

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**PIRLAK KOYUNLARINDA KALPASTATİN (CAST) VE MİYOSTATİN
(MSTN) GEN POLİMORFİZMLERİ**

Bülent ÖZKAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2024

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**PIRLAK KOYUNLARINDA KALPASTATİN (CAST) VE MİYOSTATİN
(MSTN) GEN POLİMORFİZMLERİ**

Bülent ÖZKAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2024

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PIRLAK KOYUNLARINDA KALPASTATİN (CAST) VE MİYOSTATİN
(MSTN) GEN POLİMORFİZMLERİ**

**Bülent ÖZKAN
ZOOTEKNİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2023-6279 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PIRLAK KOYUNLARINDA KALPASTATİN (CAST) VE MİYOSTATİN
(MSTN) GEN POLİMORFİZMLERİ**

Bülent ÖZKAN
ZOOTEKNİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 24/07/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Emine ŞAHİN SEMERCİ (Danışman)

Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN

ÖZET

PIRLAK KOYUNLARINDA KALPASTATİN (CAST) VE MİYOSTATİN (MSTN) GEN POLİMORFİZMLERİ

Bülent ÖZKAN

Yüksek Lisans Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emine ŞAHİN SEMERCİ

Temmuz 2024; 39 sayfa

Bu çalışmada, Akdeniz Bölgesinde yetiştiriciliği yoğun olarak yapılan yerli koyun ırklarımızdan olan Pırlak ırkında Kalpastatin (CAST) ve Miyostatin (MSTN) gen lokuslarına ait polimorfik yapıların incelenmesi amaçlanmıştır.

Antalya ilinde yürütülen “Pırlak Koyununun Halk Elinde Islahı I” alt projesi kapsamındaki farklı işletmelerde yetiştirilen toplam 181 baş Pırlak koyununda PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, CAST gen bölgesi için *MspI* ve MSTN gen bölgesi için ise *HaeIII* polimorfizmi araştırılmıştır. Çalışmada CAST lokusunda MM (0.220), MN (0.696) ve NN (0.082) genotipleri belirlenmiştir. Mevcut populasyonda M allel frekansının 0.569 ve N allel frekansının ise 0.431 olduğu tespit edilmiştir. MSTN lokusunun ise *HaeIII* polimorfizmi monomorfik olduğu, tüm bireylerin mm genotipine sahip olduğu bulunmuştur. CAST geni bakımından Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın belirlendiği bu populasyonda gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.696 olarak hesaplanırken, beklenen heterozigotluk (H_e) değeri 0.490 olarak hesaplanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Koyun, Kalpastatin, Miyostatin, PCR-RFLP, Polimorfizm

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi Emine ŞAHİN SEMERCİ

Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN

ABSTRACT

POLYMORPHISMS OF THE CALPASTATIN (CAST) AND MYOSTATIN (MSTN) GENES IN PIRLAK SHEEP

Bülent ÖZKAN

MSc Thesis in Animal Science

Supervisor: Asst. Prof. Emine ŞAHİN SEMERCİ

July 2024; 39 pages

In this study, it was aimed to examine the polymorphic structures of the Calpastatin (CAST) and Myostatin (MSTN) gene loci in the Pırlak breed, which is one of our local sheep breeds that are intensively bred in the Mediterranean Region.

MspI polymorphism for the CAST gene region and *HaeIII* polymorphism for the MSTN gene region were investigated using the PCR-RFLP method in a total of 181 head of Pırlak sheep raised in different herds within the scope of the "Public Breeding of Pırlak Sheep I" sub-project carried out in Antalya province. In the study, MM (0.220), MN (0.696) and NN (0.082) genotypes were determined in the CAST locus. In the current population, the M allele frequency was found to be 0.569 and the N allele frequency was 0.431. The *HaeIII* polymorphism of the MSTN locus was found to be monomorphic and all individuals had the mm genotype. While the observed heterozygosity (H_o) value in this population, where deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium was determined in terms of the CAST gene, was calculated as 0.696, the expected heterozygosity (H_e) value was calculated as 0.490.

KEYWORDS: Calpastatin, Sheep, Myostatin, PCR-RFLP, Polymorphism

COMMITTEE: Asst. Prof. Emine ŞAHİN SEMERCİ

Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Assoc. Prof. İbrahim AYTEKİN

ÖNSÖZ

Koyunlar, et, süt ve yapağı gibi birçok insan gereksinimini karşılayabilen önemli çiftlik hayvanlarıdır. Farklı iklim koşullarına uyum sağlama ve ekstansif üretime yatkınlıkları nedeniyle yaygın olarak yetiştirilmektedir. Et üretimi, nüfusun yeterli ve dengeli beslenmesi için hayati öneme sahiptir.

Hayvanların ekonomik açıdan önemli verim özelliklerinin saptanması ve iyileştirilmesi ülke ve yetiştirici ekonomisine önemli katkılar sağlamaktadır. Gelecekteki ekonomik koşullarda karlı yetiştiriciliği sağlayacak genotiplerin geliştirilmesi araştırmacıların ana hedefi haline gelmiştir. Moleküler teknikler, genetik varyasyonların tanımlanmasını ve kantitatif özellik lokusları (Quantitative Trait Loci; QTL) ile verim özellikleri arasındaki ilişkilerin incelenmesini mümkün kılmaktadır. Bu sayede hayvanların istenilen özellikler bakımından genetik yapısı belirlenmesi seleksiyona önemli katkılar sağlanabilmektedir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, birikim ve deneyiminden yararlandığım ayrıca tez çalışmamın her aşamasında büyük destek sağlayan değerli danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Emine ŞAHİN SEMERCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine tez çalışmamın uygulanabilmesi için sağladıkları finansal destekten dolayı teşekkür ederim.

Antalya Damızlık Keçi Koyun Yetiştiricileri Birliğine bağlı işletmelere ulaşmamızı sağlayan başta birlik başkanı Zeliha ÖZTÜRK'e ve birlik çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmam kapsamında desteğini gördüğüm Manavgat İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğünde çalışan Ziraat Mühendisi Turgut KESER'e teşekkür ederim.

Ayrıca ferdi olduğum Akdeniz Üniversitesi bünyesinde birlikte çalıştığım mesai arkadaşlarım ve özellikle yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen Daire Başkanı Dilek AYAS ve Şube Müdürü Mehmet DURGUT'a çok teşekkür ediyorum.

Son olarak, hayatımın her anında yanımda olan sevgili eşim Emine ÖZKAN ve biricik kızım Umay Deniz ÖZKAN'a kalben teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Türkiye’de Koyun Varlığı	3
2.2. Türkiye’de Koyun Eti Üretimi	3
2.3. Pırlak Koyunu.....	4
2.4. Moleküler Markerler	5
2.5. Restriksiyon Endonükleazlar.....	6
2.6. Koyunlarda Et Kalitesi ve Karkasla İle İlişkili Bazı Aday Genler.....	6
2.7. Koyunlarda Kalpastatin (CAST) Geni	6
2.8. Koyunlarda Miyostatin (MSTN) Geni	7
2.9. Çalışmada Uygulanan Moleküler Genetik Teknikler.....	8
2.9.1. DNA Ekstraksiyonu	8
2.9.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	8
2.9.3. Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP).....	9
2.9.4. Agaroz Jel Elektroforezi.....	10
2.10. Koyunlarda CAST ve MSTN Genleri İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar.....	10
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Hayvan materyali.....	17
3.1.2. Araç ve gereçler.....	17
3.1.3. Tampon çözeltiler	18
3.1.4. Primer ve restriksiyon enzimleri.....	18
3.2. Metod.....	19
3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması	19

3.2.2. Genomik DNA ekstraksiyonu.....	19
3.2.3. DNA amplifikasyonu.....	21
3.2.4. PCR Ürünlerinin <i>MspI</i> ve <i>HaeIII</i> endonükleazı ile kesimi	22
3.2.5. Genomik DNA, ampikon ve kesim ürünlerinin görüntülenmesi.....	23
3.2.6 İstatistik analizler.....	23
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	25
4.1. Genomik DNA Ürünleri.....	25
4.2. PCR Ürünleri.....	25
4.3. CAST Geni <i>MspI</i> Polimorfizmi	26
4.4. MSTN Geni <i>HaeIII</i> Monomorfizmi	26
4.5. Genotip ve Allel Gen Frekansları.....	27
5. SONUÇLAR	31
6. KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Pırlak Koyunlarında Kalpastatin (CAST) ve Miyostatin (MSTN) Gen Polimorfizmleri” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

24/07/2024

Bülent ÖZKAN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

bç	:Baz Çifti
dH ₂ O	:Distile Su
ddH ₂ O	:Double Distile Su
dk	:Dakika
g	:Gram
H _e	:Beklenen Heterozigotluk
H _o	:Gözlenen Heterozigotluk
µl	:Mikrolitre
kg	:Kilogram
χ ²	:Khi-Kare
M	:Molar
mA	:Miliamper
MgCl ₂	:Magnesium Chloride
ml	:Mililitre
mM	:Milimolar
NaCl	:Sodium Chloride
n	:Birey Sayısı
V	:Volt
µM	:Mikromolar
°C	:Santrigrat Derece
%	:Yüzde
<	: Küçük

Kısaltmalar

AFLP	:Amplified Fragment Length Polymorphism
ATP	:Adenosin Tri-Fosfat
CAST	:Calpastatin
CLPG	:Callipyge
CTP	:Sitidin Tri-Fosfat
EDTA	:Etilen Diamin Tetra Asetikası
EtBr	:Ethidium Bromide
DNA	:Deoxyribonucleic Acid
dNTP	:Deoxynucleotide Triphosphates
DGAT1	:Diacylglycerol Acyltransferase 1
GH	:Growth Hormon
GDF8	:Growth Differentiation Factor 8
GTP	:Guanosin Tri-Fosfat
H-W	:Hardy-Weinberg
MAS	:Marker Assisted Selection
MSTN	:Myostatin
mtDNA	:Mitokondriyal DNA
RFLP	:Restriction Fragment Length Polymorphism
RAPD	:Random Amplified Polymorphic DNA
RNA	:Ribonucleic acid
PCR	:Polymerase Chain Reaction
SSCP	:Single-Strand Conformation Polymorphism
SNP	:Single Nucleotide Polymorphism
STS	:Sequence-Tagged Site
SDS	:Sodium Dodecyl Sulfate

NCBI	:National Center for Biotechnology Information
LEP	:Leptin
rpm	:Revolutions per Minute
TAE	:Tris Asetat EDTA
TAGEM	:Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TE	:Tris EDTA
Tris-HCl	:Tris Hydroxymethyl Aminomethane Hydrochloric Acid
TÜİK	:Türkiye İstatistik Kurumu
TTP	:Timidin Tri-Fosfat
UV	:Ultra Viole
UCP1	:Uncoupling Protein 1
QTL	:Quantitative Trait Locus
VNTR	:Variable Number Tandem Repeat
vd	:ve diğerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Pırlak koyunu erkek ve dişisi	4
Şekil 2.2. Kalpastatin gen yapısı	6
Şekil 2.3. Miyostatin gen yapısı	7
Şekil 2.4. PCR ayrılma aşaması.....	8
Şekil 2.5. PCR bağlanma aşaması	8
Şekil 2.6. PCR uzama aşaması	9
Şekil 2.7. PCR-RFLP yöntemi	9
Şekil 3.1. Kan örneklerinin alındığı işletmelerin bulunduğu ilçeler	17
Şekil 3.2. Koyunlardan kan alma işlemi	19
Şekil 3.3. DNA ekstraksiyonu ve PCR işlemi.....	22
Şekil 4.1. Bazı DNA ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü örneği.....	25
Şekil 4.2. CAST gen lokusunun PCR görüntüsü	25
Şekil 4.3. MSTN gen lokusunun PCR görüntüsü.....	25
Şekil 4.4. CAST geni <i>MspI</i> polimorfizmi RFLP bant profil örneği.....	26
Şekil 4.5. MSTN geni <i>HaeIII</i> monomorfizmi RFLP bant profil örneği	26

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye’de 2013-2023 yılları arasındaki koyun sayısı	3
Çizelge 2.2. Türkiye’de 2012-2023 yılları arasındaki koyun eti üretimi.....	4
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi	17
Çizelge 3.2. Tampon çözeltilerin molaritesi, miktarı ve içerikleri	18
Çizelge 3.3. Kullanılan primer ve restriksiyon enzimleri	19
Çizelge 3.4. PCR bileşenlerinin son konsantrasyonları	21
Çizelge 3.5. Uygulanan PCR programı	21
Çizelge 3.6. Kesim reaksiyonu bileşenleri.....	22
Çizelge 4.1. CAST geni allel ve genotip frekansları ve H-W testi sonuçları	27
Çizelge 4.2. Koyunlarda CAST ve MSTN geni ile ilgili yapılan çalışmalar.....	28

1. GİRİŞ

Gelişmiş birçok ülkede nüfus artışıyla birlikte hayvansal ürünlere olan talep gittikçe artmaktadır. Dolayısıyla bu talebi karşılamak için hayvanların verimlerinin artırılmasına yönelik çabalar da artmıştır. Çalışmalar genellikle, ülke, bölge ve yöre koşullarına adapte olmuş yerli ırkların, yüksek verimli kültür ırkları ile melezlenmesi yoluyla verimlerinin artırılmasına yönelik olmaktadır. Hatta birçok bölgede, yerli ırkların yerine yüksek verime sahip kültür ırkları tercih edilmektedir. Bu da zamanla varyasyon hızını azaltmaktadır. Ancak yerli ırklar, verimleri düşük olmakla birlikte binlerce yıl boyunca bulundukları çevrenin olumsuz koşullarına uyum sağlayarak gelişmiş hayvanlar olarak öne çıkmaktadırlar (Ertuğrul vd. 2000).

