim.....                                                      | 26 |
| Şekil 3.4. DNA bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan DNA boy cetveli.....                                                     | 28 |
| Şekil 4.1. Literatürde belirtilen bant uzunluklarına ait jel görüntüsü.....                                                             | 29 |
| Şekil 4.2. Çalışma için kullanılan sığırlardan bazılarının leptin geni A ve B allelleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü..... | 30 |
| Şekil 4.3. Örneklenen popülasyon genelinde leptin genotiplerinin oransal dağılımı .....                                                 | 30 |
| Şekil 4.4. Örnekleme lokasyonlarına göre leptin geni genotiplerinin oransal dağılımı .....                                              | 31 |
| Şekil 4.5. Yerli sığırlar için farklı sürü veya bölgelerden alınan örnekler bakımından gözlenen allel frekanslarının dağılımı .....     | 33 |
| Şekil 4.6. Örnekleme yapılan lokasyonlar arasındaki genetik uzaklığa göre çizilmiş dendrogram.....                                      | 34 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 2.1. Türkiye’de yıllara göre sığır varlığı.....                                                                                                     | 5  |
| Çizelge 2.2. Türkiye’de yıllara göre kesilen hayvan sayıları ve üretilen sığır eti miktarları .....                                                         | 7  |
| Çizelge 2.3. Bazı sığır ırklarında genotiplere ait çeşitli dönem ağırlıkları.....                                                                           | 12 |
| Çizelge 3.1. Sığırlara ait kan örneklerinin lokasyonlara göre dağılımı. ....                                                                                | 22 |
| Çizelge 3.2. PCR karışımı bileşenlerinin hacim ve son konsantrasyonları. ....                                                                               | 24 |
| Çizelge 3.3. Leptin genotiplerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan primerler.....                                                                          | 24 |
| Çizelge 3.4. Thermal cyler cihazında kullanılan PCR programı.....                                                                                           | 25 |
| Çizelge 3.5. Leptin geninin allellerinin ayrımı için uygulanan restiriksiyon işleminin bileşenleri .....                                                    | 26 |
| Çizelge 4.1. Leptin geni bakımından genotiplerin sayısal dağılımı ve gözlenen genotip frekansları .....                                                     | 31 |
| Çizelge 4.2. Farklı lokasyonlardan kan örnekleri alınan yerli sığırlarda leptin geni bakımından genotiplerin dağılımı ve gözlenen genotip frekansları. .... | 32 |
| Çizelge 4.3. Yerli sığır için örnekleme yapılan sürü veya lokasyonlar bakımından yapılan değerlendirme ile elde edilen allel frekansları.....               | 32 |
| Çizelge 4.4. Leptin geni bakımından sığır genotiplerine ait gözlenen ve beklenen sayılar ile ki-kare ( $\chi^2$ ) analiz sonuçları. ....                    | 33 |
| Çizelge 4.5. Bazı sığır popülasyonlarında leptin genine ait allelfrekansları.....                                                                           | 35 |



## 1.GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarında kantitatif karakter veya özellik olarak tanımlanan verim özellikleri veya fizyolojik özellikler genomda yer alan ve sayısı net olarak bilinmeyen çok sayıda genin eklemeli etkilerine ve bu genler arası etkileşimlere göre şekillenmektedir. Kantitatif karakterlere ait fenotipin şekillenmesinde görevli tüm genlerin tek tek etkilerini şu an için tanımlamak mümkün olmadığı için klasik Mendel genetiği yöntemlerini kullanarak bu genleri tek tek inceleyebilmek ve ıslah etkinliklerini tamamen bu bilgilere dayalı yürütmek günümüzde tam olarak olanaklı değildir. Ancak, moleküler genetik alanında son yıllarda yaşanan baş döndürücü gelişmeler buna kapı aralamıştır.

Kantitatif özelliklere ait fenotipleri şekillendiren genlerin sayısına ve bireysel özelliklerine ilişkin bilgilerin sınırlı düzeyde olmasından dolayı teorik çalışmalar kimi varsayımlara dayanmaktadır. Temel varsayıma göre kantitatif bir karakteri, tüm lokuslarda frekansları benzer, eklemeli etkileri ve dominans ilişkileri hemen hemen aynı olan çok sayıda gen etkilemektedir (Falconer ve Mackay, 1996; Roberts ve Smith, 1982). Bu tür karakterlere etkili genlerin sayısı ve etki düzeylerinin bilinmesinin olanaksızlığı kantitatif teorelin özgün yapısıyla ortaya çıkmasının temel nedenidir. Diğer bir ifadeyle, kantitatif karakterlerin kalıtımı poligenik modele dayanmaktadır (Kinghorn vd., 1994). Kantitatif karakterlerin kalıtımı, etkili genlerin etkileri toplamı ile açıklanmaktadır.

Kantitatif karakterler, özellikle de eşikli karakterler, çevre etmenlerinden çok daha yüksek derecede etkilenmektedirler (Cemal, 1996; Karaca vd., 1992). Dolayısıyla genetik varyasyon, genel varyasyon içinde ancak çok küçük değerler olarak tanımlanabilmekte ve buna bağlı olarak damızlık seçiminde duyarlılık düşük düzeyde olmaktadır. Bunun sonucu olarak, verim özelliklerinin ıslahında klasik ıslah yöntemleri ile sağlanan yıllık genetik ilerleme oranı ancak %1-3 kadar olabilmektedir (Smith, 1985).

Çiftlik hayvanlarında verimlerin geliştirilmesi anlamında yapılan ıslah çalışmalarında genlerin eklemeli etkilerinin fenotipe dayalı tahminini esas alan programlar bir önceki yüzyılda geliştirilerek kullanılmıştır. Bunun sonucunda, uzun vadeli çalışmalar ile yüksek verimli ırk, soy ve hatlar elde edilmiştir.

DNA'nın çift sarmal yapısının keşfinden sonra moleküler genetik alanında çok hızlı bir gelişme süreci yaşanmıştır. Özellikle son yıllarda DNA düzeyindeki tanımlamalara yönelik yöntemlerde baş döndürücü hızda gelişmeler yaşanmaktadır.

DNA düzeyinde yapılan tanımlamalardan elde edilen bilgiler ile hayvanlara ait fenotipik verilerin ilişkilendirilmesi sonucunda hayvanlara ait verim veya ürün kalitesi üzerine etkili olan, özellikle etki düzeyleri diğerlerine oranla kısmen veya çok büyük olan bazı genlerin tanımlanması ve pratik genotip ayırımlarının yapılabilmesi mümkün olmuştur. Kantitatif karakter lokuslarının (QTL: Quantitative Trait Loci), major gen olarak adlandırılan kısmen daha büyük etkili kantitatif karakter lokuslarının, genomda yer alan verim ve kalite artışıyla bağlantılı bazı genom bölgelerinin veya fenotipte etkili kantitatif karakter nükleotidlerinin (QTN: Quantitative Trait Nucleotide) tanımlanmasına yönelik bu yöntemler sayesinde günümüzde genoma ait bu bilgiler fenotipe dayalı klasik ıslah programlarına monte edilerek daha isabetli damızlık değeri tahminleri yapılabilmektedir. Bunun sonucunda, seleksiyon çalışmalarında genetik ilerleme hızı daha yüksek seviyelere çekilebilmektedir. Çalışmalar kapsamında nihai hedef genomik seleksiyondur. Son dönemlerde çiftlik hayvanı türlerine yönelik yüksek yoğunluklu tek nükleotid polimorfizmi (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) çiplerinin genotipleme çalışmalarında kullanılması ve referans popülasyonlarda genom boyu ilişki analizleri yapılarak ilgilenilen verimle ilgili SNP'lerin ve SNP genotiplerinin etki düzeylerinin belirlenmesi genomik seleksiyonu olanaklı kılmış ve kimi gelişmiş ülkelerde bu yöntem kullanıma girmiştir. Fenotipik veriler ile genomik verilerin birlikte kullanılması yüksek damızlık değer isabeti sağlamakla birlikte, bu çiplere dayalı genotipleme çalışmaları ile hiç performans kaydı olmayan hayvanlarda da genomik damızlık değer belirlenebilmekte, ancak bu tahminler daha düşük isabete sahip olmaktadır. Çip haricinde farklı moleküler genetik analiz yöntemleri ile elde edilen genotip bilgileri de klasik fenotipe dayalı damızlık değer tahmininde karışık model eşitliklerine dahil edilerek daha isabetli damızlık değer tahmini yapılabilmektedir.

Leptin geni, hayvanların büyüme ve enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli anahtar rol oynayan büyük etkili bir gendir. 16 kilo dalton (kDa) ağırlığında bir protein olan ve 146 amino asit içeren leptin, 21 amino asitlik sinyal peptidin molekülden ayrılmasından sonra ilk olarak adipoz dokudan salgılanmakta ve sonra kan dolaşımına karışmaktadır (Barb ve Kraeling, 2004; Zhang vd., 1994; Hashemi, vd., 2011). Leptin geni, sığırlarda 4. kromozomda, insanlarda 7. kromozomda, farelerde 6. kromozomda bulunmaktadır (Barendse vd., 1994; Stone vd., 1996).

Pomp vd. (1997) ile Wilkins ve Davey (1997) yaptıkları çalışmalarda leptin geninin polimorfik olduğunu göstermişlerdir. Pomp vd. (1997), 1820 bp'lık olan leptin genine ilişkin PCR ürünlerini *Sau3AI* restriksiyon enzimini kullanarak fragmentlere ayırmışlardır.

Zwierzchowski vd. (2001b) farklı etçi sığır ırkları ile yaptıkları araştırmada leptin genindeki polimorfizm ile yem tüketimi ve yemden yararlanma arasında bir ilişkin olduğunu ve bazı karkas özelliklerinin genotipik farklılıktan etkilendiğini göstermişlerdir. Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar AA genotipli (A alleli 3 restriksiyon fragmenti meydana getirmektedir) boğaların daha yüksek yem tüketimine sahip olduğunu, AB (B alleli 4 fragment meydana getirir) genotiplilerin ise parçalanmış karkastan seçilen örneklerde daha fazla yağsız et ürettiklerini ortaya çıkarmıştır. Benzer bir şekilde, Oprzadek vd. (2003) Siyah-Alaca ırkıyla yaptıkları araştırmada karkas özellikleri ile polimorfik leptin geni varyantları arasında önemli ilişkiler bulunduğunu bildirmişlerdir. Hale vd. (1998) tarafından Angus sığır ırkı ile yapılan bir başka çalışmada, leptin geninin karkas özelliği için markör olarak kullanılmasının yararlı olabileceği öne sürülmektedir.

Aydın ilinde, yerli sığır varlığı 1993 yılından itibaren son 20 yıllık süreçte yaklaşık olarak %62 azalarak 2013 yılında 38.679 başa gerilemiştir (TÜİK, 2013). Yerli sığırlardaki bu denli sayısal düşüşün en önemli nedeni olarak yerli ırkların et ve süt verimleri bakımından kültür ırklarıyla yarışamaması olarak gösterilse de, mera alanların farklı tarım uygulamalarında değerlendirilmeye başlanması da önemli bir etken olarak gösterilebilir. Aydın ilinde yerli sığır yetiştiriciliği, genel olarak mera koşullarında yılın yaklaşık 365 günü serbest bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Yetiştiriciler, yılın belli başlı dönemlerindeki uygulamalarda (aşı, bakanlık küpesi uygulamaları vb) ya da satış öncesi dönemde sığırları yerleşim merkezine yakın yerlere getirmektedirler. Diğer zamanlarda ise sığırlar merada serbest olarak dolaşmaktadırlar. Doğadan maksimum fayda sağlanarak yetiştirilen yerli sığırların karlılık oranının, özellikle besi sığır yetiştiriciliğinde, hazır bakım-besleme yapılan kültür ırkları ya da bunların melezlerine göre daha fazla olduğu aşıkardır. Neredeyse tüm yıl boyunca sadece meradan yararlanan hayvanların girdi maliyetleri yok denecek kadar azdır. Yetiştiricilerle yapılan görüşmelerde, mera alanları çeşitli nedenlerle kısıtlanmadığı sürece yerli sığır yetiştiriciliğini sürdüreceklerini, hatta karlılığından dolayı hayvan sayılarını artırma arzularının olduğunu dile getirmişlerdir.

Bu çalışma, Aydın'da yetiştirilen yerli sığırlardaleptin gen polimorfizminin DNA düzeyinde PCR-RFLP yöntemi ile tanımlanması amacıyla yapılmıştır.





## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Türkiye’de Sığır Varlığı ve Et Üretimi

Hayvansal üretim, çıktıları açısından insanların protein ihtiyaçlarının karşılamasında önemli bir üretim dalıdır. Hayvansal ürünler içinde et ve et ürünleri bu ihtiyacı karşılamının yanında istihdam sağlama, ekonomik büyüme ve kalkınma açısından önem taşımaktadır.

Ülkemizde 2002 yılında 9.8 milyon baş olan sığır sayısı % 47 oranında artarak 2013 yılında 14.4 milyon başa yükselmiştir (TÜİK, 2013). Yine TÜİK (2013) verilerine göre, 2002 yılında 3.58 milyon baş olan yerli sığır varlığı %35 azalarak 2013 yılında 2.34 milyon başa gerilemiştir. Yıllara göre Türkiye’de ki sığır sayılarının değişimi Çizelge 2.1.’de verilmiştir.

Çizelge 2.1.Türkiye’de yıllara göre sığır varlığı

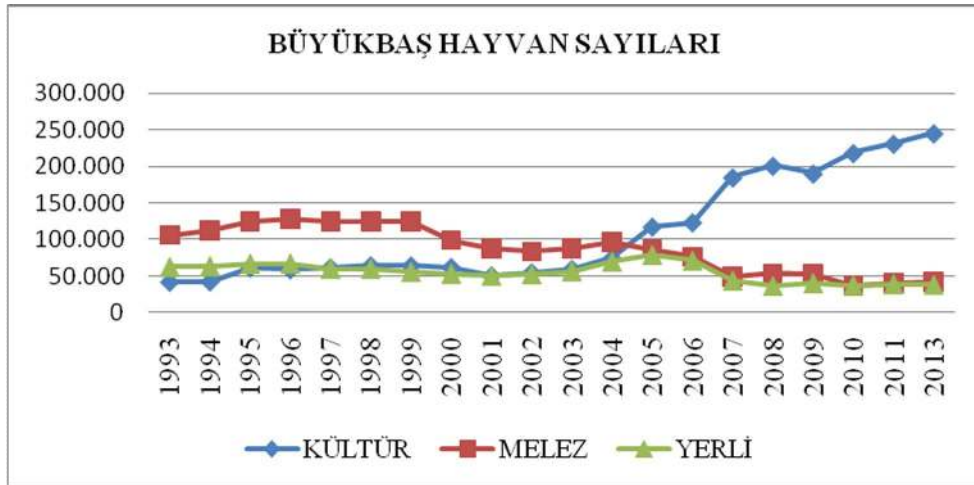
| Yıl         | Kültür    | Melez     | Yerli     | Toplam     |
|-------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| <b>2002</b> | 1.859.786 | 4.357.549 | 3.586.163 | 9.803.498  |
| <b>2003</b> | 1.940.506 | 4.284.890 | 3.562.706 | 9.788.102  |
| <b>2004</b> | 2.109.393 | 4.395.090 | 3.564.863 | 10.069.346 |
| <b>2005</b> | 2.354.957 | 4.537.998 | 3.633.485 | 10.526.440 |
| <b>2006</b> | 2.771.818 | 4.694.197 | 3.405.349 | 10.871.364 |
| <b>2007</b> | 3.295.678 | 4.465.350 | 3.275.725 | 11.036.753 |
| <b>2008</b> | 3.554.585 | 4.454.647 | 2.850.710 | 10.859.942 |
| <b>2009</b> | 3.723.583 | 4.406.041 | 2.594.334 | 10.723.958 |
| <b>2010</b> | 4.197.890 | 4.707.188 | 2.464.722 | 11.369.800 |
| <b>2011</b> | 4.836.547 | 5.120.621 | 2.429.169 | 12.386.337 |
| <b>2012</b> | 5.679.484 | 5.776.028 | 2.459.400 | 13.914.912 |
| <b>2013</b> | 5.954.333 | 6.112.437 | 2.348.487 | 14.415.257 |

Türkiye’de et üretiminin yaklaşık %55’ini tavuk eti oluşturmaktadır. Geriye kalan %45’lik üretimin ise yaklaşık %76’sı sığırdan, %24’ü ise koyun, keçi, manda ve diğer hayvan türlerinden sağlanmaktadır (TÜİK, 2013).

Sığırcılıktan elde edilen gelirlerin büyük bölümünü süt üretimi oluşturmaktadır. Özellikle entansif tarımın uygulandığı ülkelerde ıslah programlarının temel hedefi döl verimi ile süt verimi ve kalitesinin arttırılmasıdır. Bu nedenle, entansif tarımın

yaygınlaşması ile kültür ırkı ve kültür ırkı melezi yetiştiriciliği yaygınlaşmaktadır. Yerli ırklarımızın bazı verim özellikleri bakımından potansiyellerinin düşük olması yanında, mera alanlarının daralması ile de yerli ırkların sayısal azalışı arasında ilişki olduğu söylenebilir.

Türkiye’de kırmızı et üretiminde, büyük ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Sığırın Dünya ve Avrupa Birliği (AB) et üretimindeki payı sırasıyla % 22.8 ve % 18.7 olarak hesaplanabilmektedir. Koyun-keçinin Dünya ve AB et üretimindeki payı ise yine aynı sıra ile % 5 ve % 2.5’dir. Bu değerlerden; dünya et üretiminde domuz, tavuk ve sığırın önemli bir yer aldığı, koyun, keçi ve mandanın katkılarının sınırlı olduğu anlaşılmaktadır (Anonim,2012a).



Şekil 2.1.Aydın iline ait yıllara göre büyükbaş hayvan sayıları

Aydın iline ait yıllara göre büyükbaş hayvan sayılarının değişimi, kültür ırkı hayvanlar, bunların yerli ırklarla melezleri ve yerli ırklar için Şekil 2.1.’de verilmiştir. Aydın ilinde 1993 yılında 42.110 baş olan kültür ırkı sığır sayısı 20 yıllık süreçte %582 artarak 2013 yılında 245.232 başa yükselmiştir. Yine 1993 yılında 62.380 baş olan yerli sığır sayısı 20 yıllık süreçte yaklaşık olarak %62 azalarak 2013 yılında 38.679 başa gerilemiştir (TÜİK, 2013).Yerli sığırlardaki bu denli sayısal düşüşün nedenleri arasında, yerli ırkların et ve süt verimleri bakımından kültür ırklarıyla yarışamaması, kamu politikalarının ve desteklemelerinin kültür ırklarına yöneltilmesi, kimi bölgelerde yaygınlaşan entansif tarıma, ekstansif şartların hayvanı olan yerli ırkların uygun olmaması,

kırsal yaşam koşullarının iyileştirilmesine ve geleneksel üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğine yönelik önlemlerin alınmaması sayılabilir.

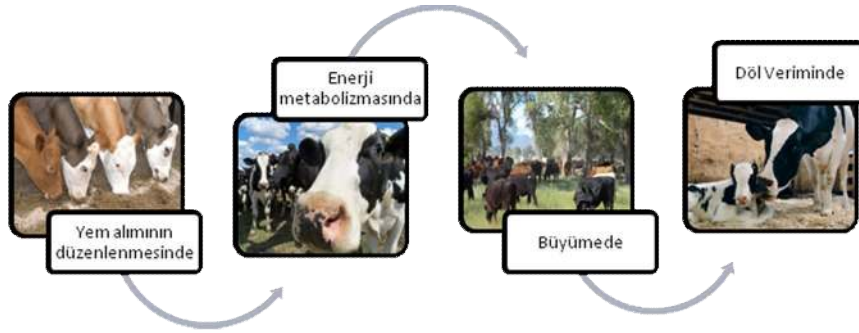
Ülkemizde yıllara göre kesilen hayvan (sığır) sayıları ve et üretim miktarları Çizelge 2.2.'de özetlenmiştir (TÜİK, 2013). 1992-2013 yılları arası dönemi kapsayan 22 yıllık süreçte kesilen sığır sayısında yaklaşık %66'lık bir artış olduğu, bunun et üretimine olan yansımalarının ise %189 artış şeklinde olduğu anlaşılmaktadır. Bu oranlar dikkatle incelendiğinde birim hayvan başına üretilen et miktarında önemli bir artış olduğu ortadadır. Bunun en temel iki sebebi; daha yüksek et üretim potansiyeline sahip kültür ırkı veya melezi sığırların oranının artması ve entansifleşme eğilimi ile bakım-besleme şartlarında iyileşme sağlanmasıdır.

Çizelge 2.2. Türkiye'de yıllara göre kesilen hayvan sayıları ve üretilen sığır eti miktarları

| YIL  | Kesilen hayvan sayısı (baş) | Et üretim miktarı (ton) | YIL  | Kesilen hayvan sayısı (baş) | Et üretim miktarı (ton) |
|------|-----------------------------|-------------------------|------|-----------------------------|-------------------------|
| 1992 | 2.064.982                   | 300.652                 | 2003 | 1.591.045                   | 290.455                 |
| 1993 | 2.085.350                   | 296.066                 | 2004 | 1.856.549                   | 364.999                 |
| 1994 | 2.249.483                   | 316.654                 | 2005 | 1.630.471                   | 321.681                 |
| 1995 | 1.820.770                   | 292.447                 | 2006 | 1.750.997                   | 340.705                 |
| 1996 | 1.816.000                   | 301.828                 | 2007 | 2.003.991                   | 431.963                 |
| 1997 | 2.382.346                   | 379.541                 | 2008 | 1.736.107                   | 370.619                 |
| 1998 | 2.200.475                   | 359.273                 | 2009 | 1.502.073                   | 325.286                 |
| 1999 | 2.006.758                   | 349.681                 | 2010 | 2.602.246                   | 618.584                 |
| 2000 | 2.101.583                   | 354.636                 | 2011 | 2.571.765                   | 644.906                 |
| 2001 | 1.843.320                   | 331.589                 | 2012 | 2.791.034                   | 799.344                 |
| 2002 | 1.774.107                   | 327.629                 | 2013 | 3.430.723                   | 869.292                 |

## 2.2. Leptin Geni Doğası

Leptin geni; hayvanların büyüme ve enerji dengesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan büyük etkili bir gendir. Yapılan çalışmalarda leptin geninin, sığırların yem alımının ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde, büyüme, vücut ağırlığı, canlı ağırlık, döl verimi üzerinde, hastalıklara karşı direnç mekanizmasında önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur (Barb, 1999; Campfield vd., 1995; Fruhbeck vd., 1998; Houseknecht ve Portocarrero, 1998; Liefers vd., 2005b; Macajova vd., 2004).

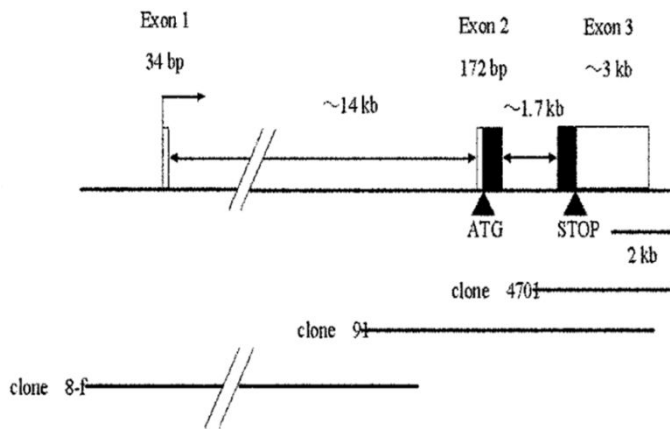


Şekil 2.2. Leptin geninin sığırlarda bazı verimler üzerine etkileri

Leptin geninin sığırlarda bazı verimler üzerine etkileri Şekil 2.2.'de verilmiştir. Farklı etçi sığır ırkları ile yapılan araştırmalarda leptin genindeki polimorfizm ile yem tüketimi ve yemden yararlanma arasında bir ilginin olduğu ve bazı karkas özelliklerinin genotiplere göre farklılaştığı gözlenmiştir (Buchanan vd., 2002).

### 2.2.1. Leptin Geninin Yapısal Özellikleri

Leptin, adipoz doku tarafından salgılanan (Itossner ,1998), yem tüketimi ve yem değerlendirme, enerji dengesi, metabolizma ve üremenin denetiminde (Block vd., 2003; Liefers vd., 2002) önemli rol oynayan 16 kDa ağırlığında polipeptit bir hormon olup, ilgili gen 3 ekson ve 2 intron bölgesine sahiptir. Sığır 4. Kromozomunda yer alan leptin geninin yapısı (Yukio vd., 2002) Şekil 2.3.'te verilmiştir.



Şekil 2.3. Sığır leptin geninin yapısı

Plazma leptin seviyesi, vücuttaki yağ miktarı ve enerji dengesini etkileyen önemli bir faktördür (Block vd.,2003). Sığır ve koyunlarda plazma leptin seviyesi vücuttaki yağ miktarının ve enerji dengesinin artışına paralel olarak artmaktadır (Blache vd., 2000; Delavaud vd., 2000; Ehrhardt vd., 2000).

### **2.2.2.Leptin Geni Polimorfizmi ve Sığırlardaki Canlı Ağırlık Artışına Etkisi**

Leptin geninin hem intron hem de ekson bölgeleri sekanslandığında, toplamda 20 farklı polimorfik bölge gözlemlenmektedir. Leptin geninin ekson 2 bölgesinde 2 Kısıtlanmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism / RFLP)belirlenmiştir: *ClaI* (bir aminoasitin tirozindenfenilalanine dönüşmesine yol açan A/T bazdeğişikliği) ve *Kpn2I* (bir aminoasitin argininden sisteine dönüşmesine yol açan C/T bazdeğişikliği) gözlemlenmektedir. Genin ekson 3 bölgesinde de 2 farklı RFLP tespit edilmiştir: *NruI* (bir aminoasitin valinden alanine dönüşmesine yol açan C/T bazdeğişikliği) ve *HphI* (bir aminoasitin alaninden valine dönüşmesine yol açan C/T bazdeğişikliği) ayrıca intron 2 bölgesinde bir *Sau3AI* polimorfizmi tespit edilmiştir. Bunlara ilave olarak BovMap veri tabanında 19 farklı tek nükleotid polimorfizmi listelenmiştir (Konfortov vd., 1999).

Tek bir nükleotid mutasyonu (bir aminoasitin argininden sisteine dönüşmesine yolaçan C/T bazdeğişikliği) allellik çeşitliliğinin adipoz dokulardaki leptin mRNA seviyeleriyle alakalı olduğu ve ergin inekteki yağ depolanmasını artırdığı gözlemlenmiştir (Buchanan vd., 2002).

### **2.2.3. Leptin Salgılanmasının Düzenlenmesi**

Leptinin salgılanma düzeyi, vücut yağ kitlesi ve enerji dengesine bağlıdır. Kan plazmasındaki düzey üretilen miktar ile orantılıdır (Buchanan vd., 2003). Leptininsalgılanması altı reseptörün etkisi altındadır. Obezlerde ve dişilerde daha fazla salgılanmaktadır. Laktasyondaki süt ineklerinde yapılan çalışmalar insulin ve glukozun plazma leptin düzeyini artırdığını; plazma leptin düzeyi düştüğünde ise büyüme hormonu ve serbest yağ asitlerinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Block vd., 2003).

#### **2.2.4. Leptin Reseptörleri**

Leptinin OB-Rb (uzun, tek form) ve OB-Ra (kısa 5 form) olmak üzere iki tip reseptörü bulunur. OB-Rb hücre içi sıvılara sinyal gönderen tek izoformdur. En fazla hipotalamusta bulunmasına rağmen süt sığırlarında yapılan çalışmalar sonucunda böbrek, dalak, karaciğer, iskelet kasları, kalp, testis, akciğer, abomasum, duodenum, jejunum, ileum, beyin ve yağ dokuda da bulunduğu tespit edilmiştir (Chelikani vd., 2004).

OB-Ra reseptörlerin beyin damarları ve sinir ağında bulunması, leptinin merkezi sinir sistemine taşınmasında önemli görev üstlendiğini göstermektedir. Kısa form reseptörlerin bulunduğu doku ve organlarda (böbrek, karaciğer, dalak, hipofiz, beyindamarları) bulunur (Chelikani vd., 2004).