Koyun yetiştiriciliği, çok eski bir geçmişe sahip olup koyunların evcilleştirilmesi yaklaşık olarak 10 bin yıl öncesine kadar uzanmaktadır. İlk olarak Orta Asya ve Orta Doğu'da evcilleştirilen koyunlar daha sonra Avrupa, Kuzey Afrika ve diğer bölgelere yayılmıştır (Zeder 2008). Günümüzde koyun yetiştiriciliği dünya genelinde yaygın bir faaliyet olarak yapılmaktadır.

Türkiye, coğrafi özellikleri ve iklimi bakımından koyun yetiştiriciliği için oldukça uygun bir ülkedir. Özellikle Akdeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde yoğun olarak koyun yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye, koyun varlığı bakımından dünyada önemli bir konuma sahip olmasına rağmen, üretimde istenilen seviyeye ulaşamamıştır. Bu durum, düşük verimli yerli ırkların varlığı ve sürdürülebilir üretim sistemlerinin yeterince uygulanamamasından kaynaklanmaktadır. Son yıllarda besi koyunculuğunda yapılan ıslah çalışmaları sayesinde birim hayvan başına düşen verimlilik konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Geleneksel olarak gerçekleştirilen klasik ıslah çalışmalarında elde edilen önemli gelişmelere rağmen, multifaktöriyel kalıtım gösteren kantitatif karakterlerdeki istenilen başarı çoğu zaman elde edilememiştir.

Hayvanlardan elde edilen fenotipik ve genotipik verilerin birlikte değerlendirilip kullanılması, ıslah çalışmalarına büyük hız kazandırmaktadır. Yapılan araştırmalarla çiftlik hayvanlarının genom bilgilerinin aydınlatılması, üretimde verimliliğin artırılması, genetik çeşitliliğin ve ırkların korunması açısından son derece önemlidir. Ancak, koyunlarda yapılan araştırmaların, diğer çiftlik hayvanı türleri ile özellikle sığırlarla karşılaştırıldığında yeterli sayıda olmadığı gözlemlenmektedir. Bu durum, koyunların yeni genetik çalışmalar için önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Günümüzde birçok hayvan türünün ıslahında markere dayalı seleksiyon (Marker Assisted Selection; MAS) yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak, koyunlarda önemli verim özellikleriyle ilgili yeteri kadar marker ve kantitatif özellik lokusu belirlenmediği için seleksiyonda genellikle klasik ıslah yöntemleri tercih edilmektedir. Bu durum, ıslahta belirlenen hedeflere ulaşmayı zorlaştırmaktadır. Koyun ıslahında yaşanan bu zorlukların aşılması için genetik araştırmaların artırılması büyük önem taşımaktadır (Kaplan 2017).

İç Batı Anadolu bölgesi ile Batı Akdeniz bölgesinin kuzeyinde yetiştiriciler tarafından yağlı kuyruklu koyunların tercih edilmemesi nedeniyle Dağlıç ve Kıvırcık koyunu melezi olan Pırlak koyun ırkı ilgi görmeye başlamıştır. Bu bölgelerde olumsuz çevre koşullarına adaptasyon yeteneğiyle yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan bu koyun ırkının et kalitesi genellikle yüksektir ve etleri oldukça lezzetlidir (Anonim 2009).

Mevcut ırkların genetik alt yapılarının belirlenerek yeni generasyonların elde edilmesi ile hayvancılık alanında başarı arttırılmalıdır. Verim özellikleriyle ilişkili genotipik dağılımların ortaya çıkarılması ve bu özelliklere sahip daha avantajlı ırkların belirlenmesi, ıslah çalışmalarının temelini oluşturacaktır. Üstün fenotiplerin gelişiminde genotipin ve çevrenin etkileri bulunmaktadır. Çevre etkilerinin kontrolü daha kolay olmakla birlikte, genotipik farklılıkların etkilerinin sürekli olarak izlenmesi gerekmektedir. Bu etkilerin belirlenmesinde gen polimorfizmlerinin tespiti önemli katkılar sağlayabilmektedir. Bu farklılıklara neden olan kantitatif karakter lokuslarının (Quantitative Trait Locus; QTL) üzerinde birçok genin ortak etkisi bulunmaktadır. Son yıllarda özellikle çiftlik hayvanlarında ekonomik öneme sahip kantitatif özellikleri etkileyen genlerin polimorfizmlerini araştıran çalışmalarda hızlı bir artış gözlemlenmektedir.

Marker destekli seleksiyon (MAS) programlarında kullanılabilecek genlerin veya markerlerin belirlenmesi QTL araştırmalarının temel amacıdır. DNA markerleri, bir tür içerisinde farklı bireylerde farklı dizilere sahip olan DNA bölgeleridir. Günümüzde varyasyonların belirlenmesinde en sık kullanılan tekniklerden biri olan Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP) yöntemi, genetik varyasyonun belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) temeline dayanmaktadır. RFLP yöntemi, polimorfizmin yüksek olması, kodominant kalıtım göstermesi, tekrarlanabilirlik oranının yüksekliği, özgün Deoksiribonükleik Asit (Deoxyribonucleic Acid; DNA) dizisine ait bilgiye ihtiyaç bulunmaması, nispeten ekonomik ve kolay olması nedeniyle tercih edilmektedir. Bu yöntem, restriksiyon enzimlerinin DNA molekülünde kesim yerlerinin dağılımını etkileyen nokta mutasyonlarına bağlı olarak oluşturduğu farklı büyüklükteki fragmentlerin jel elektroforez tekniği ile ayrımı esasına dayanmaktadır. PCR-RFLP yöntemi, genetik yapının belirlenmesi amacıyla birçok alanda kullanılmakla birlikte, DNA düzeyinde polimorfizm elde etmek amacıyla çoğu çalışmada tercih edilmektedir.

Gelişen moleküler tekniklerle birlikte çiftlik hayvanlarında ekonomik özelliklerle ilişkilendirilen birçok kantitatif özellik lokusu tespit edilmiştir. Araştırmaya konu olan, Kalpastatin (Calpastatin; CAST) ve Miyostatin (Myostatin; MSTN) gen lokusları, birden fazla özelliği aynı anda etkileme potansiyeline sahip pleotropik etkili genlerdir. Bu çalışmanın amacı, Kıvırcık x Dağlıç koyun ırkı melezi olduğu bildirilen (Çelikeloglu 2012) Pırlak koyun ırkında et verimi, kalitesi ve karkas özellikleriyle ilişkili önemli markerler arasında bulunan CAST ve MSTN gen lokuslarına ait polimorfizmlerin araştırılmasıdır.

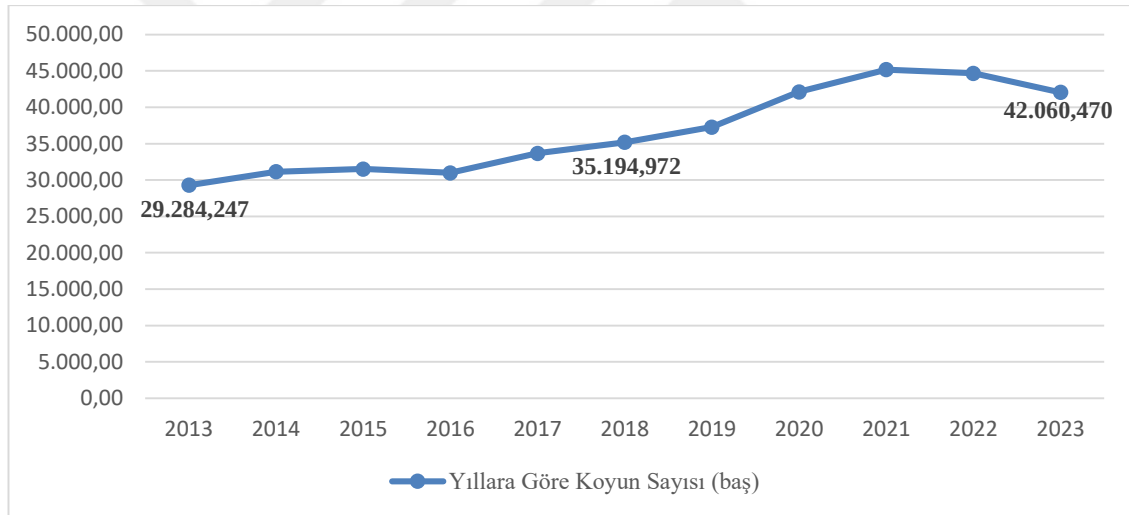
2. KAYNAK TARAMASI

Bölgelere göre değişmekle birlikte, ekonomik ve kültürel açıdan önemli bir yere sahip olan koyun, et, süt ve yapağı verim özellikleri bakımından değerli bir çiftlik hayvanıdır. Türkiye, doğal koşulları ve tarımsal yapısı ile koyun yetiştiriciliğine elverişli bir ülkedir. Ülke ve yetiştirici ekonomisine katkı sağlamak amacıyla, hayvanların önemli özellikler bakımından verim yeteneklerinin saptanması ve iyileştirilmesi gerekmektedir. Son zamanlarda tüm dünyada yerli gen kaynaklarının tanımlanması konusundaki çalışmalar hızla artmıştır. Kaynakların azalması, hastalık ve iklim değişikliği gibi olumsuz çevre koşullarına adapte olmuş hayvanların varlığı, mevcut genetik çeşitliliğin korunması ile sağlanabilmektedir.

2.1. Türkiye’de Koyun Varlığı

Türkiye’de, 2022 yılında toplam koyun sayısı 44.687.188 baş iken, 2023 yılında bu sayı %5.9 oranında azalarak 42.060.470 baş seviyelerine kadar düşmüştür (TÜİK 2023a). Çizelge 2.1’de gösterildiği gibi, son 10 yılın verileri incelendiğinde koyun sayısının 2016, 2022 ve 2023 yılları hariç diğer yıllarda giderek arttığı görülmektedir.

Çizelge 2.1. Türkiye’de 2013-2023 yılları arasındaki koyun sayısı (baş)

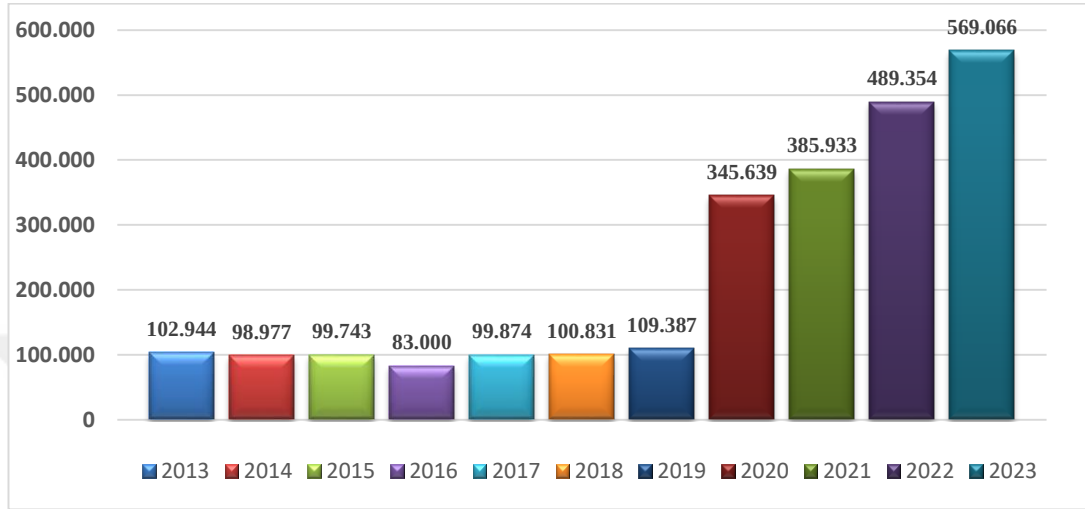


2.2. Türkiye’de Koyun Eti Üretimi

Yüksek kalitede temel amino asitleri içeren kırmızı et ayrıca protein, demir ve çinko bakımından zengindir. Erişkin bir insanın günlük alması gereken protein miktarı cinsiyete bağlı olarak 45-55 g aralığında değişmektedir (TUKETBİR 2018). Hayvancılıkta et ihtiyacını karşılamak amacıyla verim özelliklerinin artırılması için ırklar arası melezleme çalışmaları yapılmaktadır. Bu melezlemeler, çeşitli adlandırmalarla yerli melez-ırk çeşitliliğini arttırmıştır. Küçükbaş hayvancılıkta et üretimi, hayvan sayısı ve karkas ağırlığıyla doğru orantılı olarak değişim göstermektedir. Ülkemizde bölgelere göre değişmekle beraber koyun eti yaygın olarak tüketilmektedir. Koyun varlığındaki sayısal artışın yanı sıra karkas ağırlığındaki artış da önemlidir. Bu nedenle, besi koyunculuğunda ıslah çalışmalarının hedeflerinden biri de karkas ağırlığının arttırılmasıdır.

Türkiye'de, 2023 yılında koyun eti üretimi önceki yıla göre %16,3 artarak 569 bin 66 ton seviyesine ulaşmıştır (TÜİK 2023b). Çizelge 2.2'deki veriler incelendiğinde ülkemizde koyun yetiştiriciliği için birçok koşulun uygun olmasına rağmen, koyun eti üretiminde istenilen seviyeye ulaşamamıştır.

Çizelge 2.2. Türkiye’de 2013-2023 yılları arasındaki koyun eti üretimi (ton)



2.3. Pırlak Koyunu

Afyonkarahisar'da yoğun olarak yetiştirilen Dağlıç ırkı koyunun yağlı kuyruklu olması, yetiştiriciler tarafından tercih edilmemesine neden olmuştur. Bu durum, Dağlıç x Kıvrıcık melezi olan, Pırtı veya Pırık olarak da adlandırılan Pırlak koyun ırkına ilginin artmasına yol açmıştır (Şekil 2.1). Uşak, Kütahya ve Afyon çevresini kapsayan İç Batı Anadolu ile Isparta ve Burdur çevresini kapsayan Batı Akdeniz bölgesinde yaygın olarak bulunmaktadır. Çevresel koşullara dirençleri ve üstün performansları nedeniyle yetiştiriciler tarafından tercih edilmektedir. Kombine verime sahip olan Pırlak koyunları, Antalya ve çevresinde de yoğun bir şekilde yetiştirilmektedir (Çelikeloglu 2012).



Şekil 2.1. Pırlak koyunu erkek ve dişi (TAGEM 2009)

Pırlak koyunlarının vücutları orta büyüklükte ve genellikle beyaz renklidir. Ancak, göz, kulak, ağız ve ayaklarda siyah lekeler görülebilir. Kulaklar genellikle ileriye doğru dönebilir ve yere paralel veya yarı eğiktir. Dişiler genellikle boynuzsuzdur, ancak erkekler spiral boynuzlara sahip olabilir. Sürüler arasında farklılıklar görülmekle birlikte, düz burun ve ince ve yağsız bir kuyruk yapısına sahiptirler. Genel olarak, yukarıdan aşağıya doğru yağ oranı azalan bir kama şekli görünümündedirler. Et verimi yüksek olan Pırlak koyunlarında, dişi kuzuların doğum ağırlığı genellikle 3,5 kg civarındadır, erkek kuzularda ise bu değer yaklaşık 4 kg olarak bildirilmiştir. Yetişkin koyunlarda genel olarak 50-55 kg arasında değişen bir canlı ağırlığa sahiptirler ve erkeklerde günlük canlı ağırlık artışı genellikle 200 g civarındadır. 2-2,5 kg arasında yapağı verimi olup, kuzu verimi ise 1,2-1,5 olarak bildirilmiştir (Anonim 2009).

Tarım ve Orman Bakanlığına bağlı Tarımsal Araştırmalar ve Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından 2011 yılından itibaren uygulanan “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi I” kapsamında Pırlak koyun ırkının ıslahı için yetiştiricilere destek sağlanmaktadır. 2015 yılında TAGEM’in koordinatörlüğünde, Antalya İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği tarafından yürütülen ve Antalya ilinde başlatılan bu proje ile küçükbaş hayvan verimliliğinde artış, kırsal alanda iş istihdamı sağlanması ve yerli gen kaynaklarımızın korunması amaçlanmıştır.

2.4. Moleküler Markerler

Moleküler markerler, genomda belirli bir gen bölgesiyle ilişkilendirilen DNA parçalarıdır. Bu markerler ile farklı genotiplere ait DNA dizilim farklılıklarını çeşitli şekillerde belirlenebilmektedir. DNA markerleri olarak da adlandırılan bu markerler, genellikle DNA'nın kodlanmayan kısımlarında oluşan nokta mutasyonları, eklemeler (insersiyonlar), çıkarmalar (delesyonlar) veya tekrarlanan DNA bölgelerinin replikasyonu sırasında oluşan hatalardan kaynaklanmaktadır. Nükleik asit temelli genetik markerlerin genom analizlerinde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Populasyonda herhangi bir genin ya da fenotipik özelliğin birden çok formları bulunuyorsa, o gen veya özellik polimorfik olarak tanımlanmaktadır. Moleküler marker yöntemleri kullanarak belirlenebilen bu polimorfizmler, sekans dizisi, amino asit dizisi, kromozomal yapı ya da fenotipik özellikler çeşitli şekillerde gözlemlenebilmektedir (Yorgancılar 2015).

Farklı genotiplere ait DNA dizilim farklılıklarını belirleyen DNA markerlerinden biri olan RFLP, DNA'nın enzimlerle kesilmesi sonucu oluşan polimorfizmin tespitine dayanmaktadır. PCR tabanlı diğer markerler ise RAPD, AFLP, SSCP, STS, mtDNA, SNP, VNTR'lerdir. Moleküler markerler, DNA düzeyindeki polimorfizmi gözlemlememizi sağlayarak çiftlik hayvan genetiğinde önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli moleküler yöntemlerin geliştirilmesiyle birlikte geniş bir varyasyon arasından en uygun genetik markerlerin seçilmesi, amaca en uygun şekilde ulaşma açısından büyük öneme sahiptir.

2.5. Restriksiyon Endonükleazlar

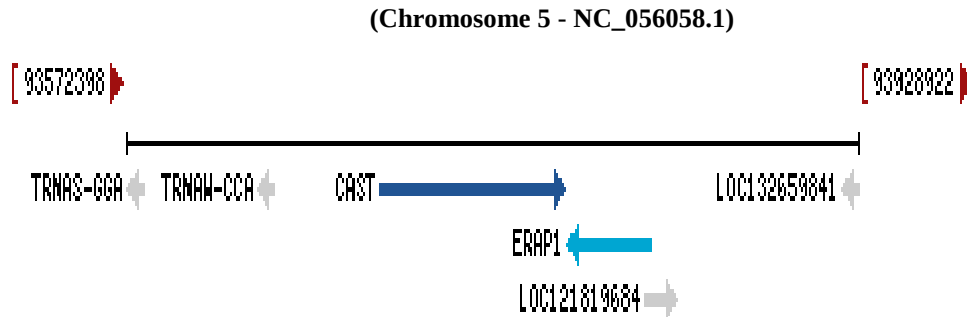
Restriksiyon enzimleri, çift iplikli DNA'da belirli bölgeleri tanıyıp kesim yaparak bir gen bölgesinin veya bir DNA fragmentinin çıkartılmasında rol almaktadırlar. Günümüzde 3000'den fazla DNA dizilimini tanıyan ve kesen restriksiyon endonükleaz enzimi bulunmaktadır (Murray 2000). Bu enzimler laboratuvar ortamında izole edilebilmekte ve birçok moleküler genetik tekniklerinde rutin olarak kullanılmaktadırlar.

2.6. Koyunlarda Et Kalitesi ve Karkas İle İlişkili Bazı Aday Genler

Çiftlik hayvanlarında et verim kalitesi ve karkas ağırlığı önemli fenotipik özelliklerdendir. Koyunlarda et kalitesi ve karkasla ilişkili birçok aday gen bulunmaktadır. İlk olarak 1983 yılında Dorset koyunlarında yapılan çalışmada 18. kromozom üzerinde bulunan CLPG (Callipyge) geninin kas gelişimini etkilediği tanımlanmıştır (Cockett vd. 1996). GH (Growth hormon) geninin süten kesme sonrası ağırlık kazancını etkilediği tespit edilmiştir (Moradian vd. 2013). LEP (Leptin) geninde tespit edilen A113G varyantı tüm vücut yağ ağırlığı ile ilişkili bulunmuştur (Barzehkar vd. 2009). DGAT1 (Diacylglycerol Acyltransferase1) ve UCP1 (Uncoupling Protein) genlerinin, deri altı karkas yağ derinliği ile ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (Mohammadi vd. 2013, Yang vd. 2014). MSTN geni et verimi ile ilişkili bulunmuştur (Hickford vd. 2010). CAST geninde et kalitesini ve yağ asidi kompozisyonunu etkileyen genetik varyantlar tespit edilmiştir (Aali vd. 2017).

2.7. Koyunlarda Kalpastatin (CAST) Geni

Fizyolojik seviyede incelendiğinde CAST geni, kalpainlerin endojen inhibitörleridir. Kalpain sistemi üç molekülden oluşmaktadır. Koyunlarda 5. Kromozom üzerinde yer alan CAST geni (Şekil 2.2) iskelet kas gelişimi, protein yıkımının düzenlenmesi, miyoblast göçü ve büyüme gibi farklı fizyolojik olaylarda önemli rol almaktadır. CAST seviyesindeki artış sonucu kalpain aktivitesi düşmekte ve kas protein parçalanmasını artırmaktadır. Bu da kasların büyüme oranını azaltarak kesim sonrasında etin yumuşamasını hızlandırmaktadır. (Zhou vd. 2007; Djadid vd. 2011; Gharahveysi vd. 2012). Ayrıca, kalpainin kesim sonrası oluşan etin sertlik derecesinde, miyofibrillar proteinleri yıkarak öncül rol oynadığı belirtilmiştir (Page vd. 2002). CAST geninde tespit edilen polimorfizmler ekzon 1C ve 1D bölgeleri ile bunların arasındaki intronlardan oluşmaktadır.

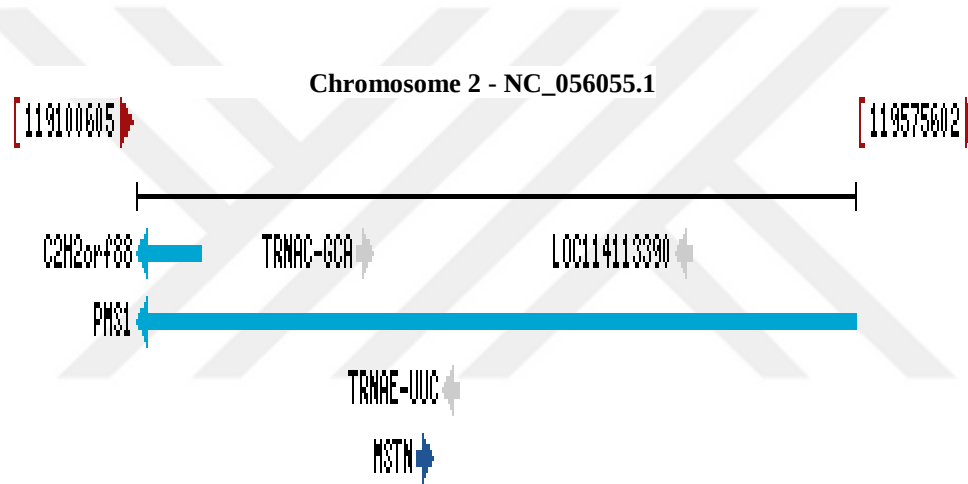


Şekil 2.2. Kalpastatin gen yapısı (NCBI)

2.8. Koyunlarda Miyostatin (MSTN) Geni

Büyüme ve farklılaşma faktörü 8 (Growth Differentiation Factor-8; GDF8) olarak da tanımlanan iskelet kası ana düzenleyicilerden olan MSTN geni, kas liflerinin oluşmasını engelleyerek kas gelişmesini düzenlemede rol almaktadır. Gende ortaya çıkan mutasyonların farklı memeli türlerinde yaygın olarak gözlenen çift kaslılık ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

MSTN geninin ilk olarak farelerde iskelet kaslarında büyümeyi etkilediği tespit edilmiş ve özellikle iskelet kaslarında sentezlenen MSTN, kasların büyüme ve farklılaşmasını sağlamaktadır (McPherron vd. 1997). Çiftlik hayvanlarında et verim kalitesini etkileyen MSTN, çift kaslılığa neden olmaktadır. Diğer omurgalı canlıların homolog genlerine benzer biçimde, koyunlarda 2. kromozom üzerinde bulunan MSTN geni, 3 ekson ve 2 intron şeklinde düzenlenmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Miyostatin gen yapısı (NCBI)

GDF-8'in kodlama bölgelerinde üç mutasyon (iki tanesi ekson 1'de, bir tanesi ekson 2'de) ve altı durdurma (stop) kodonu oluşturan mutasyonu (ekson 2 ve ekson 3'te) ile birlikte toplam dokuz mutasyon bildirilmiştir. Ekson 2 ve 3'teki durdurma kodonları, kas gelişimini durduran ve çift kaslılık fenotipine yol açan MSTN geninin negatif etkilenmesine neden olmaktadır (Bellinge vd. 2005).