#### **2.2.5. Leptin Geninin Yem Tüketimi ve Enerji Metabolizmasına Etkisi**

Leptinin süt sığırlarında iştah ve yem tüketimi üzerine etkisi hipotalamusta gerçekleşmektedir. Doğum sonrası süt ineklerinde enerji yetersizliği plazma leptin düzeyinin düşmesine neden olmaktadır. Süt veriminin düşmesine bağlı olarak enerji yetersizliğinin ortadan kalkması, leptin konsantrasyonunun yükselmesine neden olmaktadır. Laktasyon başındaki süt sığırlarının, yem tüketimleri düşük ve negatif enerji dengesinde olduklarında, leptin düzeyi de düşük olmaktadır (Liefers vd., 2005a).

#### **2.2.6. Obezite-Leptin İlişkisi**

Obez, aşırı yağ birikimi anlamına gelmekte ve obezite nedeni olarakta aşırı yeme gösterilmektedir (Friedman, 2003). Obez hayvanlarda leptin konsantrasyonunun düşük olduğu belirlenmiştir. Leptin genine sahip olmayan farelerde sinirsel uyarılarla iştahlarının arttığı ve fazla yiyerek yağlandıkları belirlenmiştir (Pinto vd., 2004). Yağlı ergin Şarole (Charolois) ve Siyah Alaca ırkı inekler, yaşama payı enerji ihtiyacının yüzde 30'u düzeyinde beslemeye tabi tutulduklarında, yağlı ergin hayvanlarda yem tüketiminin fazla olduğu ve yağ dokudaki hücrelerde artış olduğu görülmüştür. Düşük düzeyde beslenen zayıf ineklerde plazma leptin seviyesi düşmüş, yağlı ineklerde artmış; besleme düzeyi yükseltildiğinde ise plazma leptin seviyesi de yükselmiştir (Delavaud vd., 2006). Angus, Şarole,

Hereford buzağı, düve ve boğalarla yapılan besi denemesinde boğalarda karkas yağ doku kitlesine bağlı olarak plazma leptin seviyesinin yüksek olduğu, genç buzağılarda ise daha düşük olduğu belirlenmiştir (Geary vd., 2003).

### **2.3. Leptin Gen Polimorfizmini Belirlemek İçin PCR-RFLP Yöntemi İle Yapılmış Çalışmalar**

#### **2.3.1. Leptin Polimorfizminin Besi, Karkas ve Canlı Ağırlık Özellikleri ile İlişkisi**

Zwierzchowski vd. (2001a) farklı etçi sığır ırkları ile yaptıkları araştırmada leptin genindeki polimorfizm ile yem tüketimi ve yemden yararlanma arasında bir ilgininolduğunu ve bazı karkasözelliklerinin genotipik farklılıktan etkilendiğini göstermişlerdir. Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar AA genotipli boğaların daha yüksek yem tüketimine sahip olduğunu, AB genotiplilerin ise parçalanan karkastan seçilen örneklerde daha fazla yağsız et ürettiklerini ortaya çıkarmıştır. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda leptin geninin karkas özellikleri ve yem tüketimi için markör gen olarak kullanılabileceğini ifade etmektedirler.

Buchanan vd. (2002) gebeliğin olumsuz etkileri nedeniyle yem alımının sınırlandığı laktasyonun ilk dönemlerinde yüksek süt veriminin devam ettirilebilmesi için kuru dönemde vücutta yağ depolanmasının önemli olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, 4 farklı etçi sığır ırkından oluşan (Angus, Hereford, Simental ve Charolais) toplam 154 boğa üzerinde leptin geninin ekson 2 bölgesindeki *Kpn2I* polimorfizmini PCR-RFLP yöntemiyle tespit etmek ve bu baz değişikliğinin et sığırlarında karkas yağlanması üzerine etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, T allelini artan yağ depolanması ve yağ dokuda daha yüksek seviyede leptin mRNA'sı ile ilişkili bulmuşlar ve aynı genetik varyasyonun süt sığırlarında da mevcut olduğunu bildirmişlerdir.

Oprzadek vd. (2003), Siyah-Alaca ırkıyla yaptıkları araştırmada karkas özellikleri ile polimorfik leptin geni varyantları arasında önemli ilişkiler bulunduğunu bildirmişlerdir.

Lusk (2006), yapmış olduğu çalışmada leptin geni üzerindeki iki tek nükleotid değişiminin (UASMS2 ve R25C) canlı ağırlık ve sırt yağı kalınlığı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda R25C polimorfizminin tek başına canlı ağırlık ve sırt yağı kalınlığına etki etmediği, ancak UASMS2

polimorfizminin canlı ağırlık üzerine etkisinin önemli düzeyde ( $P<0.001$ ) olduğu bulunmuştur. Canlı ağırlık artışı UASMS2-CC genotipli hayvanlarda daha düşük, UASMS2-TT genotipli hayvanlarda ise daha yüksek olmuştur. UASMS2 ve R25C polimorfizmlerinin kombine etkileri araştırıldığında ise R25C-CC / UASMS2-TT genotipine sahip hayvanlarda sırt yağı kalınlığının hızlı bir şekilde arttığı, R25C-CC / UASMS2-CC genotipine sahip hayvanlarda ise sırt yağı kalınlığının çok yavaş arttığı gözlemlenmiştir ( $P<0.001$ ).

Zhang ve Scarpace (2006), yaptıkları çalışmada, 539 baş Nanyang (NY), Quinchuan (QC), Luxi (LX), Xizhen (XZ) ve Siyah Alaca sığır ırklarında leptin geni polimorfizmlerinin, canlı ağırlık, ve bazı vücut parametreleri üzerine etkilerine bakmışlardır. Farklı dönemlerde genotiplere ait canlı ağırlıklar Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Bazı sığır ırklarında genotiplere ait çeşitli dönem ağırlıkları (kg)

| Özellikler     | Genotipler   |              |              |
|----------------|--------------|--------------|--------------|
|                | AA           | AB           | BB           |
| Doğum ağırlığı | 30.90±4.05   | 30.26±12.48  | 29.28±1.55   |
| 6.ay ağırlığı  | 170.13±13.78 | 157.76±8.57  | 157.55±0.06  |
| 12.ay ağırlığı | 227.90±28.36 | 221.65±21.91 | 222.28±21.08 |
| 18.ay ağırlığı | 301.63±45.46 | 300.07±28.30 | 295.28±24.04 |

### 2.3.2. Leptin Polimorfizminin Süt Verim Özellikleri ile İlişkisi

Santos-Alvarez vd. (1999), süt sığırlarında buzağılamadan önce artan vücut kondisyonunun, laktasyon döneminde süt üretimini desteklemek için enerji depoları oluşturduğunu, fakat yine de süt sığırlarının laktasyonun erken dönemlerinde yüksek süt verimine karşın gebeliğin fiziksel ve hormonal olumsuz etkileri sonucu düşük düzeyde kuru madde almaları nedeniyle, negatif enerji dengesinde olduklarını bildirmişlerdir.

Komisarek vd. (2005), sun'i tohumlama boğası damızlık değerine dayalı süt verim özellikleri ile leptin geni polimorfik yapıları (Arg4Cys ve Ala59Val) arasındaki ilişkileri incelemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, Arg4Cys allel gen frekanslarını; C alleli 0.55 ve T alleli 0.45, Ala59Val allel gen frekanslarını ise; C alleli 0.73 ve T alleli 0.27 olarak tespit etmişlerdir. Arg4Cys TT genotipi süt ve protein veriminde çok önemli etkiye sahipken, yağ verimi üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur. Ala59Val genotipi verim özellikleri ile ilişkili bulunamamıştır.



Liefers vd. (2002), iki farklı sürüdeki toplam 595 baş Siyah Alaca ineğinde leptin geni intron 2. bölgesindeki *Sau3AI* ve ekson 3. bölgesindeki *HphI* polimorfizmlerinin laktasyonun ilk 15 haftasında süt verim özellikleri, canlı ağırlık ve yem tüketimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, *Sau3AI* polimorfizmi açısından AA, AB genotipleri arasında süt verimi, protein verimi, laktoz verimi ve yem tüketimi arasındaki farklılıkların önemli düzeyde olduğu, AB genotipli hayvanların AA genotipli hayvanlara göre 1.23 ila 1.32 kg/gün daha fazla süt verdiği, 0.39 kg/gün daha yüksek kuru madde tükettiği, 0.73 kg/gün daha fazla yem tükettiği, laktasyonun 15. haftasında ortalama 9.1 kg artış olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, sonuç olarak *Sau3AI* polimorfizminin süt veriminin yanı sıra yem tüketimi ve canlı ağırlık artışını etkilediğini bildirmişlerdir.

Buchanan vd. (2003), et sığırlarında artan yağ depolanması ve yağ dokuda daha yüksek seviyede leptin mRNA'sı ile ilişkili olduğu bilinen leptin geni ekson 2. bölgesindeki *Kpn2I* polimorfizminin süt sığırlarında süt verim özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla 416 baş Siyah Alaca ineğin genotipik ve laktasyon verilerini karşılaştırarak yaptıkları çalışmada tüm laktasyon dönemi boyunca TT ve TC genotipli ineklerin CC genotiplilere göre sırasıyla 1.5 ve 0.91 kg/gün fazla süt verdiğini; laktasyonun ilk 100 günlük döneminde TT ve TC genotipli ineklerin CC genotiplilere göre sırasıyla 2.44 ve 1.74 kg/gün fazla süt verdiğini; laktasyonun 101-200. günleri arası bu farkın TT ve TC genotipli inekler lehine sırasıyla 1.74 ve 1.38 kg/gün, laktasyonun 200. gününden sonraki dönemde ise TT ve TC genotipli inekler lehine sırasıyla 0.24 ve 0.22 kg/gün olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçta, leptin TT genotipinin süt yağ verimini değiştirmeksizin süt verimi ve protein verimindeki artışla ilişkili olduğunu ve T alleli bakımından homozigot hayvanların göstermiş olduğu süt verimi üstünlüğünün süt üreticileri için ekonomik yönden büyük önem taşıdığını ortaya koymuşlardır.

Madeja vd. (2004), 117 baş Polonya Alacası Boğa üzerinde yaptıkları çalışmada süt ve protein verimi bakımından damızlık değerleri üzerine ekson 3. bölgesindeki *HphI* polimorfizminin etkisinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Kulig vd. (2005a), 860 baş Polonya Alacası ırkı ineğin süt verim özellikleriyle leptin geni üzerinde tespit edilen genotipler arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, 0.1 frekansının üzerindeki tek polimorfizmin LEP-C3100T/*Sau3AI* olduğunu ve CC/AA genotiplilerin 0.315, CT/AA genotiplilerin 0.272 ve CC/AB genotiplilerin 0.142 frekansında görüldüğünü bildirmişlerdir.

Bu genotipler ile süt, yağ ve protein verimleri arasındaki istatistiksel ilişkiler anlamlı olarak bulunurken, CC/BB genotiplilerin lehine olan bir üstünlük bildirmişlerdir.

Kulig vd. (2005b) 905 baş Polonya Siyah-Alaca ineğe ait süt verim özellikleriyle leptin geni *LEP/HphI* ile *LEP/Sau3AI* genotipleri arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, *LEP/HphI* için CC, CT ve TT genotiplerini sırasıyla 0.582, 0.364 ve 0.054, *LEP/Sau3AI* için ise AA, AB, AC, BB, BC ve CC genotiplerini sırasıyla 0.638, 0.189, 0.137, 0.015, 0.013 ve 0.008 oranlarında tespit ederlerken, bu genotiplerle süt, yağ ve protein verim özellikleri arasındaki ilişkilerin önemli olduğunu bildirmişlerdir ( $P \leq 0.01$ ). Çalışmada *LEP/HphI* CC ve *LEP/Sau3AI* BB genotipine sahip olan ineklerin üstün performans sergiledikleri ortaya konmuştur.

Moussavi vd. (2006), 238 baş Siyah Alaca ineği üzerinde PCR-RFLP yöntemini kullanarak leptin geni polimorfizmi ile verim özellikleri arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, AA genotipinin 0.89 ve AB genotipinin 0.11 frekansında olduğunu ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada, AB genotipi ile 305-günlük süt verimi arasında önemli derecede ( $P < 0.05$ ) ilişki bulunduğu tespit edilirken, B allelinin daha iyi döl verim performansına sahip olduğu gözlenmiştir.

Sadeghi vd. (2008), İran'da döl kontrolünden geçirilmiş Siyah Alaca boğalarında yaptığı çalışmada, TT genotipli boğaların TC ve CC genotipli boğalara göre süt, yağ ve protein verimi bakımından daha yüksek damızlık değerine sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Kulig vd. (2009) 181 baş Jersey ineğinde leptin gen polimorfizminin süt, yağ ve protein verimi ile protein ve yağ içeriklerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, A59V polimorfizminin süt, protein ve yağ verimini önemli derecede etkilediği ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), *Sau3AI* polimorfizminin ise etkisinin önemsiz olduğu, ancak, *Sau3AI* CC/TT genotipli ineklerin diğer genotiplere göre daha düşük süt yağı içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, A59V CC ve CT genotipli hayvanların damızlık olarak seçilmesinin süt, yağ ve protein veriminin artışına katkıda bulunabileceğini ifade etmişlerdir.

## 2.4. Et Verimi ve Kalite Özelliklerinin Islahı

### 2.4.1. Klasik Islah Programlarına Dayalı Seleksiyon

Islah kelimesi düzeltme, iyileştirme anlamına gelmektedir. Zirai üretim alanında baktığımızda, bir hayvan veya bitki türünden daha iyi verim alabilmek amacıyla yapılan işlemler silsilesini anlatmaktadır (Anonim, 2012b). İnsanlık ve toplumlar geçmişten günümüze, sürekli bir şekilde hayvanlardan daha iyi yararlanabilmek amacı ile belirli girişimlerde bulunmuşlardır. Yetiştiriciler başlarda tam olarak anlaşılamayan kalıtsallığı, zamanla üstün performanslı hayvanların sonraki nesillere, uygun çevre şartları sağlandığında, bu özelliklerini yavrularına bıraktıklarını görerek bu özelliği kullanmaya çalışarak anlamaya başlamışlardır. Bu durum kullanılarak tarihte farkında olmadan birçok ıslah çalışması yapılmıştır. Genetik yapı ve genetik yapının esasları XX. yüzyıl başlarından sonra anlaşılabilmiştir. Hayvan ıslahı, hayvanın genetik yapısının ve çevre şartlarının iyileştirilmesi ile yapılabilen bir süreç olmaktadır. Bu cümleden çıkaracağımız anlam, hayvan ıslahı genetik yapı ve çevre şartlarında meydana gelen iyileştirmelere bağlı olarak gerçekleşir.