Koyunlarda birçok ırkta MSTN geni ile ilgili çok sayıda QTL çalışmaları yapılmıştır. Bunlar, kas gelişimi (Marcq vd. 2002), kaslanma ve yağ kalınlığı (Walling vd. 2004), (Broad vd. 2000; Johnson vd. 2005), (McRae vd. 2005), (Ren vd. 2011), karkas miktarının artışı (Boman vd. 2010), vücut ve sütten kesim ağırlığı artışı (Ansary vd. 2011), büyüme ve karkas özellikleri (Hickford vd. 2010; Wang vd. 2016), kuzu doğum ağırlığı (Farhadian vd. 2012), iskelet kasları (Xing vd. 2014) üzerine MSTN geninin önemli bir rolü olduğunu göstermiştir.

2.9. Çalışmada Uygulanan Moleküler Genetik Teknikler

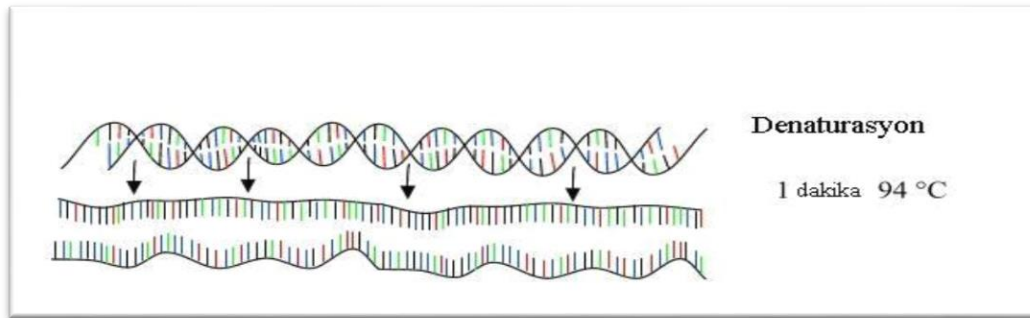
2.9.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu, canlı hücrelerden DNA'nın saf bir biçimde elde edilmesini sağlamaktadır. Kapsam olarak, belirli kimyasal maddeler ve enzimler kullanılarak canlı hücrelerin zarlarının veya duvarlarının yıkılmasıyla başlayıp hücre içinde bulunan RNA ve proteinlerin serbest bırakılması ve uzaklaştırılması sonucu saf bir DNA kaynağının elde edilmesine dayanmaktadır.

2.9.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

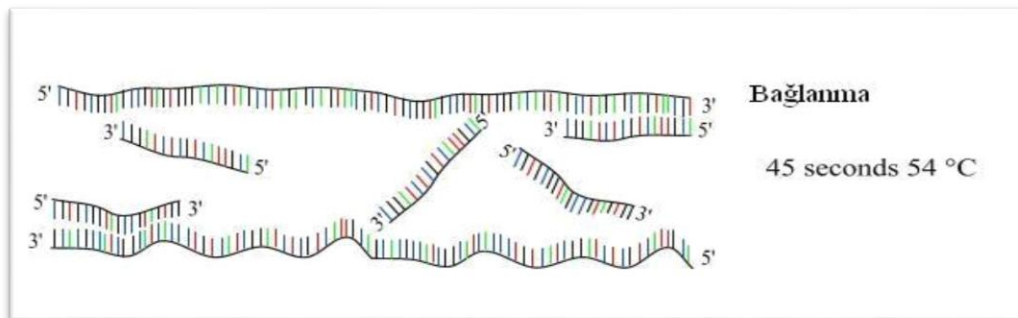
1986 yılında geliştirilen PCR tekniği, çalışılmak istenen spesifik DNA bölgesinin in-vitro koşullarda çok sayıda kopyasının elde edilmesi yöntemidir. Bu yöntem, başlangıç ayrılma (pre-denatürasyon) ve son uzama (final-extension) aşamalarını da içermekle birlikte aşağıda açıklanan üç ana basamaktan oluşmaktadır (Watson vd. 1992). PCR uygulamasındaki bu üç temel basamak genellikle 30-35 döngü olarak tekrarlanmaktadır.

Ayrılma (Denatürasyon): Kalıp DNA, 1-5 dk sürelerde 92-95°C sıcaklığa maruz bırakılarak çift sarmal yapısı bozulmakta ve tek bir zincir haline gelmektedir (Şekil 2.4).



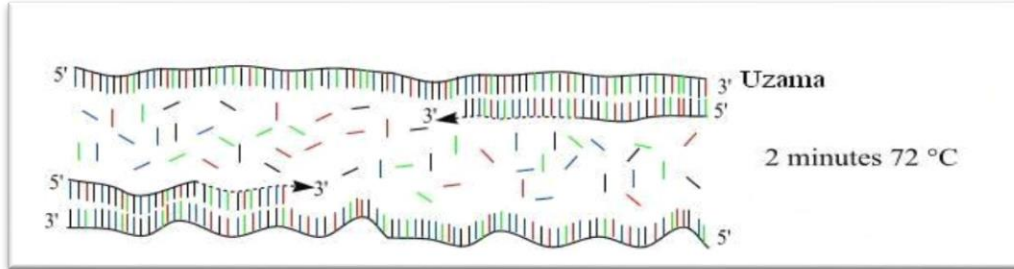
Şekil 2.4. PCR ayrılma aşaması

Bağlanma (Annealing): Genellikle 55-72°C sıcaklıkta, 30-60 saniye arasında değişen sürelerde gerçekleşen bu evrede ayrılan tek zincirlere özel olarak sentezlenen oligonükleotid primerler, hedef bölgelere bağlanmaktadır (Şekil 2.5). Primerlerin sentezlenmesinde, birbirlerinin tamamlayıcısı olmamaları dolayısıyla dimer oluşturmamalarına dikkat edilmelidir.



Şekil 2.5. PCR bağlanma aşaması

Uzama / Sentez (Extension): Bu aşama, *Taq* DNA polimeraz enzimi için optimum sıcaklık olan 72°C'de 1-5 dakika sürede gerçekleştirilir (Erlich vd. 1991). Bağlanmış primerlerin 3'OH ucuna *Taq* DNA polimeraz enzimi yardımıyla ortamda serbest halde bulunan dNTP bazlarını ekleyerek hedef bölgenin çoğaltılması sağlanmaktadır (Şekil 2.6).

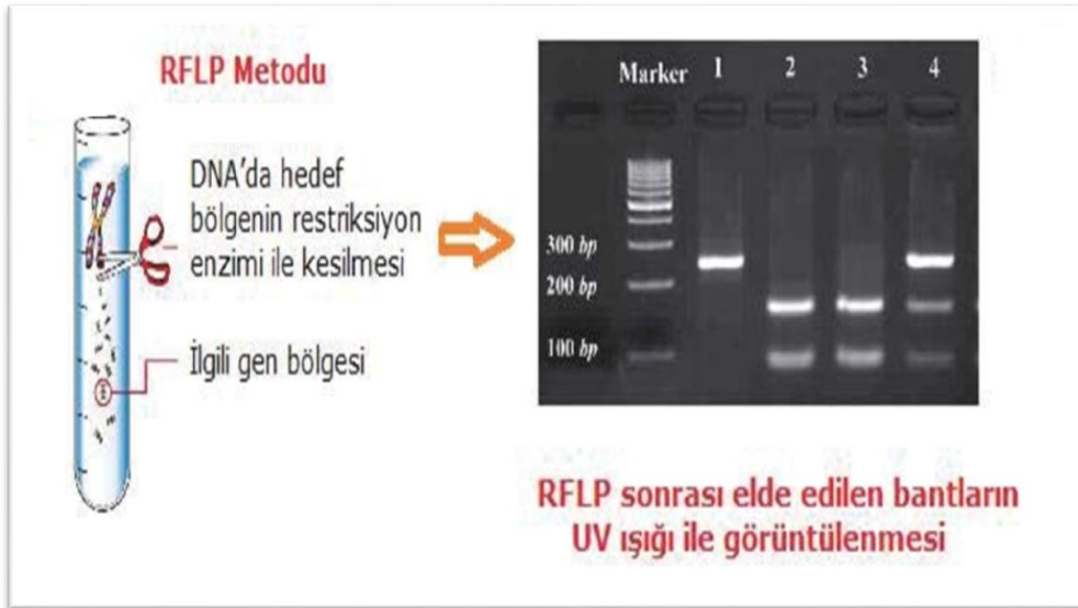


Şekil 2.6. PCR uzama aşaması

2.9.3. Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)

RFLP yöntemi, PCR tekniği ile çoğaltılan DNA fragmentinde, restriksiyon endonükleaz enzimleri aracılığıyla DNA dizilerindeki hedef bölgelerin tanınarak kesilmesi sonucu oluşan parçaların elektroforetik ayrımına dayanmaktadır. Aynı enzim farklı bireylerde genetik yapıların farklılığı nedeniyle farklı miktar ve uzunlukta parçalar oluşturabilmektedir (Güz ve Kılınçer 2012).

Restriksiyon enzimleriyle kesim sonrasında hızlı bir şekilde genotipleme yapma imkânı sağlayan PCR-RFLP yöntemi, güvenilir ve tekrarlanabilir olmakla birlikte uygulanması kolay ve ekonomiktir. Diğer moleküler tekniklere göre avantajlı olması nedeniyle polimorfizm çalışmalarında daha çok tercih edilmektedir (Şekil 2.7) (Özdemir ve Doğru 2008).



Şekil 2.7. PCR-RFLP yöntemi

2.9.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforez yöntemi, nükleik asitlerin, boyutları, ağırlıkları ve şekillerine göre bir elektrik alanı içinde göç etmesi temeline dayanmaktadır. Negatif yüklü DNA molekülleri, pozitif uca doğru hareket eder ve belirli bir elektrik alanında ayırt edilebilmektedirler. Daha kısa veya hafif nükleik asitler, agaroz jelin porlarından daha hızlı geçerken, daha uzun veya ağır moleküller daha yavaş ilerlemektedirler.

Kırmızı alglerden elde edilen agaroz doğrusal bir polisakkarittir. Sıcak suda çözünebilen agaroz soğutulduğunda hidrojen bağları sayesinde jel haline gelir. Ticari olarak temin edilen agarozların saflık dereceleri değişiklik gösterebilmektedir, bu da DNA moleküllerinin jel içerisinde göç hızını etkileyebilmektedir (Temizkan ve Arda 2021).

2.10. Koyunlarda CAST ve MSTN Genleri İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Literatürdeki öncü çalışma, Palmer vd. (1998) tarafından Dorset Down koyununun nükleotid diziliminin belirlenerek restriksiyon enzimleri ile kesim sonucu genotiplerin belirlenmesi üzerinedir. CAST genindeki polimorfizmler *MspI* ve *NcoI* restriksiyon enzimleriyle tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada etin sertliği üzerine etkili CAST/*MspI* geninin iki farklı allelinin (M ve N) bulunma frekansını sırası ile 0.77 ve 0.23 olarak saptanmıştır.

Shahroudi vd. (2006), 100 baş Karagül koyunu üzerinde yaptıkları çalışma kapsamında PCR-RFLP yöntemi ile CAST lokusunun *MspI* enzimi ile muamelesi sonucunda; M ve N allel frekanslarını sırasıyla 0.79 ve 0.21 olarak bulmuşlardır. MM, MN ve NN genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.61, 0.36 ve 0.03 olarak tespit etmişlerdir.