Hayvanın genetik yapısı ve hayvana sağlanan çevre koşulları verim potansiyelini etkileyen iki önemli unsurdur. Hayvanın genetik değeri ne kadar iyi olursa olsun sağlanan çevre şartları iyi değilse hayvan potansiyelinin altında bir verim sergiler. Bununla birlikte, hayvana sağlanan çevre şartları ne kadar iyi olursa olsun o hayvanın genetik değeri iyi değilse veriminin çok yüksek olması beklenemez. Bu sınırlayıcı faktörler arasındaki dengeyi kurup en yüksek seviyeye çıkardığımız zaman esas amacımız olan az sayıda hayvandan minimum girdi ile en yüksek performansı alabiliriz. Bu amacı güderken yapmamız gereken, üstün performans sergileyen hayvanların çiftleşmesine izin verip sürü ortalamasının altında kalan hayvanları sürüden uzaklaştırmaktır. Bu işleme seleksiyon denilir. Seleksiyon kelime anlamı olarak seçme anlamına gelmektedir (Anonim, 2012c). Hayvancılık için seleksiyon, en iyi performansa sahip olan hayvanların seçilmesi veya alıkonularak sahip oldukları genetik değerleri bir sonraki generasyonlara bırakmasına izin verilmesi, performansı düşük olan hayvanların sürüden uzaklaştırılarak çiftleşmelerine izin verilmemesi anlamına gelmektedir.

Seleksiyon iki çeşittir, bunlardan ilki doğal seleksiyon ikincisi ise bizlerin yaptığı yapay seleksiyondur. Doğal seleksiyon şartlara ve çevreye uyum sağlamış

canlıların üreyebilmelerine izin veren, güçlü olan yaşar mantığı ile işleyen bir süreçtir. Yapay seleksiyon ise belirli bir verim yönünden en iyi olan hayvanların döl vermesine izin verilmesi şeklinde süren bir süreçtir. Bu iki seleksiyon çeşidi çoğu zaman birbirine zıt bir şekilde işleyiş gösterir. Verim yönünden genetik değerini ve bu verimi verebilmesi için çevresel koşullarını iyileştirdiğimiz bir canlı biyolojik olan sınırının üzerine çıktığı için doğa bu canlıyı ayıklama yoluna gitmektedir. Bu yüzden verim yönünden iyileştirirken insanların, bu canlılar için bir takım önlemleri de alması gerekmektedir. Seleksiyon yaparken her bir bireyin özellik için gösterdiği performanslar ayrı ayrı ele alınırken, aynı zamanda sahip olduğu diğer özelliklerinde performans değerlerinin bütünü ile ele alınmaktadır. Herhangi bir özellik bakımından iyi değerlere sahip olan hayvan diğer özellikler bakımından nadiren üstün olmaktadır. Bu yüzden seleksiyon yaparken, tek bir özellik bakımından değil, birçok özelliğin toplamının kombinasyonu şeklinde yapmamız gerekmektedir.

Birden fazla karakterin seleksiyonla geliştirilmesi için klasik ıslahla yapılan seleksiyon yöntemleri bulunmaktadır. Bu seleksiyon yöntemleri daha ayrıntılı incelenmesi gereken daha karışık ve daha fazla uğraş gerektiren seleksiyon modelleridir.

Günümüzde biyoteknoloji ve moleküler biyolojinin gelişmesi ile bu seleksiyon yöntemlerine destek olup çok daha hızlı ve doğru sonuçlar alınan yöntemler geliştirilmiştir (Aksoy, 2003). Yapay tohumlama ve embriyo transferini de konu aldığı için biyoteknoloji biraz daha geniş kapsamlıdır. Moleküler biyoloji ise daha yakın bir geçmişte ortaya çıkmasına rağmen hücrelerin, kromozomların ve genlerin anlaşılması, bunların işleyiş mekanizmalarının çözülmesi üzerine çok hızlı bir gelişme göstermiştir. Bu iki genç bilim alanının hayvan ıslahında da yardımcı araçlar olarak kullanılabilecekleri anlaşıldıktan sonra çalışmalar yoğunlaşıp hız kazanmıştır (Aksoy, 2003).

#### **2.4.2. Markör veya Gen Destekli Seleksiyon**

Hayvancılıkta markör veya belirteç destekli seleksiyon (MAS: Marker Assisted Selection) ile son dönemlerde dile getirilen gen destekli seleksiyon (GAS: Gene Assisted Selection) hayvan genetiği ile moleküler biyoloji bilim dallarının birleşiminin bir ürünüdür. Hayvanın ortaya koyacağı fenotipi etkileyen etmenler genetik ve çevre unsurlarıdır. Kantitatif kalıtım çok sayıda genin etkisi altında olan

kalıtım biçimidir. Yani bir diğ er ifade ile poligenik bir kalıtım modeli teşkil etmektedir. Poligenik kalıtıma sahip özellikler çevre etmenlerinden en üst düzeyde etkilenmektedirler. Bu etkilenim yüzünden bazı verim yönlü genlerin etkileri çevre faktörleri yüzünden maskelenebilmektedir.

Biyoteknolojinin gelişmesi ile canlılarda verim yönünden aday genlerin bulunmasına dair, pratik yöntemler geliştirilmiştir. Fenotipte ileriki dönemlerde etkileri ortaya çıkan bazı verim genleri, bu yöntemler sayesinde hayatın çok daha erken döneminde tahmin edilebilmektedir.

Markör destekli seleksiyon yaşa ve cinsiyete bağımlı olmaksızın yapılabilmekte (Sellier, 1994) ve bu nedenle seleksiyon yoğunluğunu kantitatif yöntemle göre daha etkili kullanmayı mümkün kılmaktadır. Öte yandan, markör destekli seleksiyon kantitatif genetik yöntemlerinde kullanılan bilgilere ek olarak destekleyici bilgiler sunmakta, bu nedenle gerçek damızlık değerin tahmin edilmesindeki isabeti artırmaktadır. Bir diğ er avantaj ise kuşak aralığının seleksiyon ilerlemesine olan etkisinin iyileştirilmesidir. Markör destekli seleksiyonda, hayvanla ilgili genetik bilgiler doğumla birlikte ya da çok genç yaşta elde edilebilir. Bu nedenle, hayvanın verim zamanını beklemeye gerek kalmadan gerekli seleksiyon uygulanabilir (Ün vd., 2000).



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Hayvan Materyali

Çalışma, serbest olarak yetiştirilen, halk arasında ‘‘Kara Sığır’’ olarak bilinen yerli sığırlarda yürütülmüştür. Araştırmanın hayvan materyalini, Aydın ilinin Çine ilçesi Akçaova Mahallesi, Karpuzlu ilçesi Akçaabat Mahallesi, Merkez Ilıcabaşı, Konuklu ve Zeytinköy Mahallelerinde bulunan yetiştirici sürülerinde bulunan toplam 117 baş sığır oluşturmıştır. Kan örneklerinin alındığı lokasyonların harita üzerindeki gösterimi Şekil 3.1.’de yer almaktadır.



Şekil 3.1.Örnekleme lokasyonlarının Aydın ili haritası üzerinde gösterimi

Farklı renkte bireyler mevcut olmakla birlikte siyah rengin daha ağırlıkta olduğu gözlenmiştir. Ekstansif yetiştirme sisteminin unsuru olan bu hayvanların et ve süt verimleri kültür ırklarıyla yarışmadığı için, dağlık arazilerinde serbestçe otlamaya bırakılmışlardır ve tüm besin ihtiyacını, özgür bir şekilde otlayarak karşılamaktadırlar. Bu hayvanların entansif koşullarda yetiştirilmesi rasyonel değildir. Yılın neredeyse 365 günü doğal ortamlarında özgürce otlayan ve yaşayan bu hayvanlara, kış aylarında yoğun kar yağışı ya da hayvanların kayıt altına alınması veya koruyucu aşılama amacıyla Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl veya İlçe Müdürlüklerinin yürüttüğü küpeleme, aşılama vb uygulamaları ve acil durumlar dışında müdahale edilmemektedir.

Hayatta kalma içgüdüleri, hastalık karşısında dayanıklılıkları, gelişmiş sindirim sistemleri, sağlam yapılı vücutları, güçlü tırnak yapıları ve coğrafyanın yerel

hayvanları olmaları sayesinde kültür ırklarının yapamadığını yaparlar, engeli arazide gezip otlayarak hayatta kalırlar.

Hayvan sahiplerinin görevi, ekili arazilere girmelerinin önlenmesi ve farkına varıldığı zaman hasta hayvanların tedavi edilmesinden ibarettir. Hayvanların doğal hayat döngüsü kendi kontrollerindedir. Konvansiyonel hayvancılıkta kullanılan boynuz köreltme, kastrasyon ve erkeklerin sürüden zorla ayrılması gibi yöntemler bu hayvanlar için söz konusu değildir. Dişiler doğal dölleme yoluyla gebe kalır, kendi kendilerine doğururlar. Bu şekilde üreticiye en düşük maliyetle bir ekonomik getiri sağlarlar. Hayvan sahipleriyle yapılan görüşmelerde hayvanların tamamen saf oldukları, dışarıdan farklı bir ırkın sürülerine katılmadığı ve hayvanların doğal aşım ile gebe kaldıkları bildirilmiştir.

Ağırlıklı olarak siyah renkte olan yerli sığırların yapısal özellikleri Yerli Kara sığırlar ile benzeşmektedir. Her ne kadar Yerli Kara sığır ırkının yetiştirme alanı olarak İç Anadolu gösterilsede diğer bölgelere yayılışı ve yetiştiriciliği konusunda kaynak mevcut değildir. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu (TAGEM, 2009) kapsamında Yerli Kara sığır ırkı için verilen fotoğraf ve bilgiler değerlendirildiğinde, Aydın ilinde doğada serbest yetiştirilen (yörede salma sığircılık olarak adlandırılmakta) ve kara sığır olarak adlandırılan sığırların Yerli Kara sığırlara benzeştiği görülmektedir. Ancak, ırk tanımı anlamında net karar verebilmek için ayrıntılı morfolojik ve moleküler genetik tanımlama ve karşılaştırmaların yer aldığı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu (TAGEM, 2009) kapsamında Yerli Kara sığırlar için yapılan tanımlama izleyen şekildedir. Yükseklik ve ağırlık itibarıyla küçük yapılı, kısa boynuzlu sığır ırklarındandır. Boyun genellikle orta uzunlukta, ince kıvrımlar mevcut ve gerdan az gelişmiştir. Vücut uzuncadır. Göğüs orta derecede derindir. Kaburgaların kısa olması nedeniyle göğüs omuzlar arkasında çok dardır. Omuz genellikle dar ve uzun olup meyillidir. Sağrı sivri, meyilli ve cıdagoya nazaran daha yüksektir. Sırt çizgisi düzdür. Arka kısım daha geniş ve yüksektir. Kulağın iç yüzeyi sık kalın kıllarla örtülüdür. Baş buruna doğru incilir, göz çukurları belirgindir. Boğalarda baş büyükçe, profili hafif dışbükeydir. İneklerde baş dar ve küçük, yüz uzun ve burun ucunda dışbükeylik bulunmaz. Kemik yapısı incedir. Bacaklar kısa, tırnaklar sağlamdır. Kıl rengi kuzguni siyahtır. Genellikle derisi kalın ve serttir. Erkek ve dişiler boynuzludur. Boynuz genellikle ince yapılı ve ay biçimindedir. Yetersiz bakım ve besleme



koşullarına oldukça dayanıklı, hastalık ve zararlılara karşı direnci yüksektir. Analık içgüdüleri gelişmiştir. Buzağısını görmeyince sütünü vermez.

Çalışmanın hayvan materyalini oluşturan yerli sığırlardan kimi hayvanlara ait fotoğraflar Şekil 3.2.'de verilmiştir. Farklı renkte sığırlar olmakla birlikte siyah rengin daha ağırlıkta olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.2. Çalışmanın hayvan materyalini oluşturan hayvanlara ait kimi görseller

### 3.2. Metot

Çalışma kapsamındaki tüm laboratuvar çalışmaları Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve Muhafazası

Çalışma kapsamında örneklenen sığırların boyun toplardamarından (Vena jugularis) 4.5 ml kan örneği K3 EDTA içeren vakumlu tüplere alınmıştır.

Sığırların sürekli doğada serbest yaşamalarından dolayı yabani yapıda olmaları, sahipleri dışındaki insanlara alışkın olmamaları sonucunda kan örneklerinin alınması sırasında önemli sıkıntılar yaşanmıştır. Bu durum örneklenecek hayvan sayısında çok fazla artış yapmayı olanaksız kılmıştır.

Çalışmanın hayvan materyalini oluşturmak üzere örneklenen sığırların lokasyonları ve lokasyonlar bazında örneklenen hayvan sayıları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1.Sığırlara ait kan örneklerinin lokasyonlara göre dağılımı.

| <b>Lokasyon</b> | <b>Hayvan Sayısı</b> |
|-----------------|----------------------|
| Akçaabat        | 45                   |
| Akçaova         | 41                   |
| Konuklu         | 14                   |
| Ilıcabaşı       | 7                    |
| Zeytinköy       | 10                   |
| <b>Toplam</b>   | <b>117</b>           |

Alınan kan örnekleri, DNA izolasyonu basamağına kadar geçen sürenin uzunluğuna bağlı olarak buzdolabı (+4°C) veya derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilmiştir.

### 3.2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Sığırlardan alınan kan örneklerinden ticari izolasyon kiti kullanılarak DNA (Invitrogen, Medsantek, İzmir) izole edilmiştir. DNA izolasyonu üretici firma tarafından tavsiye edilen protokol kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

DNA ekstraksiyonunda öncelikle buzdolabı ya da derin dondurucuda bulunan kan örnekleri dışarı çıkarılıp, oda sıcaklığına kadar ısınmaları sağlanmıştır.

Steril olan mikro santrifüj tüpüne öncelikle 200 µl kan örneği konmuştur. Üzerine 20 µl Proteinaz K ve 20 µl RNase A eklenmiştir. Karışım homojen bir hal alana kadar vortexlenip karıştırılarak oda sıcaklığında 2 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

Karışımın üzerine 200 µl PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer eklenip tekrar homojen bir hal alması için güçlü bir şekilde vortexlenmiştir. Proteinlerin parçalanması için 55°C’de 10 dakika termal blokta inkübasyona bırakılmıştır. Termal bloktan alınan örneklerin üzerine 200 µl %96-100 etanol eklenip, 5 saniye homojen bir hal alabilmesi için iyice vortexlenmiştir.