Mohammadi vd. (2008), farklı bölgelerde bulunan 111 baş Arap koyununda PCR-RFLP tekniği yardımıyla CAST genindeki polimorfizmi *MspI* restriksiyon enzimi kullanarak tespit etmişlerdir. Çalışmada A alleli 0.85 ve B alleli ise 0.15 olarak bulunmuştur. AA, AB ve BB genotiplerinin frekansları ise; sırasıyla 0.70, 0.29, ve 0.01 olarak belirlenmiştir.

Gabor vd. (2009), dört Slovakya koyun ırkına ait toplam 96 baş koyun CAST gen polimorfizmi araştırmışlardır. PCR amplikonlarını *MspI* enzimi ile kestikten sonra tespit edilen genotip frekansları MM için 0.87 ve MN için 0.13 olarak belirtilirken, NN genotipinin ise gözlenmediği bildirilmiştir. M ve N allel frekanslarını ise 0.94 ve 0.06 olarak tespit edilmiştir.

Soufy vd. (2009), Sanjabi koyunlarında PCR-RFLP uygulamasıyla gerçekleştirdikleri çalışmada MM, Mm ve mm genotiplerini belirlemişler ve genotip frekanslarını sırasıyla 0.02, 0.01 ve 0.97 olarak tespit etmişlerdir. MSTN geni bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olmayan bu populasyonun allel frekansları incelendiğinde, M alleli 0.03 ve m alleli ise 0.97 olduğu ortaya konmuştur.

Khederzadeh (2011), İran'ın Gholistan bölgesinde bulunan 120 baş Dalagh koyunu üzerinde CAST geni polimorfizmini incelediği çalışmada; MM, MN ve NN genotip frekans değerlerini sırasıyla 0.66, 0.29 ve 0.05 olarak tespit etmiştir. M ve N allel frekans değerini de sırasıyla 0.80 ve 0.20 olarak tespit etmiştir. Yapılan ki-kare testinde ise popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu belirlemiştir.

Nanekarani vd. (2011a), İran'ın Lorastan bölgesindeki 100 baş Lori koyununda CAST geni için *MspI* restriksiyon enzimiyle kesim sonrasında; AA, BB ve AB genotip frekanslarını sırasıyla 0.41, 0.13 ve 0.46 olarak tespit etmişlerdir. A ve B allel gen frekanslarını ise 0.64 ve 0.36 düzeyinde bulmuşlardır.

Nanekarani vd. (2011b), yaptıkları diğer bir çalışmada, 120 baş Atabi koyunu üzerinde uyguladıkları PCR-RFLP metodu ile CAST/*MspI* polimorfizmini incelemişlerdir. Çalışma sonunda; AA, AB ve BB genotip frekans değerlerini sırasıyla 0.68, 0.27 ve 0.05 oranında bulmuşlardır. A ve B allel geninin bulunma frekanslarını ise 0.81 ve 0.19 olarak belirlemişlerdir.

Szkudlarek-Kowalczyk vd. (2011), toplam 212 baş koyun üzerinde PCR-RFLP yöntemiyle CAST geni polimorfizm tespiti için *MspI* ve *NcoI* kesim enzimlerini kullanmışlardır. *MspI* restriksiyon enzimi kesimi sonucunda M ve N allel frekansları sırasıyla 0.83 ve 0.17 hesaplamışlardır. Diğer kesim enzimi *NcoI* ise M ve N allel frekans değerlerini sırasıyla 0.96 ve 0.04 olarak tespit etmişlerdir.

Sjakste vd. (2011), Letonya Darkhead koyun popülasyonunda PCR-RFLP yöntemiyle MSTN gen bölgesindeki polimorfizm araştırılmıştır. Bu yerel ırkın korunması amacıyla elde ettikleri DNA dizi analizi sonuçlarına göre 5'UTR üzerinde iki ve intron 1 üzerinde ise dört polimorfik lokus tespit etmişlerdir.

Dehnavi vd. (2012), PCR-RFLP yöntemini kullanarak MSTN geni *HaeIII* polimorfizmini 200 baş Zel koyun ırkında araştırmışlardır. Çalışmalarında, ekzon 3 bölgesinde polimorfizm tespit edilmediğini ve tüm örneklerin mm genotipinde olduğunu belirlemişlerdir.

Khan vd. (2012), Pakistan'da Balkhi ve Kajli ırklarında toplam 600 baş koyunda CAST genindeki polimorfizmleri tespit etmeyi amaçlamışlardır. PCR-RFLP yöntemi sonucunda; Balkhi koyunlarında MM (0.76) ve MN (0.24) genotiplerini tespit ederken NN genotipini gözlemlememişlerdir. Kalji koyunlarında ise MM (0.74), MN (0.24) ve NN (0.02) genotiplerini bulmuşlardır.

Gharahveysi vd. (2012), İran'da 100 baş Zel koyununda CAST geni polimorfizmini *MspI* restriksiyon enzimi kullanarak araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre allel frekansları M alleli için 0.75 ve N alleli için 0.25 olarak tespit edilmiştir. Genotiplerin frekansları ise; MM, MN ve NN için sırası ile 0.62, 0.26 ve 0.12 olarak bulunmuştur.

Ranjbarı vd. (2012), 100 baş Makosi koyununda CAST geni için A, B ve C alleli incelenmiştir. PCR-RFLP tekniği uyguladıkları çalışmada; AA, BB, AB ve AC genotiplerini gözlemlemiş ve frekanslarını sırası ile 0.31, 0.04, 0.63 ve 0.02 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca A, B ve C için allel frekansları ise sırasıyla 0.63, 0.35 ve 0.01 olarak belirlemişlerdir. Gözlenen heterozigotluk değerinin ise 0.47 olarak bildirmişlerdir.

Riaz vd. (2012), Balkhi ve Kajli koyun ırklarında yaptıkları çalışmada, ortalama canlı ağırlık kazancı ile CAST/*MspI* polimorfizmi arasında ilişkiyi incelemişlerdir. İstatistiksel analizler sonucunda mevcut polimorfizm ile ortalama canlı ağırlık kazancı arasında önemli bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. MN genotipine sahip hayvanların diğer genotiplere göre önemli derecede ($P<0.05$) yüksek canlı ağırlık kazancına sahip oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, tespit edilen bu tek nükleotid polimorfizminin büyüme oranı ile ilgili olarak marker olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Suleman vd. (2012), Pakistan'ın yerli ırklarından Thalli, Lohi ve Kajli koyunlarında CAST geni polimorfizmini *MspI* restriksiyon enzimi kullanarak ortaya koymuşlardır. Toplam 300 baş koyun ile yaptıkları bu çalışma sonucunda Lori koyunları için elde edilen genotipler MM, MN ve NN ve frekansları sırasıyla 0.77, 0.20 ve 0.03 olarak, Kajli koyunlarında 0.68, 0.26 ve 0.06, Thalli koyunlarında ise 0.80, 0.20 ve 0 olarak bulmuşlardır. Tüm populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu ve önceki çalışmaların da ışığında bu üç yerli Pakistan koyununda MM genotipini ve M allelini dominant olduğunu belirtmişlerdir.

Ata vd. (2012), Çine Çaparı (90) ve Karya (97) koyun ırkında PCR-RFLP yöntemi aracılığıyla CAST genindeki *MspI* polimorfizmini incelemişlerdir. Karya koyunlarında; MM, MN ve NN genotiplerinin frekanslarını sırası ile 0.30, 0.50 ve 0.20 olarak, M ve N allellerinin frekanslarını ise sırası ile 0.54 ve 0.46 olarak belirlemişlerdir. Çine Çaparı koyunlarında ise MM, MN ve NN genotiplerinin frekansları sırası ile 0.54, 0.39 ve 0.07, M ve N allellerinin frekansları sırası ile 0.74 ve 0.26 olarak bulunmuştur.

Azari vd. (2012), 110 Dalagh koyun üzerinde PCR-RFLP yöntemi uygulayarak CAST genindeki polimorfizmleri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, MM, MN ve NN genotip frekansları sırasıyla 0.36, 0.38, ve 0.26 olarak tespit edilmiştir. M ve N allel frekansları ise sırasıyla 0.55 ve 0.45 olarak belirlenmiştir. Populasyonun MSTN lokusu bakımından monomorfik olduğunu bildirmişlerdir.

Balcıoğlu vd. (2014), Türkiye'de yetiştirilen Kangal, İvesi, Güney Karaman, Akkaraman, Morkaraman, Karayaka ve Karakaş ırklarına ait toplam 190 yerli koyunda PCR-RFLP yöntemi yardımıyla CAST geninin M ve N allellerini belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, M ve N allel frekansları sırasıyla, Kangal için 0.92-0.08, İvesi için 0.59-0.41, Güney Karaman için 0.67-0.33, Akkaraman için 0.69-0.31, Morkaraman için 0.87-0.13, Karayaka için 0.86-0.14 ve Karakaş için 0.89-0.11 olarak tespit edilmiştir. Hardy-Weinberg dengeleri incelendiğinde ise, Ki-kare testi sonucunda Morkaraman, İvesi ve Karayaka populasyonlarının önemli düzeyde sapma olduğu, diğer populasyonların ise dengede olduğu tespit edilmiştir.

Yılmaz vd. (2014), Kıvırcık ırkı kuzularda karkas kalite özellikleri ile CAST geninin ilişkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada; MM (0.73), MN (0.23) ve NN (0.04) genotipleri tespit edilmiştir. M allel frekansı 0.85 ve N allel frekansı 0.15 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada CAST geninde tespit edilen polimorfizmlerin et verimi ve kalitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi açısından önemli olduğu bildirilmiştir.

Jamshidi vd. (2014), 120 baş Mehreban koyun ırkı için PCR-RFLP yöntemi ile MSTN gen ifadesini değiştirme potansiyelinde olan kodlama bölgesinde mevcut mutasyonları incelemişlerdir. Çalışmada, Mm genotip frekansı 0.53 ve mm genotip frekansı ise 0.47 olarak bildirilmiştir. Ayrıca allel frekansları M için 0.26 ve m için 0.74 olarak tespit edilmiştir.

Akbari vd. (2015), 58 baş Kuzey Khorasan Kordi koyununda MSTN geninin *HaeIII* polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada, MSTN geninin 3. ekzonundaki üç genotipten Mm ve mm genotiplerini tespit etmişler ve frekanslarını sırasıyla 0.15 ve 0.85 bulunurken, M allel frekansını 0.08 ve m allel frekansını ise 0.92 olarak bulmuşlardır.

Avanus (2015), Karayaka, Hemsin, Kıvırcık, İmroz, Morkaraman ve Karagül yerli koyun ırklarında, CAST genine ait genetik çeşitliliği PCR-RFLP yöntemi ile araştırmıştır. Araştırma sonunda yapılan genetik analizler ile M ve N allelleri tespit edilmiştir. En yüksek M allel frekansı İmroz (0.96), en düşük Kıvırcık (0.70) ırkında belirlenmiştir. MN, MM ve NN genotip frekansları en yüksek olarak sırasıyla Kıvırcık (0.60), İmroz (0.92) ve Morkaraman (0.07) ırklarında belirlenmiştir. Kıvırcık, İmroz, Karayaka ve Karagül ırklarında NN genotipi belirlenmemiştir. Heterozigotluk değeri Kıvırcık ırkında en yüksek (0.60) iken, İmroz ırkında en düşük (0.07) olarak tespit edilmiştir.

Khalleel vd. (2016), İvesi koyunlarında yaptıkları çalışmada, CAST geni ile büyüme oranı ve nihai canlı ağırlık özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu gözlemlemişlerdir. Ek olarak, MN genotipindekiler MM genotipindeki kuzularla kıyaslandığında, daha yüksek ortalama günlük canlı ağırlık kazancı ve nihai canlı ağırlığa sahip olduğunu da bildirmişlerdir.

Lazar vd. (2016), Siyah Başlı Teleorman kuzusunda PCR-RFLP yöntemini uygulayarak MSTN polimorfizmini araştırmışlardır. 105 baş kuzuda yapılan bu araştırma sonunda mm ve Mm olmak üzere iki genotip tanımlamışlardır. Homozigot mm genotipi 0.16 iken Mm genotipi 0.83 ve M allel frekansını 0.42, m allel frekansını 0.58 olarak bildirmişlerdir.

Dimitrova vd. (2016), Kuzeydoğu Bulgar Merinos ırkında MSTN geninin polimorfizmini incelemişlerdir. 32 koçta PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışmada, M allel frekansı 0.03 ve m allel frekansı 0.97 olarak tespit edilmiştir. MM, Mm ve mm genotip frekansları ise sırasıyla 0.02, 0.01 ve 0.97 olarak belirlenmiştir.