Kit içerisinde yer alan PureLink™ Spin kolonu, toplama tüpünün içine yerleştirilmiştir. Yaklaşık 640 µl olan lizat karışımı, toplama tüpünün içindeki kolona pipetlenmiştir. 10.000 g’de 1 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.

Toplama tüpleri santrifüj sonrası içindeki sıvı ile birlikte atılıp, kolonlar yeni bir toplama tüpünün içine yerleştirilmiştir. Kolonun içine 500 µl Wash Buffer 1 eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g’de santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünün içindeki sıvı atılıp kolona 500 µl Wash Buffer 2 eklenmiştir. Oda sıcaklığında en yüksek hızda 3 dakikasantarifüj yapılmıştır.

Daha sonra kolon steril bir 1.5 ml’lik mikro santrifüj tüpünün içine yerleştirilmiştir. Kolon içine 100 µl Elution Buffer eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Oda sıcaklığında en yüksek hızda 3 dakika santrifüj uygulanmıştır. Kolon içerisine tekrar 100 µl Elution Buffer eklenip oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyondan sonra yine oda sıcaklığında en yüksek hızda 3 dakika süreyle santrifüj edilerek sonuçta toplam 200 µl Elution Buffer içinde genomik DNA örneği elde edilmiştir.

Elde edilen DNA örneklerinin kantite ve kalitesi DNA spektrofotometresinde (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, USA) kontrol edilmiş ve analize uygun olmayan DNA örnekleri için izolasyon tekrarlanmıştır. Ardından, DNA örnekleri analizler yapılana dek buzdolabında saklanmıştır.

### **3.2.3. PCR ile DNA Çoğaltımı**

Tüplerdeki toplam hacim 25 µl olacak şekilde 10X PCR buffer, MgCl<sub>2</sub>, dNTP karışımı (ATP, GTP, CTP, TTP), ileri (Forward) ve geri (Reverse) olmak üzere iki primer, Taq DNA polimeraz enzimi, genomik DNA ve steril ddH<sub>2</sub>O içeren PCR karışımı oluşturulmuştur. Yapılan optimizasyon denemeleri ile PCR karışımını oluşturan bileşenlerin en uygun miktarları belirlenmiştir. Her bir DNA örneği için PCR karışımına katılan bileşenlerin hacim ve son konsantrasyonlarına ait ayrıntılar Çizelge 3.2.’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. PCR karışımı bileşenlerinin hacim ve son konsantrasyonları.

| Bileşen Adı              | Konsantrasyon | Son Konsantrasyon |
|--------------------------|---------------|-------------------|
| ddH <sub>2</sub> O       | -             | -                 |
| 10X PCR Buffer           | 10X           | 1X                |
| MgCl <sub>2</sub>        | 25 mM         | 1.5 mM            |
| dNTP Karışımı            | 2.5 mM        | 0.25 mM           |
| Forward Primer           | 100 µM        | 2.5 µM            |
| Reverse Primer           | 100 µM        | 2.5 µM            |
| <i>Taq</i> DNA Polimeraz | 5 U/µl        | 1U                |
| Genomik DNA              | 50 ng/µl      | ~100ng/µl         |

Leptin gen polimorfizmine uygun bölgenin (ekson2 ile ekson3 arasındaki intron bölgesi) çoğaltımı için ileri ve geri olmak üzere sığır genomu dizilimine özgün iki primer sentezletilmiştir (Çizelge 3.3). Primerleri sentezletebilmek için daha önceki literatür çalışmalarına bakılmış Sharifzadeh ve Doosti (2010) tarafından yapılan çalışmada ki primerler kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Leptin genotiplerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan primerler.

| Primer isimleri | Primer Baz Dizilimleri (5' -> 3') |
|-----------------|-----------------------------------|
| Lep F           | : TGGAGTGGCTTGTTATTTTCTTCT        |
| Lep R           | : GTCCCCGCTTCTGGCTACCTAACT        |

PCR aşamasında DNA'nın primer bölgelerinin çoğaltılabilmesi için, hazırlanan PCR karışımı 0.2 ml'lik ince cidarlı PCR tüpleri içerisinde thermal cycler (ABI Veriti) cihazına koyulmuş ve DNA çoğaltımı yapılmıştır. Primerlere özgü DNA bölgelerinin çoğaltılabilmesi için thermal cycler cihazında uygulanan program aşağıda verilen Çizelge 3.4.'te özetlenmiştir.

Çizelge 3.4. Thermal cycler cihazında kullanılan PCR programı

| Basamak                            | Sıcaklık | Süre      |
|------------------------------------|----------|-----------|
| Ön Ayrım (Pre denaturation)        | : 95°C   | 5 dakika  |
| Ayrım (Denaturation)               | : 95°C   | 40 saniye |
| Primerlerin Bağlanması (Annealing) | : 62°C   | 40 saniye |
| Uzama (Extension)                  | : 72°C   | 60 saniye |
| Son Uzama (Final Extension)        | : 72°C   | 10 dakika |
| Bekleme                            | : 4°C    | ∞         |

PCR aşaması sonucunda çoğaltılan, ilgili gene ait 422 bp uzunluğundaki DNA bölgesi genotipleme aşaması için restriksiyon enzimleri ile kesime tabi tutulmuştur.

#### 3.2.4. RFLP (Kısıtlanmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi)

Leptin geninin A ve B allellerinin ayrımı amacı için yapılan PCR tabanlı DNA çoğaltımı işlemi için bütün bireylerin gene ait hedef bölgelerinin çoğaltım işlemi tamamlanmıştır. Çoğaltılan bölgelerin var olup olmadıklarını görebilmek için ürünler öncelikle agaroz jelde görüntülenmiştir. PCR ile çoğaltım sonrası oluşan bölgelerin uzunluklarının bütün bireyler için eşit olmasından dolayı bireyler arası bir ayrım yapmak mümkün olamamaktadır. Dolayısı ile ayrım yapabilmek için çoğalttığımız bölgelerin bu bölgelere özgül kesim (restriksiyon) enzimleri ile işleme tabi tutulması gerekmektedir. A ve B allellerinin ayrımını yapabilmek için *Sau3AI* (Fermentas, Litvanya) enziminden faydalanılmıştır.

Restriksiyon enzimi ile kesim aşamasında PCR tüpleri içerisinde bulunan ve gene özgül çoğaltılmış DNA parçaları içeren 10 µl hacmindeki PCR ürünü üzerine Çizelge 3.5.'te verilen ve restriksiyon enzimini de içeren bileşenler eklenmiştir. PCR ürünü ve restriksiyon enzimi ile birlikte karışımı bulunan tüpler 37°C'de en az 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Çizelge 3.5. Leptin geninin allellerinin ayrımı için uygulanan restriksiyon işleminin bileşenleri

| Bileşenler             | 1 örnek için (µl) |
|------------------------|-------------------|
| PCR Ürünü              | 10                |
| ddH <sub>2</sub> O     | 16                |
| 10X Buffer             | 3                 |
| Sau3AI enzimi (10U/µl) | 1                 |
| <b>Toplam</b>          | <b>30</b>         |

Genin A ve B allellerinin ayrımına yönelik primer çiftleri ile çoğaltılan 422 bp uzunluğundaki PCR ürünü DNA fragmanlarının restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda; homozigot AA genotipi için 390 ve 32 bp uzunluğunda iki bant, homozigot BB genotipine sahip bireyler için 303, 88 ve 32 bp uzunluğunda üç bant ve heterozigot AB genotipine sahip bireyler içinde 390, 303, 88 ve 32 bp uzunluğunda dört bant oluşmaktadır. Restriksiyon enzimleri ile kesim sonrası oluşan bu DNA parçalarının ayrıştırılıp gözlemlenebilmesinde bir sonraki aşamayı elektroforez oluşturmaktadır. Leptin geninin spesifik primer çifti kullanılarak PCR’da çoğaltılan 422 bp’lik bölgesine ait dizilim (NCBI, 2014) ve primerlerin yerleşimi Şekil 3.3.’te verilmiştir.

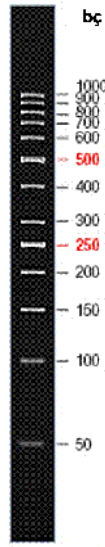
Şekil 3.3. Leptin genin PCR ile çoğaltılan 422 bp’lik bölgesine ait dizilim

### 3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR işleminden sonra çoğaltılan DNA bölgelerinin baz uzunluklarına göre ayırt edilebilmesi için agaroz jel elektroforezinden faydalanılmıştır. DNA parçalarının ayrımı için %2'lik agaroz jel kullanılmıştır. Bu jeli hazırlayabilmek için 2 gr agaroz hassas terazide tartılıp, ısıya dayanıklı bir şişe içine pH'sı 8.3'e ayarlanmış 100 ml 0.5X TBE çözeltisi eklenerek mikro dalga fırında kaynatılmıştır. Jel kaynarken arada fırından çıkarılarak içindeki agarozun tamamen çözündüğünü görebilmek için birkaç defa kontrol edilmiştir.

Tamamen içindeki agaroz çözündüğünde (homojen bir hal aldığı anda) fırından çıkarılıp 50-60 °C arası sıcaklığa kadar soğutulmuştur. Bu sıcaklığa ulaştıktan sonra cam şişenin içine, etidyum bromid türevi boyama işlemi yapan safe view boyası eklenmiştir. Artık tamamen hazırlanan agaroz jel, isminden de anlaşılabilir gibi jel halini alabilmesi için son hazırlık olan içine PCR-RFLP ürünlerinin yükleneceği kuyucukların oluşmasını sağlayacak tarakların takılı olduğu yatay elektroforez küvetine dökülerek katılması beklenmiştir. Katılan jelden taraklar kuyucukları bozmayacak kadar özenli bir şekilde çıkartılmıştır. Son olarak daha önceden hazırlanan 0.5X TBE çözeltisi elektroforez tankına dökülüp, elektroforez küveti içerisindeki hazırlanan jel tanka küvetle birlikte yerleştirilmiştir. Çıkartılan taraklar sayesinde oluşan kuyucuklara 10 µl PCR-RFLP içine 2µl yükleme boyası (6X Loading Dye) karışımı olacak şekilde elde edilen ürünler yüklenmiştir. Jelin ilk kuyucuğuna oluşacak bantları doğru yorumlayabilmek için gerekli olan 50bç-1000bç (50bp Gene Ruler, Thermo) DNA boy markörü kullanılmıştır (Şekil 3.4.).

Yükleme işlemi bittikten sonra elektroforez tankı elektroforez güç kaynağına bağlanarak örnekler agaroz jelde 100 voltta 45 dakika yürütülmüştür. Yürütme sonunda Jel Görüntüleme ve Dökümantasyon (Vilber Lourmat) sistemi kullanılarak UV ışık altında agaroz jel görüntülenip fotoğraflanmıştır. Bu görüntüleme sonucunda bireyler için genotip tayini direk olarak gözlemlenerek sayılarak yapılmıştır.



Şekil 3.4. DNA bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan DNA boy cetveli

### 3.2.6. Leptin Genotiplerine Yönelik Değerlendirmeler

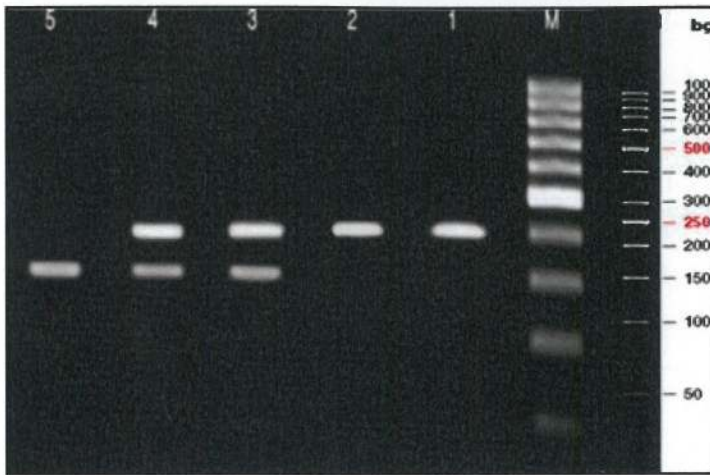
Jel fotoğraflarından her bireye ait genotip belirlenip not edildikten sonra leptin genetik varyantları bakımından gen ve genotip frekansları direkt sayım yöntemi ile belirlenmiştir. Gen ve genotip frekansları 6 lokasyon için ayrı ayrı hesaplanmakla birlikte popülasyonun tamamı için de hesaplanmıştır. Ayrıca lokasyonların veya popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını kontrol etmek üzere ki-kare ( $\chi^2$ ) testinden faydalanılmıştır. Tüm hesaplamalar ve  $\chi^2$  analizleri için PopGene32 programı (Yeh vd., 1997) kullanılmıştır.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

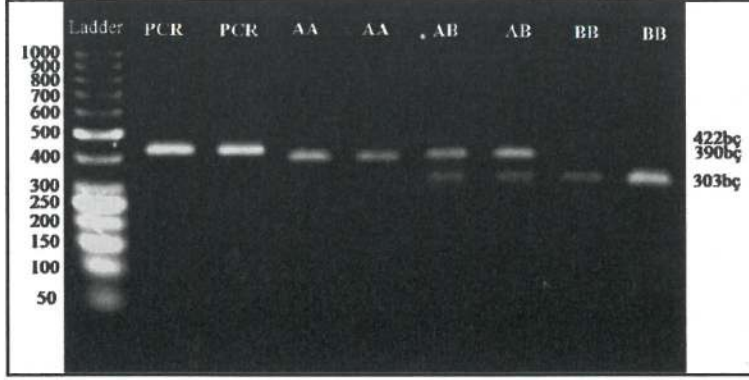
### 4.1. Leptin Genotiplerine İlişkin Gözlemler

PCR-RFLP sonucu oluşan bantlar safe view ile boyanmış agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve jel görüntüleme sisteminde fotoğraflanmıştır. Bunun sonucunda, literatürde (Sharifzadeh ve Doosti, 2010) genotipler için sunulan bant görüntüsünün (Şekil 4.1.) benzeri elde edilmiştir. Şekil 4.1.'de verilen jel görüntüsündeki sütunlardan; M ile gösterilen 1000 bç'lik ladder, 1 ve 2 ile gösterilen AA genotipi, 3 ve 4 ile gösterilen AB genotipi, 5 ile gösterilen BB genotipi görüntüsüdür.