Bozhilova-Sakova vd. (2016), Bulgaristan Karakaçan ırkında PCR-RFLP yöntemi kullanılarak MSTN genindeki polimorfizmi araştırmışlardır. 22 koyun ve 3 koç olmak üzere 25 baş hayvanda yaptıkları bu araştırmada, herhangi bir polimorfizm tespit edilememiştir. Sadece mm genotipi tespit edildiğini, dolayısıyla MSTN lokusunun monomorfik bulunduğunu bildirmişlerdir.

Voronkova vd. (2016), Rusya'nın Güney Avrupa bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Sovyet Merinos ve Salsk koyun ırklarında CAST geni polimorfizmini araştırdıkları çalışmada, Sovyet Merinosu için M allel frekansı 0.88 ve N allel frekansı 0.12 olarak belirlenmiştir. MM, MN, ve NN genotiplerinin frekanslarının ise sırasıyla 0.82, 0.12, ve 0.06 olarak tespit edildiği ifade edilmiştir. Salsk koyununda ise M ve N allel frekansları 0.89 ve 0.11, genotip frekansları sırasıyla MM ve MN, 0.78 ve 0.22 olarak bildirilmiştir.

Kaplan vd. (2017), Trakya'da yetiştirilen 100 baş Kıvrıcık koyun ırkı üzerinde PCR-RFLP yöntemi ile CAST gen polimorfizmini *MspI* restriksiyon enzimi kullanarak incelemişlerdir. Çalışma sonunda MM, MN ve NN olarak üç genotip tespit edilmiş ve frekansları sırasıyla 0.82, 0.16 ve 0.02 olarak belirlenmiştir. M ve N alel frekanslarını ise sırasıyla 0.90 ve 0.10 olarak bulmuşlardır. Ayrıca, mevcut populasyonun CAST geni bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu ifade edilmiştir.

Dimitrova vd. (2017), Bulgar Karnobat Merinos koyun ırkı üzerinde yaptıkları çalışmada, koyunlarda et verimliliği ile ilişkili CAST ve MSTN genlerinin polimorfik yapılarını ortaya koymak amacıyla CAST geni bakımından *MspI*, MSTN geni için *HaeIII* restriksiyon endonükleazlarını kullanmışlardır. Çalışma sonunda MSTN geni monomorfik bulunurken, CAST geninin allel frekansı M için 0.94 ve allel N için 0.06 ile polimorfik olduğu ve gözlenen genotip frekansları: MM genotipi için 0.89 ve genotip MN genotipi için 0.11 olduğu bulunmuştur, NN ise genotipinin gözlenmediği bildirilmiştir.

Kolenda vd. (2019), yaptıkları çalışmada Kamieniec ve Pomeranian koyun ırklarında MSTN genindeki polimorfizmleri tespit etmeyi amaçlamışlardır. Genotipler arasında sadece Kamieniec grubunda MSTN-A için homozigot hayvanlarda önemli farklılıklar bulunmuştur. Pomeranya koyunlarında MSTN genotiplerinin büyüme özellikleri üzerindeki istatistiksel etkisi doğrulanamamıştır. MSTN genotiplerinin ve allellerinin yaygınlığının ve etkisinin koyun ırkına göre değiştiğini ve bazı cinsler için MSTN geninin büyüme özellikleri için bir genetik işaretleyici olabileceğini bildirmişlerdir.

Sahu vd. (2019), Hindistan'da yetiştirilen 103 baş Nilagiri koyun ırkındaki MSTN geninin ekzon 3 üzerinde bulunan polimorfizmi ve büyüme ile ilişkisinin tespit edilmesi için yapmış oldukları çalışmada; ekzon 3'te G5622C lokusunda tek bir nükleotid polimorfizmi tespit etmişlerdir. MM ve Mm genotipi tespit edilirken mm genotipi belirlenememiştir. Allel gen frekanslarını; M için 0.69, m için ise 0.31 olarak bildirmişlerdir.

Jyoti vd. (2020), yaptıkları çalışmada Malpura koyunlarındaki MSTN geninin tam dizisini karakterize etmek ve popülasyondaki genetik değişkenliğini incelemeyi amaçladıkları çalışmada, toplam 16 nükleotid değişimi tespit etmişlerdir. Bunlardan hiçbirisi ekzonik bölgede gözlenmemiştir. İkisinin promotörde, üçünün de 5'UTR'de, altısının intron-1'de, birinin intron-2'de ve dördünün 3'UTR'de olduğu gözlenmiştir. Ayrıca koyunlarda çift kaslanma için varsayılan mutasyonun Malpura popülasyonunda mevcut olmadığı bildirilmiştir.

Haren vd. (2020), 30 baş Endonezya Batur koyunlarında MSTN geninin 3. ekzonundaki polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışma sonunda yalnızca iki alel (G ve C) ve üç genotip (GG, GC, CC) gözlenmiştir. 11 polimorfik bölge tespit edilmiş olup G ve C allel frekansları sırası ile 0.74 ve 0.26 olarak, GG, GC ve CC genotip frekansları sırası ile 0.55, 0.38 ve 0.07 olarak tespit edilmiştir.

Durmaz (2021), yüksek lisans tez çalışması kapsamında 98 baş Zom koyununda CAST geni bakımından polimorfizm belirlediği araştırmasında; CAST lokusunda iki alel (M ve N) ve üç genotip (MM, MN, NN) tespit etmiştir. M ve N alellerinin frekansı sırasıyla 0.57 ve 0.43 olarak hesaplanırken, genotip frekansları ise sırasıyla 0.17, 0.79 ve 0.04 olarak belirlenmiştir. Gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasındaki farklılık istatistik açıdan önemli bulunmuş ($P<0.05$) ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinden önemli ölçüde saptığı belirlenmiştir.

Özdemirov vd. (2021), Dağıstan Dağ koyun ırkında CAST geni polimorfizmini PCR-RFLP tekniği ile araştırdıkları çalışmada; tespit edilen M ve N alleli frekansını sırasıyla 0.97 ve 0.03 olarak, MM, MN, genotiplerinin frekanslarını sırasıyla 0.07, 0.93, olarak tespit etmişlerdir. NN genotipi gözlemlenmemiştir. Elde edilen bilgilerin, Dağıstan Dağ koyun ırkına ait gen havuzunun daha da geliştirilmesi gerektiği ve bu çalışmanın gelecekte yapılacak araştırmalar için referans olabileceği bildirilmiştir.

Kolosov vd. (2021), 131 Rus Volgograd cinsi koyun için yaptıkları çalışma sonunda CAST geni için tespit edilen iki genotipin frekansları MM ve MN için sırasıyla 0.88 ve 0.12 olarak belirlenmiştir. NN genotipinin belirlenemediği bu çalışmada elde edilen polimorfizmlerin Volgograd koyun ırkı için yapılacak ıslah çalışmaları için kaynak olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Kırıkçı (2021), Karadeniz bölgesinin dört farklı ilinde bulunan 105 baş Karayaka koyun ırkında CAST/*MspI* gen polimorfizminin tespiti için yaptığı çalışmada; MM ve MN genotipik frekansları sırası ile 0.84 ve 0.16 olarak bulunmuştur. Elde edilen bulgular Karayaka ırkı için popülasyon düzeyinde CAST gen polimorfizmi hakkında bilgi sağlanmış ve gelecekte Karayaka'nın et kalite özelliklerini iyileştirmek için yapılabilecek genomik seleksiyon çalışmalarında referans bilgi olarak dikkate alınabileceğini bildirmiştir.

Kırıkçı vd. (2022), Türkiye'de en çok yetiştiriciliği yapılan koyun ırklarından biri olan Akkaraman koyunlarında yaptığı çalışmada Yozgat ilinde bulunan yedi farklı sürüden aldığı 50 baş koyun üzerinde PCR-RFLP kullanarak CAST geni için MM, MN ve NN genotiplerinin frekanslarını sırası ile 0.44, 0.54 ve 0.02 olarak, M ve N alellerinin frekansları sırası ile 0.68 ve 0.32 olarak belirlenmiştir.

Saygılı (2021), 110 baş Morkaraman koyununda MSTN geninin ekson 3 bölgesindeki *HaeIII* polimorfizmini incelemiştir. MSTN geni için MM, Mm ve mm genotip frekansları sırasıyla 0.09, 0.69 ve 0.22, M allel frekansı 0.44 ve m allel frekansı 0.56 olarak tespit edilmiştir. Populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmamasına rağmen MSTN geni polimorfizm gösterdiğini ve bunun ıslah çalışmalarında genetik marker olarak kullanılabileceğini bildirmiştir.

Bozhilova-Sakova vd. (2022), 3 Bulgar koyun ırkında MSTN ve CAST gen polimorfizlerini incelemişlerdir. Toplam 60 baş kuzuda PCR-RFLP yöntemi uygulanan çalışmanın sonuçlarına göre CAST geninin Synthetic Population Bulgarian Milk (SPBM) ırkına ait kuzularda polimorfik olduğu, diğer iki ırk olan Cooper-Red Shumen ve Karakachan'ta ise monomorfik olduğu belirlenmiştir. MSTN geni test edilen tüm hayvanlarda monomorfik bulunmuştur. CAST genindeki allelik frekansları M alleli için 0.91, N için 0.09 olarak tespit edilmiştir. Genotip frekansları MM ve MN için sırasıyla 0.82 ve 0.18 bulunmuştur. SPBM kuzularında CAST geni için belirlenen genotip polimorfizminin etin yumuşaklığı arasındaki olası ilişkinin tespiti için gelecekteki araştırmalarda kullanılabileceği bildirilmiştir.

Bayraktar (2022), Irak İvesi koyunlarında yaptığı çalışmada CAST/*MspI* ve MSTN/*HaeIII* polimorfizmini araştırdığı çalışmada; CAST için MM, MN ve NN genotip frekanslarını sırasıyla 0.70, 0.16 ve 0.14 olarak; M ve N allel frekanslarını ise 0.78 ve 0.22 olarak belirlemiştir. MSTN lokusu için ise iki genotip (MM ve mm) tespit edilmiş ve Mm genotipi gözlenmemiştir. M ve m allel frekansı sırasıyla 0.07 ve 0.93, mm ve MM genotip frekansı sırasıyla 0.85 ve 0.15 olarak bulunmuştur. Hardy-Weinberg dengesinde olan MSTN gen lokuslarına ait polimorfizmler tespit edilmiştir.

Uğuz (2022), Türkiye yerli koyun ırklarından olan Morkaraman (29), Sakız (30), Kıvırcık (28) ve Pırlak (24) ırkına ait toplam 111 baş hayvan için MSTN genindeki g+6723 varyasyonunun varlığını *BseGI* restriksiyon enzimi kullanarak incelemiştir. Yapılan çalışma sonucunda koyun ırklarının hiçbirinde MSTN geni g+6723 polimorfizmine rastlanılmadığı bildirilmiştir.

Bozhilova-Sakova vd. (2022), Bulgaristan'da yetiştirilen 10 yerli koyun ırkından 420 baş koyunda MSTN geni için *DraI* polimorfizmini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda MSTN lokusunda sadece BB genotipi tespit edilmiştir.

Dokgöz (2023), yüksek lisans tez çalışmasında Osmaniye ilinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan 100 baş İvesi ve 100 baş Akkaraman koyununda CAST genindeki polimorfizmleri belirlemek amacıyla PCR-RFLP tekniği uygulamıştır. Akkaraman ırkında M ve N allellerinin frekansı sırasıyla 0.82 ve 0.18; İvesi ırkında ise frekanslar aynı sırayla 0.75 ve 0.25 olarak hesaplanmıştır. Akkaraman populasyonunda Hardy-Weinberg dengesinde sapma önemsiz bulunurken, İvesi koyununda önemli bulunmuştur.