Şekil 4.1. Literatürde belirtilen bant uzunluklarına ait jel görüntüsü

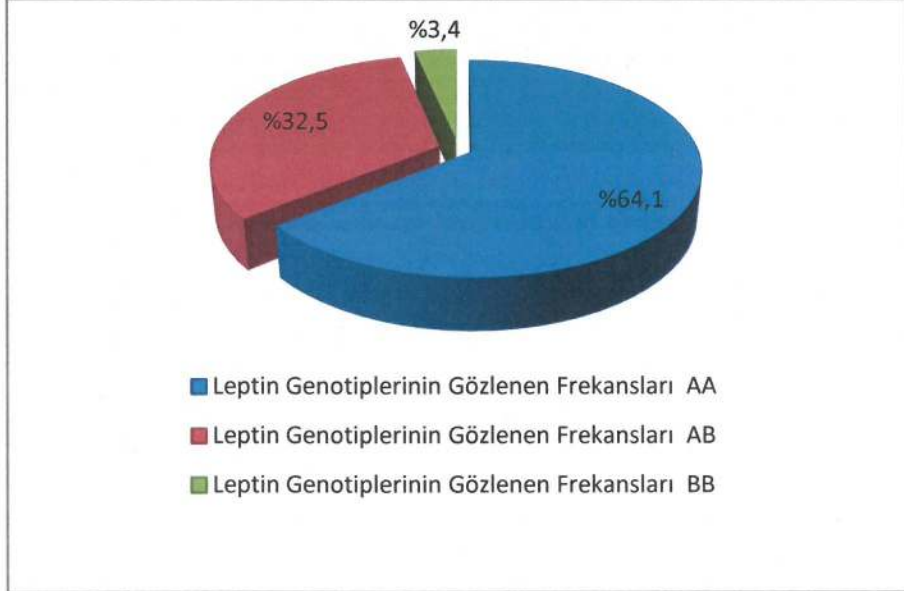
Leptin gen polimorfizmini belirleyebilmek için yapılan, genin A ve B allellerinin ayırımına yönelik primer çiftleri ile çoğaltılan 422 bç uzunluğundaki PCR ürünü DNA fragmanlarının restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda; Aydın'da yetiştirilen yerli sığırlarda da A ve B allellerine rastlanmıştır. Belirtilen AA genotipi için 390 ve 32 bç uzunluğunda iki bant, BB genotipi için 303, 88 ve 32 bç uzunluğunda üç bant ve de AB genotipi için 390, 303, 88 ve 32 bç uzunluğunda dört bant oluşmaktadır. Bazı hayvanların leptin geni A ve B allelleri bakımından genotiplere ait jel görüntüsü Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Çalışma için kullanılan sığırlardan bazılarının leptin geni A ve B allelleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü

#### 4.2. Leptin Geni Bakımından Gen ve Genotip Frekansları

Toplam 117 baş sığırın oluşturduğu örnekleme leptin genotiplerinin dağılımı, diğer bir ifade ile gözlenen yüzdeleri Şekil 4.3.'te verilmiştir. Genel popülasyonda AA, AB ve BB genotiplerinin görünme sıklıkları sırası ile %64.1, %32.5 ve %3.4 olarak bulunmuştur.



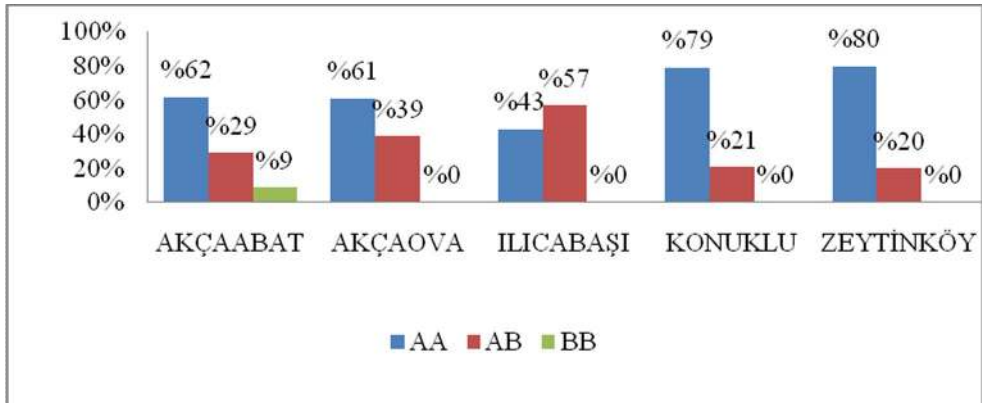
Şekil 4.3.Örneklenen popülasyonun genelinde leptin genotiplerinin oransal dağılımı

Leptin geni bakımından yerli sığırlarda genotiplerin sayısal dağılımları ve gözlenen frekansları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda her üç genotip gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1. Leptin geni bakımından genotiplerin sayısal dağılımı ve gözlenen genotip frekansları

| İrk/Genotip        | n   | Leptin Genotiplerinin Gözlenen Sayıları |    |    | Leptin Genotiplerinin Gözlenen Frekansları |       |       |
|--------------------|-----|-----------------------------------------|----|----|--------------------------------------------|-------|-------|
|                    |     | AA                                      | AB | BB | AA                                         | AB    | BB    |
| <b>Yerli Sığır</b> | 117 | 75                                      | 38 | 4  | 0,641                                      | 0,325 | 0,034 |

Farklı lokasyonlardan kan örnekleri alınan yerli sığırlara ait popülasyonda leptin genotiplerinin dağılımı Şekil 4.4. ve Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Akçaabat'ta en yüksek görülme sıklığı AA genotipine (%62) ait olurken, AB genotipli bireylerin oranı %29, BB genotipli bireylerin oranı ise %9 olarak tespit edilmiştir. Akçaova'da AA genotipli bireylerin oranı %61, AB genotipli bireylerin oranı %39 olup, BB genotipli bireylere ise rastlanılmamıştır. Ilıcabaşı'nda AA genotipli bireylerin oranı %43, AB genotipli bireylerin oranı %57 ve BB genotipli bireylere ise rastlanılmamıştır. Konuklu'da AA genotipli bireylerin oranı %79, AB genotipli bireylerin oranı %21 ve BB genotipli bireylere ise rastlanılmamıştır. Zeytinköy' de AA genotipli bireylerin oranı %80, AB genotipli bireylerin oranı %20 ve BB genotipli bireylere ise rastlanılmamıştır.



Şekil 4.4. Örnekleme lokasyonlarına göre leptin geni genotiplerinin oransal dağılımı

Çizelge 4.2. Farklı lokasyonlardan kan örnekleri alınan yerli sığırlarda leptin geni bakımından genotiplerin dağılımı ve gözlenen genotip frekansları

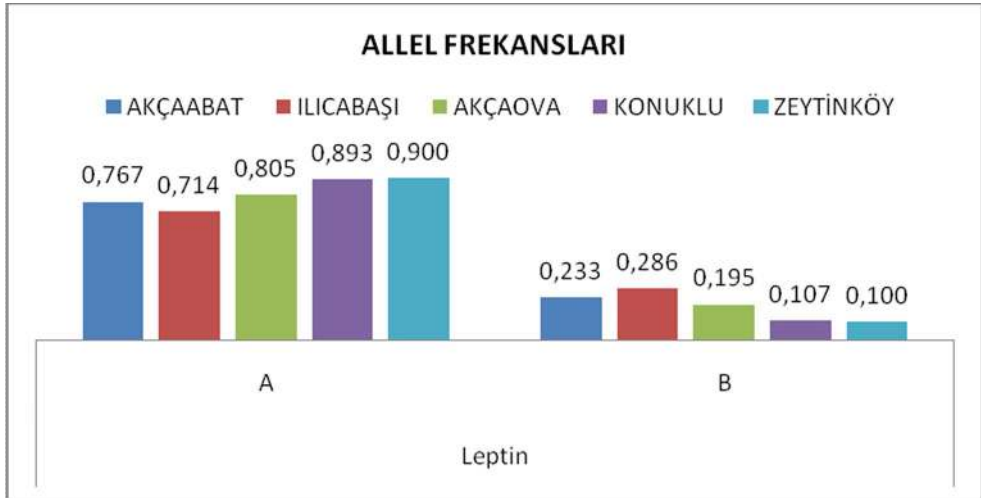
| Lokasyonlar | n   | Leptin Genotiplerinin Sayısal Dağılımı |    |    | Leptin Genotiplerinin Gözlenen Frekansları |      |      |
|-------------|-----|----------------------------------------|----|----|--------------------------------------------|------|------|
|             |     | AA                                     | AB | BB | AA                                         | AB   | BB   |
| Akçaabat    | 45  | 28                                     | 13 | 4  | 0,62                                       | 0,29 | 0,09 |
| Akçaova     | 41  | 25                                     | 16 | 0  | 0,61                                       | 0,39 | 0    |
| Ilıcabaşı   | 7   | 3                                      | 4  | 0  | 0,43                                       | 0,57 | 0    |
| Konuklu     | 14  | 11                                     | 3  | 0  | 0,79                                       | 0,21 | 0    |
| Zeytinköy   | 10  | 8                                      | 2  | 0  | 0,80                                       | 0,20 | 0    |
| Genel       | 117 | 75                                     | 38 | 4  | 0,64                                       | 0,33 | 0,03 |

Yerli sığır için örnekleme yapılan lokasyonlar bakımından değerlendirme ile elde edilen allel frekansları Çizelge 4.3.'te özetlenmiştir. A alleli bakımından en yüksek frekans Zeytinköy lokasyonuna ait sürüde gözlenmiştir. En düşük frekans ise Ilıcabaşı lokasyonuna ait sürüde tespit edilmiştir. B alleli bakımından en yüksek frekans Ilıcabaşı lokasyonuna ait sürüde gözlenmiş, en düşük frekans ise Zeytinköy lokasyonuna ait sürüde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Yerli sığır için örnekleme yapılan sürü veya lokasyonlar bakımından yapılan değerlendirme ile elde edilen allel frekansları

| Lokasyonlar |       |          |         |           |         |           |       |
|-------------|-------|----------|---------|-----------|---------|-----------|-------|
| Lokus       | Allel | Akçaabat | Akçaova | Ilıcabaşı | Konuklu | Zeytinköy | GENEL |
| Leptin      | A     | 0,767    | 0,805   | 0,714     | 0,893   | 0,900     | 0,803 |
|             | B     | 0,233    | 0,195   | 0,286     | 0,107   | 0,100     | 0,197 |

A alleli frekansı Zeytinköy lokasyonunda en yüksek bulunurken, Ilıcabaşı lokasyonunda en düşük bulunmuştur. B alleli bakımından ise en yüksek frekans Ilıcabaşı lokasyonu için gözlenirken, Zeytinköy lokasyonunu en düşük frekansa sahip olmuştur. A ve B allellerinin bulunma frekanslarına göre çizilmiş grafik Şekil 4.5.'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Yerli sığırlar için farklı sürü veya bölgelerden alınan örnekler bakımından gözlenen allel frekanslarının dağılımı

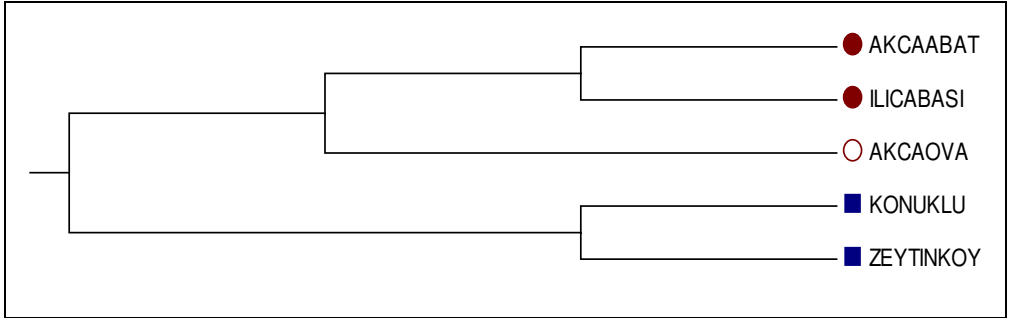
Gözlenen ve beklenen genotip sayıları ile Hardy-Weinberg dengesine yönelik ki-kare ( $\chi^2$ ) analiz sonuçları Çizelge 4.4.'te verilmiştir. Yapılan ki-kare analiz sonucunda Akçaabat, Akçaova, Ilıcabaşı, Konuklu ve Zeytinköy olmak üzere beş lokasyona (117 baş) göre yapılan değerlendirmede lokasyonlardaki popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, bütün popülasyona ait verileri kapsayan analiz sonucunda popülasyon genelinin de Hardy-Weinberg dengesinde olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4.4. Leptin geni bakımından sığır genotiplerine ait gözlenen ve beklenen sayılar ile ki-kare ( $\chi^2$ ) analiz sonuçları.

| Örneklenen Yerler   | n          | Gözlenen Sayılar |           |          | Beklenen Sayılar |               |              | $\chi^2$     | P            |
|---------------------|------------|------------------|-----------|----------|------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
|                     |            | AA               | AB        | BB       | AA               | AB            | BB           |              |              |
| Akçaabat            | 45         | 28               | 13        | 4        | 26,450           | 16,100        | 2,450        | 1,668        | 0,196        |
| Akçaova             | 41         | 25               | 16        | 0        | 26,561           | 12,878        | 1,561        | 2,410        | 0,121        |
| Ilıcabaşı           | 7          | 3                | 4         | 0        | 3,571            | 2,857         | 0,571        | 1,120        | 0,290        |
| Konuklu             | 14         | 11               | 3         | 0        | 11,161           | 2,679         | 0,161        | 0,202        | 0,653        |
| Zeytinköy           | 10         | 8                | 2         | 0        | 8,100            | 1,800         | 0,100        | 0,123        | 0,725        |
| <b>GENEL TOPLAM</b> | <b>117</b> | <b>75</b>        | <b>38</b> | <b>4</b> | <b>75,521</b>    | <b>36,957</b> | <b>4,521</b> | <b>0,093</b> | <b>0,760</b> |

Belirlenen genetik uzaklıklara göre çizilen dendrogram Şekil 4.6.'da verilmiştir. Çizdirilen dendrograma göre Akçaabat ile Ilıcabaşı'nda bulunan sürüler ve

Akçaova’da bulunan sürüler arasında benzerliğin daha fazla olduğu bulunmuştur. Konuklu ve Zeytinköy’de ki sürüler arasında benzerlik fazla olmasına rağmen diğer lokasyonlardaki sürülere benzerlik bakımından en uzak sürüler olarak gözlemlenmektedir. Ancak, sadece 1 lokusa dayalı hesaplanan genetik uzaklıklara ait dendrogram çizildiğinden çok sağlıklı bir değerlendirme yapmak zordur. Etkin bir değerlendirme yapabilmek için çok sayıda lokusa ait genotip bilgilerinin dikkate alınması gerekir.