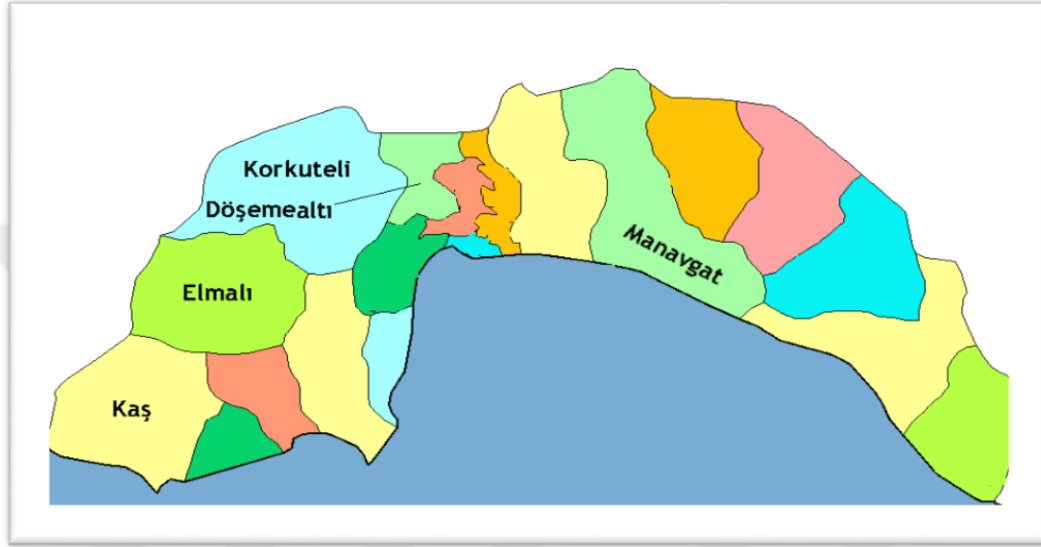
Bayrak (2023), yüksek lisans tez çalışması için toplam 176 koyun (Orta Anadolu Merinosu (137), Pırlak (8) Romanov (10) ve Suffolk (21) üzerinde CAST geni bakımından polimorfizmi araştırdığı çalışmada; M ve N allellerinin frekansı sırasıyla 0.67-0.33, 0.75-0.25, 0.75-0.25, ve 0.76-0.24 olarak belirlenmiştir. Populasyonun Pırlak ırkı için Hardy-Weinberg dengesinde olduğu, Orta Anadolu Merinosu, Romanov ve Suffolk ırkı için ise dengede olmadığı bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Antalya Damızlık Keçi Koyun Yetiştiricileri Birliğine üye; Manavgat (41), Kaş (40), Döşemealtı (40), Korkuteli (40) ve Elmalı (20) ilçelerinde yetiştirilen toplamda 181 baş Pırlak ırkı koyuna ait kan örnekleri toplanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kan örneklerinin alındığı işletmelerin bulunduğu ilçeler

3.1.2. Araç ve gereçler

Hayvanlardan toplanan kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu, PCR-RFLP uygulamaları, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Genetik Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi

Kullanılan Cihaz ve Modeli	Kullanım Amacı
Santrifüj (Hettich MIKRO 200)	DNA ekstraksiyonu ve PCR uygulamasında örneklerin kısa süreli santrifüj edilerek çöktürülmesi
Hassas Terazi (SHIMADZU BX320H)	DNA ekstraksiyonu için tampon çözeltilerin hazırlanmasında ve jel için agaroz tartılmasında
Gradient Thermal Cycler 96 örnek (Thermo-Artk)	PCR ile hedef DNA bölgesinin çoğaltılması
Yatay Agaroz Jel Elektroforez Takımları (BIO-RAD)	DNA ekstraksiyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesinde
Güç Kaynakları (BIO-RAD PowerPac Basic)	Jel elektroforezi için voltaj ve sürenin ayarlanmasında
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 212)	DNA ekstraksiyonu ve PCR ürünlerinin görüntülenmesinde

Çizelge 3.1'in devamı

Mikro Dalga Fırını (Arçelik MD 553)	Agaroz jellerin hazırlanmasında
Buzdolabı (Beko BK8450T)	Kullanılacak örnekler ve diğer bazı kimyasalların saklanması
Derin Dondurucu (Beko 797DF)	
pH metre (Thermo Electron Corporation)	Tampon çözeltilerin hazırlanması için gerekli pH'nın değerinin belirlenmesinde
Sıcak Su Banyosu (Nüve Bath)	DNA ekstraksiyonunda
Isıtıcı Manyetik Karıştırıcı (Yellow line MSH basic)	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında
Çalkalayıcı (Vortex) Yellow line TTS2)	Tampon çözeltilerin hazırlanması ve DNA ekstraksiyonunda
Otoklav (Nüve OT 020V)	Kullanılan malzemelerin sterilizasyonunda

3.1.3. Tampon çözeltiler

DNA moleküllerinin ekstraksiyonu, agaroz jellerin hazırlanması ve elektroforez işlemlerinde kullanılan çözeltiler Çizelge 3.2'de detaylı bir şekilde sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Tampon çözeltilerin molaritesi, miktarı ve içerikleri

Tampon Çözelti	Molarite//Miktar	İçerik
Eritrosit Lisis Tampon	0,32 M 10 mM 5 mM	Sukroz EDTA MgCl ₂
Fizyolojik Tampon	75 mM 25 mM	NaCl EDTA
Lisis TE Tampon	500 mM 20 mM 10 mM	Tris-HCl EDTA NaCl
TE Tampon	10 mM 1mM	Tris EDTA
6M NaCl	3.57 g 10 ml'ye tamamlanır	NaCl dH ₂ O
50XTAE Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi	40 mM Tris 20 mM Asetat 1 mM EDTA 1 litreye tamamlanır	Tris Asetik asit EDTA dH ₂ O
1XTAE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi	100 ml 1 litreye tamamlanır	50XTAE dH ₂ O

3.1.4. Primer ve restriksiyon enzimleri

CAST geninde hedef gen bölgelerinin spesifik amplifikasyonu için Palmer vd. (1998) tarafından bildirilen primerler, MSTN geni amplifikasyonu için ise Smith vd. (1997) tarafından bildirilen primerler kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Amplifikasyon sonrasında elde edilen DNA ürünleri, CAST lokusu için *MspI*, MSTN lokusu için ise *HaeIII* restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir. Bu restriksiyon enzimleri, hedeflenen DNA bölgelerinde spesifik kesim yaparak polimorfizmin belirlenmesine olanak sağlamaktadır.

Çizelge 3.3. Kullanılan primer ve restriksiyon enzimleri

Gen	Primerler	RE Enzimi	PCR Ürünü(bç)
CAST	Kaynak: Palmer vd. 1998	MspI	622
	Forward 5'-TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG-3'		
	Reverse 5'-GGTGGAGCAGCACTT CTGATCACC-3'		
MSTN	Kaynak: Smith vd. 1997	HaeIII	337
	Forward 5'-CCGGAGAGACTTTGGGCTTGA-3'		
	Reverse 5'-TCATGAGCACCCACAGCGGTC-3'		

3.2. Metot

3.2.1. Kan örneklerinin alınması

Çalışmada kullanılan kan örnekleri koyunların boyun toplardamarından (*Vena jugularis*) EDTA'lı vakumlu kan alma tüpleri ile uygun enjektörler yardımıyla alınıp soğuk zincirde korunarak (+4°C) Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Genetik Laboratuvarına en kısa sürede taşınmıştır. Alınan kan örnekleri DNA ekstraksiyonuna kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

**Şekil 3.2.** Koyunlardan kan alma işlemi

3.2.2. Genomik DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için Miller vd. (1988) tarafından bildirilen tuzla çöktürme metodu optimize edilerek aşağıda gibi uygulanmıştır.

1. -20 °C'de saklanan kan örnekleri oda sıcaklığında çözülene kadar (24-25 °C) bekletilmiştir.
2. Kan örneklerinin her birinden 500 µl alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüp içine aktarılmıştır.

3. Örneklerin üzerine 1.000 µl Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2) eklenerek kısa bir süre vorteksle iyice karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekleme süresinin sonunda tüpteki örnekler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
5. Ependorf tüplerin üst kısmında toplanan sıvı kısım (süpernatant) dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin (hücre kısmı) rengi gözlenerek, peletlerin rengi şeffaf olana kadar Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi ile tekrar (ortalama 2-3 defa) muamele edilmiştir.
6. Peletlerin üzerine 1.000 µl Fizyolojik Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2) eklenmiş ve kısa bir süre karıştırılmıştır.
7. Örnekler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda süpernatant kısım dikkatli bir şekilde tekrar uzaklaştırılmıştır.
8. Peletlerin üzerine 600 µl Lisis TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.1) eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
9. Çözülen peletlerin üzerine 100 µl SDS (%10'luk) solusyonu ve 5 µl proteinaz K (20 mg/ml) eklenerek hafifçe karıştırıldıktan sonra 65 °C'de 1,5 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon boyunca örnekler her 15 dakikada bir hafifçe karıştırılmıştır.
10. Su banyosundan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µl 6M NaCl Çözeltisi (Çizelge 3.2) eklenmiş ve 15 dakika vorteksle iyice karıştırılmıştır.
11. Örnekler 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
12. Santrifüj sonunda üstte kalan ve DNA moleküllerini içeren sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine alınmıştır.
13. Örnekler 10.000 rpm'de 10 dakika tekrar santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım yeni ependorf tüp içine aktarılmıştır.
14. Örnekler üzerine örnek hacminin iki katı hacminde (yaklaşık 1.000 µl) % 99.9' luk saf etil alkolden (-20 °C'de saklanan) ilave edilmiştir.
15. Etil alkol ilave edildikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar 5-6 kez hafifçe karıştırılmıştır.
16. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
17. Santrifüj süresi sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletlerinin üzerine 1.000 µl %70'lik etil alkol ilave edilerek 10.000 rpm' de 5 dakika tekrar santrifüj edilmiştir.
18. Santrifüj işleminden sonra tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmıştır.

19. Tüp içindeki alkolün tamamen uzaklaşmasını sağlamak amacıyla örnekler, kurumaya bırakılmıştır.

20. Tamamen kuruyan örnekler üzerine 100 µl TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.2) ilave edilmiş DNA peletlerinin çözülmesi için bir gece buzdolabında +4 °C’de bekletilmiştir.

21. Örneklerden izole edilen genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının kontrolleri %1’lik agaroz jellerde yapılmıştır.

3.2.3. DNA amplifikasyonu

Toplam hacim 25 µl olacak şekilde Çizelge 3.4’te belirtilen temel PCR bileşenlerinden olan 10X PCR Buffer, MgCl₂, dNTP, ileri (Forward) ve geri (Reverse) primerler, *Taq* DNA polimeraz enzimi, genomik DNA ve ddH₂O içeren reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Çizelge 3.4. PCR bileşenlerinin son konsantrasyonları

Bileşen Adı	Son Konsantrasyon
ddH ₂ O	-
10X PCR Buffer	1 X
MgCl ₂ (25 mM)	2 mM
dNTP Karışımı (3 mM)	0,2 mM
Forward Primer (10 µM)	0,25 µM
Reverse Primer (10 µM)	0,25 µM
<i>Taq</i> DNA Polimeraz Enzimi (5 U/µl)	1 U
Genomik DNA	~50 ng/µl

PCR reaksiyon karışımını oluşturan bileşenler için optimizasyon denemeleri PCR’da gradient uygulanarak, Çizelge 3.5’te gösterilen uygun PCR programı belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. Uygulanan PCR programı

	Lokuslar			
	CAST		MSTN	
Basamak	Sıcaklık	Süre	Sıcaklık	Süre
Başlangıç	95 °C	5 dakika	94 °C	5 dakika
Ayrım	95 °C	1 dakika	94 °C	45 saniye
Primerlerin Bağlanması	63 °C	1 dakika	59 °C	45 saniye
Uzama	72 °C	2 dakika	72 °C	45 saniye
Son Uzama	72 °C	10 dakika	72 °C	5 dakika

35
Döngü

PCR tabanlı DNA amplifikasyonu amacıyla tüm bireylerin özgül bölgelerin amplifikasyon işlemi yapılmıştır (Şekil 3.3). Özgül DNA dizilerinin var olup olmadıklarını tespit etmek için ürünler %1'lük agaroz jellerde görüntülenmiştir.



Şekil 3.3. DNA ekstraksiyonu ve PCR işlemi

3.2.4. PCR ürünlerinin *MspI* ve *HaeIII* endonükleazı ile kesimi

PCR amplifikasyonu sonrası oluşan DNA ürünlerinin bant uzunlukları tüm bireyler için eşit olduğundan, bireyler arası ayırım yapmak mümkün olamaz. Bu nedenle, ayırım yapabilmek için PCR ürünlerine ait hedef bölgelerin özgül kesim enzimleri ile kesilmesi gerekmektedir.

CAST geni için M ve N allelleri, MSTN geni için ise M ve m allelleri ayırımı yapmak amacıyla PCR ürünlerinde bu bölgelere özgül olan CAST için *MspI*, MSTN için *HaeIII* ile restriksiyon enzimleri ile kesim reaksiyon karışımları hazırlanmıştır (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. Kesim reaksiyonu bileşenleri

Lokuslar	CAST	MSTN
Reaksiyon Bileşeni	Miktar (µl)	
Deiyonize Su (dH ₂ O)	5 µl	
Amplikon (PCR ürünü)	15 µl	
Reaksiyon Buffer (10X)	3 µl	
Restriksiyon enzimi	0,3 µl (<i>MspI</i>)	0,3 µl (<i>HaeIII</i>)

DNA amplifikasyonu yapılmış genomik DNA'ları içeren PCR ürünleri üzerine Çizelge 3.6'da belirtilen bileşenler koyulmuştur. PCR ürünleri, kesim enzimi ve reaksiyon bileşenlerini içeren örnekler enzim aktivitesi uygun olan ortamda 37°C'de 12-15 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.5. Genomik DNA, ampikon ve kesim ürünlerinin görüntülenmesi

DNA ekstraksiyonunda elde edilen genomik DNA ürünleri, PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen ampikonlar ve kesim reaksiyonu ürünlerinin analizi için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Genomik DNA ve PCR ürünlerinin analizinde %1'lik, kesim ürünlerinin analizinde ise %3'lük agaroz jeller kullanılmıştır.