Şekil 4.6. Örnekleme yapılan lokasyonlar arasındaki genetik uzaklığa göre çizilmiş dendrogram

Yapılan literatür taraması sonucu bazı sığır popülasyonlarında leptin geninin A ve B allelleri için belirlenen allel frekansları Çizelge 4.5.’de özetlenmiştir. İncelenen ırkların çoğunda A alleli B alleleline göre oldukça yüksek frekans sergilemiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da (Öztabak vd., 2010; Özdemir, 2011) incelenen DAK, GAK ve Boz ırk yerli sığırları ile Siyah Alaca ırkı sığırlar için A allelinin frekansı diğer allelden oldukça yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Bazı sığır popülasyonlarında leptin genine ait allel frekansları

| İrk                     | Kaynak                     | N   | Alleller |        | Enzim         |
|-------------------------|----------------------------|-----|----------|--------|---------------|
|                         |                            |     | A        | B      |               |
| <b>Sarabi</b>           | Javanmard vd., 2005        | 82  | 0.7500   | 0.2500 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Golpayegani(G)</b>   | Javanmard vd., 2005        | 57  | 0.7193   | 0.2807 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Sistani</b>          | Javanmard vd., 2005        | 38  | 0.3421   | 0.6579 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Taleshi</b>          | Javanmard vd., 2005        | 70  | 0.4786   | 0.5214 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Manzadrani</b>       | Javanmard vd., 2005        | 26  | 0.3846   | 0.6154 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Dashtiyari</b>       | Javanmard vd., 2005        | 8   | 0.1250   | 0.8750 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>G*Brown Swiss</b>    | Javanmard vd., 2005        | 13  | 0.1538   | 0.8460 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Shabestar</b>        | Javanmard vd., 2008        | 35  | 0.6300   | 0.3700 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Sarabi</b>           | Javanmard vd., 2008        | 31  | 0.4200   | 0.5800 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Friesian</b>         | Jawasreh vd., 2009         | 45  | 0.7740   | 0.2260 | <i>HinfI</i>  |
| <b>Yerli</b>            | Jawasreh vd., 2009         | 36  | 0.7770   | 0.2230 | <i>HinfI</i>  |
| <b>DAK</b>              | Öztabak vd., 2010          | 40  | 0.8900   | 0.1100 | <i>HinfI</i>  |
| <b>GAK</b>              | Öztabak vd., 2010          | 40  | 0.8600   | 0.1400 | <i>HinfI</i>  |
| <b>Boz ırk</b>          | Öztabak vd., 2010          | 40  | 0.8900   | 0.1100 | <i>HinfI</i>  |
| <b>Iranian Holstein</b> | Sharifzadeh ve Doosti,2010 | 112 | 0.7975   | 0.2025 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>DAK</b>              | Özdemir, 2011              | 71  | 0.9500   | 0.0500 | <i>Sau3AI</i> |
| <b>Siyah Alaca</b>      | Özdemir, 2011              | 149 | 0.9500   | 0.0500 | <i>Sau3AI</i> |





## 5. SONUÇ

Ülkemizdeki sığır varlığının yaklaşık % 17'sini oluşturan yerli sığır ırkları kötü çevre koşullarında yaşayabilme ve düşük de olsa verimliliklerini sürdürebilme özelliğine sahiptirler. Bu hayvanların yetiştirildikleri ekstansif veya marjinal yapıdaki yaşam alanları incelendiğinde özellikle et üretimi anlamındaki potansiyelleri yabana atılmayacak düzeydedir. Bu hayvanlar tarafından değerlendirilen alanların kültür ırkları ile değerlendirilmesi pek mümkün değildir. Dolayısıyla, kültür ırklarını ve yerli ırkları kendi üretim sistemleri içinde değerlendirmek daha sağlıklı bir yaklaşım olacaktır. Yörede salma sığırcılık olarak da adlandırılan yerli sığır yetiştiriciliği yakından incelendiği zaman doğa dostu, masrafsız ve işgücü gereksinimi çok az bir üretim dalı olduğu görülebilir. Ayrıntılı bir değerlendirme yapıldığı zaman, verim çok yüksek olmamasına karşın çok sınırlı masraf ve işgücü ile yetiştirme olanağının sağladığı karlılık açıkça görülebilir. Çoğu durumda kültür ırklarına oranla karlılığı daha yüksektir. Bunun yanında, doğal beslenme sonucu ürettikleri yağsız ete tüketicilerin rağbeti oldukça fazladır.

Gelecekte ıslah çalışmalarına temel oluşturacak genetik varyasyonun elde tutulması, ancak genetik kaynaklarının korunması ile mümkün olabilir. Diğer çiftlik hayvanı türlerinde olduğu gibi sığır türünde de yerli ırklar anlamında ülkemiz önemli bir ırk zenginliğine sahiptir. Farklı bölge veya yörelere yüzlerce hatta binlerce yıllık süreçte adapte olan bu ırkların morfolojik, fizyolojik ve genetik özelliklerinin ayrıntılı olarak tanımlanması, bu ırkların korunması ve geliştirilmesi gerekmektedir. Korumada en etkin yol, o yetiştirme sistemi ve altyapısının çağa uygun önlemlerle sürdürülebilir kılınmasıdır. Bir ırkın korunma altyapısının şekillendirilebilmesi için o ırka ait özelliklerin ayrıntılı olarak tespit edilmesi gerekmektedir. Bu anlamda bakıldığında, yerli sığır ırklarımızın tanımlanmasına, özgünlüklerinin ortaya konmasına yönelik çalışmaların sınırlı olduğu ortaya çıkmaktadır.

Anılan eksende planlanan bu çalışmada, Aydın ilinin daha çok dağlık kesimlerinde geleneksel olarak yetiştiriciliği sürdürülen yerli sığırların genetik tanımlama bilgilerine katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında halk arasında “Kara Sığır” olarak bilinen sığırlar materyal olarak kullanılmış, 5 farklı lokasyondaki (Akçaova, Akçaabat, Ilıcabaşı, Konuklu ve Zeytinköy) toplam 117 baş hayvan incelenmiştir. Leptin geni bakımından mevcut polimorfizmin popülasyon düzeyinde ortaya konması yanında sürü veya lokasyonlar arası genetik benzerlik ve farklılıkların ortaya konmaya çalışıldığı çalışmada elde edilen sonuçları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür:

Leptin geni bakımından popülasyon geneline yönelik değerlendirmede AA, AB ve BB genotipleri gözlenmiş ve gözlenen bu genotipler için frekanslar sırası ile 0.641, 0.325 ve 0.034 olarak tespit edilmiştir. Populasyonun neredeyse üçte ikisi AA genotipli olarak belirlenmiştir. BB genotipi ise çok sınırlı sayıda hayvanda gözleendiğinden düşük bir frekans sergilemiştir. Allel frekansları anlamında bakıldığında ise A ve B allellerinin frekansları sırasıyla 0.803 ve 0.197 olarak belirlenmiştir. A alleli için elde edilen yüksek frekans ilgili literatürde (Javanmard vd., 2005; 2008; Jawasreh vd., 2009; Öztapak vd., 2010; Sharifzadeh ve Doosti, 2010; Özdemir, 2011 ) birçok ırk içinde benzer şekilde rapor edilmiştir.

Örnekleme katkı sağlayan 5 lokasyon ayrı ayrı değerlendirildiğinde, sadece Akçabat'ta leptin genine ait her üç genotip gözlenmiştir. Diğer dört lokasyonda ise hiçbir hayvanda BB genotipi gözlenmemiş, sadece AA ve AB genotipleri gözlenmiştir. Farklı lokasyonlar bazında leptin geni bakımından sırası ile A ve B allellerinin görülme frekansları; Aydın Çine Akçaoğlu'da 0.805 ve 0.195, Aydın Karpuzlu Akçabat'ta 0.767 ve 0.233, Aydın Merkez Ilıcabaşı'nda, 0.714 ve 0.286, Aydın Merkez Konuklu'da 0.893 ve 0.107, Aydın Merkez Zeytinköy'de 0.900 ve 0.100 olarak bulunmuştur. Toplam 117 baş olan genel örneklemede ise leptin geni A ve B allellerinin frekansları sırasıyla 0.803 ve 0.197 olarak bulunmuştur.

Yapılan ki-kare ( $\chi^2$ ) analizinde hem 5 ayrı lokasyonun hemde genel örneklemin Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir. Anılan hayvanların doğal ortamda yetişmeleri ve serbest eşleşmeleri, seleksiyon ve kontrollü aşım vb uygulamaların olmaması gen frekanslarındaki denge durumunu açıklamaktadır.

Son birkaç onyılıda yapılan kültür ırkı hayvan veya sperm ithalleri ve bunun sonucunda yerli ırklarla yapılan yoğun çevirme melezlemeleri ülkemizdeki ırkların yokolma sürecini hızlandırmış, genetik çeşitliliğin azalması ve kaybolması tehlikesini doğurmuştur. Bunun yanında kurulan yetiştirme birliklerinin yerli ırkları kapsam dışı tutması ve tarımsal desteklemelerden yerli ırkların yararlandırılmaması da yokolma süreçlerini hızlandırmıştır. Kültür ırklarının endüstriyel üretim deseninde ortaya koydukları yüksek üretim potansiyelinin cazibesi yerli ırkların geri plana itilmesine sebep olmuştur. Sonuç olarak, geçen süreçte, bitkisel üretimin veya yem bitkileri üretiminin yoğun olduğu entansif üretimin yapılacağı alanlarda kültür ırkı ve melezlerinin yetiştirilmesi yaygınlaşmıştır. Hatta bu süreç içerisinde yerli ırkların çevirme melezlemesi ile elde edilen yüksek kültür ırkı taşıyan hayvanlar yerli ırkların adaptasyon ve direnç ile ilgili genlerini de taşıdıkları için sahaya uyum göstermişlerdir. Saf kültür ırkı hayvanlarda ise daha yoğun kayıplar veya verim problemleri yaşanmıştır. Yerli

ırkların yetiştirilmesi ise daha çok kültür ırklarının uyum sağlamadığı marjinal alanlarda süregelmiştir.

Yerli ırklara yönelik değerlendirmelerde, genelde yerli ırkların bakım-besleme koşulları dikkate alınmamaktadır. Kültür ırklarına göre daha kanaatkar ve dirençli olan yerli ırklarımız ekstansif koşullarda üretimin vazgeçilemez materyali durumundadırlar. Ancak, kente göç vb. sosyal değişimler bu üretim dalının sürdürülebilirliğini olumsuz etkilemektedir. Bu üretim dalı ile uğraşan insanların kırdaki yaşam koşullarının iyileştirilmesine yönelik önlem ve desteklemelerin kamu öncülüğünde devreye sokulması bu üretim dalının sürdürülebilirliğini olumlu yönde etkileyebilecektir.

Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından devreye sokulan ve günümüzde koyun, keçi ve manda türünü kapsayan “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamına yerli sığır ırklarında dahil edilmesi hem bu ırklarımızın geliştirilmesine hem de korunmasına büyük katkı sağlayacaktır.

Bu çalışma sadece yerli sığırların leptin gen polimorfizminin olup olmadığını ortaya koyabilmek için yapılmıştır. Daha ileriki çalışmalarda genotiplere göre leptin lokusu için elde edilen bilgiler yerli sığırlar için referans olarak kullanılabilir. İleriki yıllarda yapılacak benzer çalışmalar için karşılaştırma yapma ve geçen süreçteki gen ve genotip frekanslarındaki değişimi ortaya koyma ve koruma etkinliklerini buna göre yönlendirme şansı tanıyacaktır.

Bu çalışma sonrasında diğer yerli sığır ırklarımızda da leptin genine ait polimorfizmin ortaya konmasında ve çeşitli direnç özelliklerinin genotiplere göre değişiminin ortaya konmasında yarar vardır. Ayrıca, gene ait bölgenin DNA dizi nıza özgü farklılıkların olup olmadığını da açık bir

## KAYNAKLAR

- Anonim, 2012a. <http://tr.scribd.com/doc/56171704/et> [Erişim Tarihi: 07.09.2012]
- Anonim, 2012b. <http://www.tdk.gov.tr/> [Erişim tarihi: 11.08.2012].
- Anonim, 2012c. [http://en.wikipedia.org/wiki/Gel\\_electrophoresis](http://en.wikipedia.org/wiki/Gel_electrophoresis). [Erişim Tarihi: 15.08.2012].
- Aksoy, A.R. 2003. Hayvan Islahı. DersNotları, Kafkas Üniversitesi:51-60.
- Barb, C.R. 1999. The brain-pituitary-adipocyte axis: role of leptin in modulating neuroendocrine function. **Journal of Animal Science.**, 77:1249-57.
- Barb, C.R., Kraeling, R.R. 2004. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. **Anim Reprod Sci.**, 82-83:155-67.
- Barendse, W., Armitage, S.M., Kossarek, L.M., Shalom, A., Kirkpatrick, B.W., Ryan, A.M., Clayton, D., Li, L., Neibergs, H.L., Zhang, N., Grosse, W.M., Weiss, J., Creighton, P., McCarthy, F., Ron, M., Teale, A.J., Fries, R., McGraw, R.A., Moore, S.S., Georges, M., Soller, M., Womack, J.E., Hetzel, D.J.S.1994. A Genetic-Linkage Map of the Bovine Genome. **Nature Genetics.**, 6:227-235.
- Blache, D., Tellam, R.L., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Vercoe, P.E., Martin, G.B. 2000. Level of Nutrition Affects Leptin Concentrations in Plasma and Cerebrospinal Fluid in Sheep. **J. Endocrinol.**, 165:625-637.
- Block, S.S., Butler, W.R., Ehrhardt, R.A., Bell Aw, Van Amburgh M.E. Boisclair, Y.R. 2003. Decreased Concentration of Plasma Leptin in Periparturient Dairy Cows is Caused by Negative Energy Balance. **J. Endocrinol.**, 71:339-348.
- Buchanan, F.C., Fitzsimmons, C.J., Van Kessel, A.G., Thue, T.D., Winkelman-Sim D.C. And Schmutz, S.M. 2002. Association of a Missense Mutation in the Bovine Leptin Gene with Carcass Fat Content and Leptin mRNA Levels. **Genet. Sel. Evol.**, 34:105-116.
- Buchanan, F.C., Van Kessel, A.G., Waldner, C., Christensen, D.A., Laarveld, B. Schmutz, S.M. 2003. An Association Between a Leptin Single Nucleotide Polymorphism and Milk and Protein Yield. **J. Dairy Sci.**, 86:3164-3166.
- Campfield, L.A., Smith, F.J., Guisez, Y., Devos, R., Burn, P. 1995. Recombinant mouse ob protein - evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science.**, 269:546-549.
- Cemal, İ. 1996. Çiftlik Hayvanlarında Major Genler: Bunların Belirlenmesi, Transferi ve Endüstriyel Kullanımı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Y. Lisans Tezi, Van.

Chelikani, Pk., Ambrose, J.D., Keisler, D.H., Kennely, J.J. 2004. Effect of Short Term Fasting on Plasma Concentrations of Leptin and Other Hormones and Metabolites in Dairy Cattle. **Domestic Anim.Endocrinol.**, 26:33-48.

Delavaud, C., Bocquier, F., Chilliard Y., Keisler, D.H., Gertler, A., Kann G. 2000. Plasma Leptin Determination in Ruminants: Effect of Nutritional Status and Body Fatness on Plasma Leptin Concentration Assessed by a Specific RIA in Sheep.**J. Endocrinol.**,165:519-526.

Delavaud, C., Chilliard, Y., Lende, T. Van Der. 2006. Polymorphism in the Bovine Leptin Gene and their Associations with Physiological Characteristics in: Proceedings of the International Genetics Conference. **Animal Genetics.**, 35:138-141.

Ehrhardt, R.A., Slepetis, R.M., Siegal-Willott, J., Van Amburgh Me, Bell Aw, Boisclair, Y.R. 2000. Development of a Specific Radioimmunoassay to Measure Physiological Changes of Circulating Leptin in Cattle and Sheep.**J. Endocrinol.**,166:519-528.

Falconer, D.S., Mackay, T.F.C.1996 Introduction to Quantitative Genetics Longman Group Ltd, U.K.

Friedman M., JI.H. 2003. Fasting Plasma Triglyceride Levels and Fat Oxidation Predict Dietary Obesity in Rats. **Physiol Behav.**, 78:767-772.

Fruhbeck, G., Jebb, S.A., Prentice, A.M.1998. Leptin: physiology and pathophysiology. **Clinic. Physiol.**,18:399-419.

Geary, T.W., Mcfadin, E.L., Macneil, M.D.2003. Leptin as a Predictor of Carcass Composition in Beef Cattle. **Journal of Animal Science.**, 81:1-8.

Hale, C.S., Herring, W.O., Johnson G.S., Shibuya H., Lubahn, D.B., Keisler, D.H. 1998. Evaluation of the Leptin Gene as a Possible Marker of Carcass Traits in Angus Cattle. University of Missouri Beef and Dairy Research Report. pp 25-27.

Hashemi, A., Mardani, K., Farhadian, M., Ashrafi I., ve Ranjbari, M. 2011. Allelic polymorphism of Makoei sheep leptin gene identified by polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism. **Afr. J. Biotechnol.**, 10 (77): 17903-17906.

Houseknecht, K.L., Portocarrero, C.P.1998. Leptin and its receptors: Regulators of whole-body energy homeostasis. **Domest. Anim. Endocrinol.**, 15:457-475.

Itossner K.L.1998. Cellular, Molecular and Physiological Aspects of Leptin: Potential Application in Animal Production. **Can. J. Anim. Sci.**, 26:463-480.

Javanmard, A., Asadzadeh, N., Hossein Banabazi M. And Javod Tavakolian. 2005. The Allele and Genotype Frequencies of Bovine Pituitary- Specific

Transcription Factor and Leptin Gene in Iranian Cattle and buffalo Populations using PCR-RFLP. **Iranian Journal of Biotechnology.**, 25: 3-2.

Javanmard A., Mohammadabadi, M.R., Zarrigabayi, G.E. Gharahedaghi, A.A., Nassiry, M.R., Javadmansh A., Asadzadeh, N. 2008. Polimorphism within the Intron Region of the Bovine Leptin Gene in Iranian Sarabi Cattle (Iranian *Bos taurus*). **Russian Journal of Genetics**, 44: 495-497.

Jawasreh, F., Khaleel, I.Z., Awawded, I. Rawashded, F. Hejazeen. 2009. The Allele and Genotype Frequencies of Bowine Pitvitary Specific Transcription Factor and Leptin Genes in Jordanian Cattle Population by using PCR-RFLP. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences.**, 3(3): 1601-1606.

Karaca, O., Kaymakçı M., Vanlı, Y. 1992. Koyunlarda döl veriminin genetiği ve yeni yaklaşımlar. **Y.Y. Ü. Zir. Fak. Der.**,2:138-157.

Kinghorn, B.P., van Arendonk, J.A.M., Hetzel, D.J.S. 1994. Detection and use of major genes in animal breeding. **AgBiotech News and Information.**, 6:297- 302.

Komisarek, J., Szyda, j., Michalak, A. And Dorynek, Z. 2005. Impact of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits in cattle. **J. Anim. Feed Sci.**, 14 (3) 491-500.

Konfortov, B.A., Licence, Miller Jr. 1999. Re-sequencing of DNA from a Diverse Panel of Cattle Reveals a High Level of Polymorphism in Both Intron and Exon. **Mamm. Genome.**, 10(12):1142-5.

Kulig, H. 2005a. Association between leptin combined genotypes and milk performance traits of Polish Black-and-White cows. **Archives of Anim. Breed.**, 48 (6): 547-554(Abst).

Kulig, H. 2005b. Associations Between Leptin Gene Polymorphism and Some Milk Performance Traits of Cattle. **Journal of Animal and Feed Sciences.**, 14 (2): 235-243.

Kulig, H., Kmiec M. 2008. Association Between Leptin Gene Polimorphisms and Growth in Limousin Cattle. **Russian Journal of Genetics.**, 45: 738-741.

Kulig H., Kmiec M., Inga Kowalewska- Luczak, Gabriela Adzick.2009. Effect of Leptin Gene Polimorphisms on Milk Productuon Traits of Jersey Cows. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, 33(2) :143-146.

Liefers, S.C., Te Pas M.F.W., Veerkamp, R.F., Van Der Lende T. 2002. Associations Between Leptin Gene Polymorphisms and Production, Live Weight, Energy Balance, Feed Intake, and Fertility in Holstein Heifers. **J. Dairy Sci.**,85:1633-1638.

Liefers, S.C., Veerkamp, R.F., Te Pas Mf, Delavaud, C., Chilliard, Y., Platje, M., Van Der Lende T. 2005a. Leptin Promoter Mutations Affect Leptin Levels and Performance Traits in Dairy Cows. **Anim Genet.**, 36(2):111-8.

Liefers, S.C., Veerkamp, R.F., Te Pas, M.F.W., Chilliard, Y. And Van der Lende, T. 2005b. Genetics and Physiology of leptin in periparturient dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology.**, 29: 227-238.

Lusk, J.L. 2006. Association of Single Nucleotide Polymorphisms in the Leptin Gene with Body Weight and Backfat Growth Curve Parameters for Beef Cattle. **J. Anim. Sci.**, 85:1865-1872.

Macajova, M., Lamasova, D. and Zeman, M. 2004. Role of Leptin in Farm Animals: a Review. **J. Vet. Med. A** 51, 157–166.

Madeja, Z., Adamowicz, T., Chmurzynska, A., Jankowski, T., Melonek, J., Switonski, M., Strabel, T. 2004. Short Communication: Effect of Leptin Gene Polymorphisms on Breeding Value for Milk Production Traits. **J. Dairy Sci.**, 87:3925-3927.

Moussavi, A.H., Ahouei, M., Nassiry, M.R. and Javadmanesh, A. 2006. Association of leptin polymorphism with production, reproduction and plasma glucose level in Iranian Holstein cows. **Asian-Australasian J. of Anim. Sci.**, 19 (5):627-631 (Abst).

NCBI, 2014. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, [Erişim Tarihi: 20.05.2014].

Oprzadek, J., Flisikowski, K., Zwierzchowski, L., Dymnicki, E. 2003. Polimorphisms at Loci of Leptin (LEP), Pit1 and STAT5A and their Association with Growth, Feed Conversion and Carcas Quality in Black-and White bulls. **Animal Science Paper and Reports.**, 21 (3):135-145.

Özdemir, M. 2011. Genetic polymorphism of leptin gene in Holstein and native East Anatolian Red (EAR) cattle raised as genetic resource in Turkey. **Afr. J. of Agr. Res.**, Vol. 6(27), pp. 6008-6010.

Öztabak, K., Toker, N.Y., Ün, C., Akış, I., Mengi, A., Karadağ, O., Soysal, D. 2010. Leptin Gene Polymorphisms in Native Turkish Cattle Breeds. **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.**, 16 (6): 921-924.

Pinto, S., Roseberry A.G., Liu H., 2004. Rapid Rewiring of Arcuate Nucleus Feeding Circuits by Leptin. **Science.**, 304:110-115.

Pomp, D., Zou, T., Clutter, A.C. and Barendse W. 1997. Rapid communication: Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism. **J. Anim. Sci.**, 75:1427.

Roberts, R.C., Smith, C. 1982. Genes with large effects-theoretical aspects in livestock breeding. 2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 4-8 October, 6:420-438. Madrid.

Sadeghi, M., Moradi Shahr Babak M., Rahimi, G., And Nejati A. Jawaremi. 2008. Effect of Leptin Gene Polimorphisms on the Breeding Volve of Milk Prodiction Traits in Iranian Holstein. **Animal.**, 2:7, 999-1002.

Santos-Alvarez J, Goberna R., Sa Nchez-Margalet V. 1999. Human Leptin Stimulates Proliferation and Activation of Human Circulating Monocytes. **Cell. Immunol.**, 194:6-11.

Sellier, P. 1994. The future role of molecular genetics in the control of meat production and meat quality. **Meat Science.**, 36:29-44.

Sharifzadeh, A., Doosti, A. 2010. Genetic polymorphism at the leptin gene in Iranian Holstein cattle by PCR-RFLP. **Afric. Jour. of Microbiol. Res.**, 4(12): 1343-1345.

Smith, C. 1985. Utilization of major genes. In: Genetics of Reproduction in Sheep (Land, R. B., Robinson, D. W. eds.) pp. 151-158, Butterworth, London.

Stone, R.T., Kappes, S.M., Beattie, C.W. 1996. The bovine homologue of the obese gene maps to chromosome 4. **Mamm. Gen.**, 7:399-400.

TAGEM, 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu. TAGEM, Ankara.

TÜİK, 2013. <http://www.tuik.gov.tr>, [Erişim Tarihi: 27.11.2014].

Ün, C., Wimmers, K., Ponsuksili, S., Schmoll, F., Schellander, K. 2000. Mikrosatellitler ve kullanım alanları. **Hayvansal Üretim.**, 41:9-14.

Yeh, F.C., Yang, R.-C., Boyle, T.B.J., Ye, Z.-H., Mao, J.X. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. In, University of Alberta, Canada, (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe>).

Yukio, T., Tomohiro, I., Takahisa, Y., Yoshiyuki, S. 2002. Genomic Structure and Promoter Analysis of the Bovine Leptin Gene, Kyoto 606-8502, Japan.

Wilkins, R.J., Davey, H.W. 1997. A polymorphic microsatellite in the bovine leptin gene. **Anim. Genet.**, 28: 376-376.

Zhang, Y.Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog. **Nature.**, 372:425-432.

Zhang, Y., Scarpance, P.J. 2006. The Role of Leptin in Leptin Resistancence and Obesity. **Physiol Behav.**, 88:249-256.



Zwierzchowski, L., Oprzadek, J., Dymnicki, E., Dzierzbicki, P. 2001a. An association of growth hormone,  $\kappa$ -casein, B-lactoglobulin, leptin and Pit-1 loci polymorphism with growth rate and carcass trait in beef cattle. **Animal Science Papers and Reports.**, 19:65-78.

Zwierzchowski, L., Krzyewski, J., Strzalkowska, N., Siadkowska, E., Ryniewicz, Z. 2001b. Effects of Polymorphism of Growth Hormone, Pit-1 and Leptin Genes, Cow's Age, Lactation Stage and Somatic Cell Count on Milk Yield and Composition of Polish Black and White Cows. **Animal Science Papers and Reports.**, 20(4) : 213-227.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Zekai ÇOBAN  
Doğum Yeri ve Tarihi : Dursunbey – 29.09.1988

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootehni Anabilim Dalı  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Bildiriler  
-Ulusal

1. **Çoban, Z.**, Karagöz, Ş., Koç, A. 2011. Aydın ili besi sığırları işletmelerinin teknik, ekonomik ve sosyal açıdan değerlendirilmesi. 7. Ulusal Zootehni Öğrenci Kongresi. Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fakültesi Zootehni Böl. 20-22 Mayıs 2011, Aydın.
2. Tüzün A. E., **Çoban, Z.**, Varol, M., Kiriş., H., Karagöz, Ş., Özen, B. 2011. İki farklı fosfor düzeyindeki bıldırcın karma yemlerine esansiyel yağ katkısının etkileri. 7. Ulusal Zootehni Öğrenci Kongresi. Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fakültesi Zootehni Böl. 20-22 Mayıs 2011, Aydın.

### İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

1. Er-Ay Piliç Gıda Paz. Hayv. Tarım Ürn. San. ve Tic. Ltd. Şti. (İşletme Müdürü, 2011-2012)
2. Aydın İli Damızlık Koyun-Keçi Yetiştiriciler Birliği (TAGEM tarafından koordine edilen “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamında, Aydın İli Kıl Keçisi Islahı alt projesi Proje Teknik Elemanı, 2012-....)

### İLETİŞİM

E-posta Adresi : zekaicoban@hotmail.com  
zekaicbn@gmail.com  
Tarih : 30.12.2014