Elektroforez işlemi için gerekli miktarda agaroz hassas terazide tartılarak uygun hacimdeki 1X TAE çözeltisine (Tris-Asetik Asit-EDTA) eklenmiş ve arada karıştırmak suretiyle 45-60 saniye boyunca mikrodalga fırında homojen bir görünüm elde edilene kadar ısıtılmıştır. Elde edilen jel karışımı hafifçe sallanarak oda sıcaklığına düşürülmesi sağlanmıştır. Daha sonra bu karışıma DNA moleküllerinin UV ışığında görüntülenmesini sağlayan Ethidium bromide (EtBr, 10 mg/ml) hazırlanan jelin yoğunluğuna uygun miktarda eklenerek hafif pembeleşen bir jel elde edilmiştir. Karışım, hazırlanan elektroforez tepsisine dökülerek jel oluşumu beklenmiştir. Mevcut jel, içinde TAE çözeltisi bulunan elektroforez tankına alınarak tarağın jel üzerinden çıkarılması sağlanmıştır. Jelde bulunan kuyucuklara DNA ekstraksiyonu, DNA amplifikasyonu ve kesim sonrası elde edilen ürünler ayrı işlemlerde olmak üzere 1 µl yükleme boyasıyla karıştırılıp (6X Loading Dye) bir mikropipet yardımıyla eklenmiştir. DNA ekstraksiyonu sonucu elde edilen genomik DNA ürünleri 80 volta, 40 mA'de yaklaşık 45 dakika, PCR ürünleri 1 saat, kesim ürünleri ise 1 buçuk saat boyunca yürütülmüştür. Daha sonra elektrik bağlantısı kapatılmış ve ürünleri yürütüldüğü jel elektroforez tankından dikkatli bir şekilde alınarak UV ışığı altında DNA örnekleri görüntülenmiştir. Görüntüleme sonunda her bir birey için görsel olarak genotipleme yapılmıştır.

3.2.6. İstatistik analizler

Üzerinde çalışılan Pırlak koyun ırkına ait CAST ve MSTN lokuslarının genotip ve allel frekansları ile populasyona ait beklenen (H_e) ve gözlenen (H_o) heterozigotluk düzeyleri, GenA1Ex 6.5 paket programı kullanılarak belirlenmiştir.

$$P_i = \frac{(2f_1 + f_2)}{2N}$$

$$S_{P_i} = \sqrt{\frac{P_i(1 - P_i)}{2N}}$$

P_i : i' inci allelin frekans değeri

f_1 : i' inci allel bakımından homozigot genotipe sahip bireylerin sayısı

f_2 : i' inci allel bakımından heterozigot genotipe sahip bireylerin sayısı

N : i' inci lokus bakımından toplam birey sayısı

S_{pi} : i' inci allel frekansının standart hata değeri

İncelenen lokuslar bakımından populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı (genetik dengenin kontrolü) χ^2 testi ile test edilmiştir.

$$\chi^2 = \sum \frac{(f - f')^2}{f'}$$

$\chi^2 = K_{hi}$ – kare değeri

f = Gözlenen genotip frekansları

f' = Beklenen genotip frekansları

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Genomik DNA Ürünleri

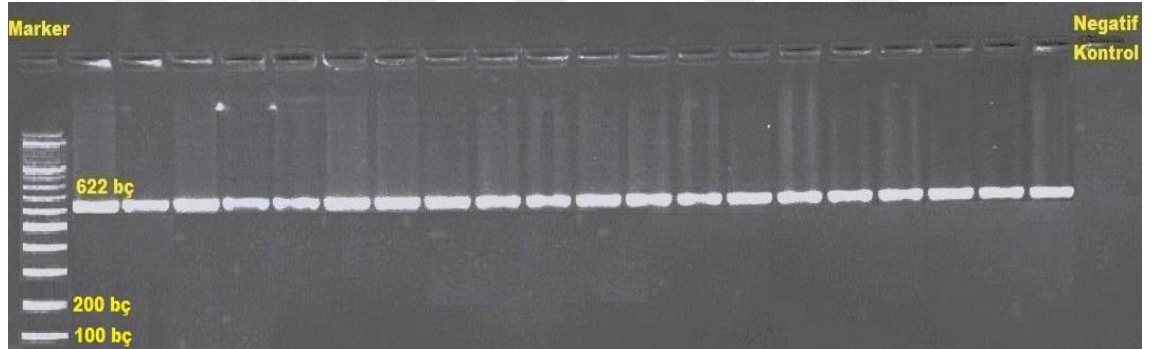
Antalya'nın beş farklı ilçesinde halk elinde yetiştirilen Pırlak koyun ırkından toplanan kan örneklerinden elde edilen genomik DNA'lar %1'lik agaroz jeller yardımıyla elektroforez tekniğiyle kontrol amaçlı görüntülenmiştir (Şekil 4.1).



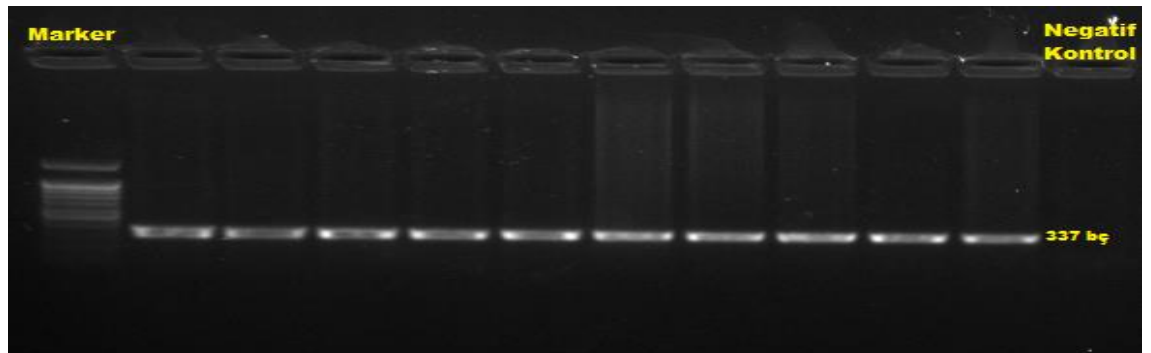
Şekil 4.1. Bazı DNA ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü örneği

4.2. PCR Ürünleri

DNA ekstraksiyonu ile elde edilen genomik DNA'daki hedef gen bölgelerine PCR işlemi uygulanmıştır. PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen CAST ve MSTN geni ampliconları %1'lik agaroz jellerde görüntülenmiş ve RFLP yöntemi için uygunlukları belirlenmiştir (Şekil 4.2 ve 4.3).



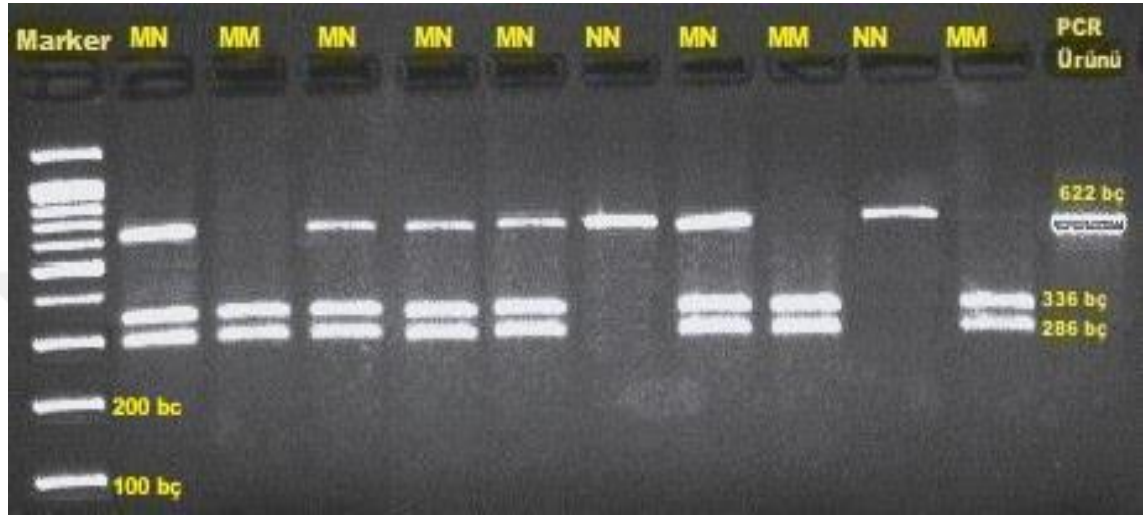
Şekil 4.2. CAST gen lokusunun PCR görüntüsü (Marker: Thermo, 100 bç)



Şekil 4.3. MSTN gen lokusunun PCR görüntüsü (Marker: Thermo, 100 bç)

4.3. CAST Geni *MspI* Polimorfizmi

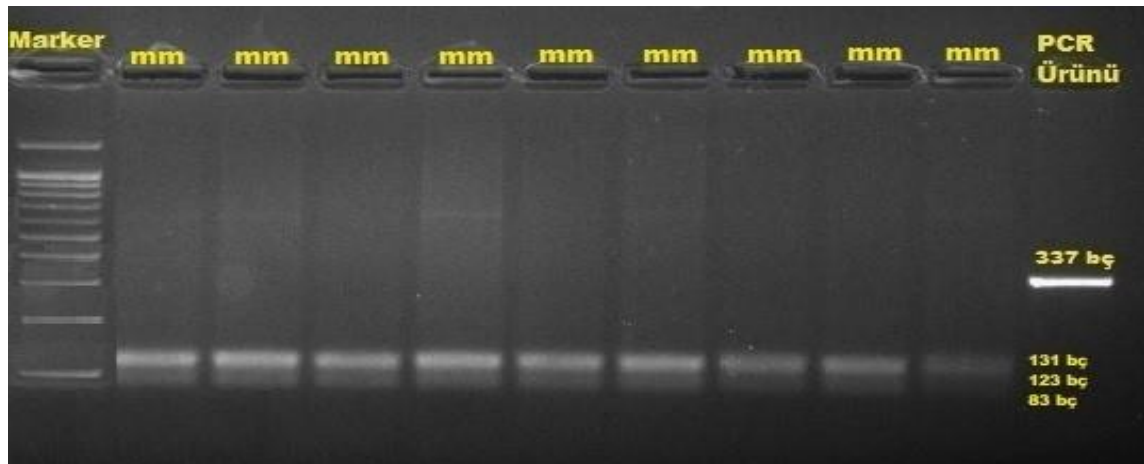
Amplifikasyonu yapılan 622 baz çifti uzunluğunda olan CAST lokusu ürünlerinin *MspI* kesim enzimi ile kesildikten sonra %3'lik agaroz jelde homozigot MM alleli için 336 ve 286 baz çifti uzunluğunda 2 bant, homozigot NN alleli için 622 baz çifti uzunluğunda tek bir bant ve heterozigot MN allelleri için 622, 336 ve 286 baz çifti uzunluğunda 3 bant gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. CAST geni *MspI* polimorfizmi RFLP bant profil örneği (Marker: Thermo, 100 bp)

4.4. MSTN Geni *HaeIII* Monomorfizmi

337 baz çifti uzunluğundaki MSTN geni ampliconları *HaeIII* restiriksiyon enzimi ile kesilmiş ve %3'lik agaroz jelde görüntülenmiştir. 131, 123 ve 83 baz çifti uzunluğunda tek bir homozigot mm genotipi gözlemlenmiştir. Bu çalışmada Pırlak koyun ırkında MSTN lokusu bakımından populasyonun monomorfik olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. MSTN geni *HaeIII* monomorfizmi RFLP bant profil örneği: Genotip mm;131/123/83bp (Marker: Thermo, 100 bp)

4.5. Genotip ve Allel Gen Frekansları

Polimorfik CAST geni üzerinde *MspI* endonükleazı kesim bölgesine ait tespit edilen 3 farklı genotip (MN, MN ve NN) ve allel gen (M ve N) frekansları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. CAST geni allel ve genotip frekansları ve H-W genetik denge testi sonuçları

Genotipler	Gözlenen	Beklenen	Genotip Frekansı	χ^2 testi
MM	40	58.613	0.220	31.829***
MN	126	88.773	0.696	
NN	15	33.613	0.082	
Allel Gen Frekansı	M	N		
	0.569	0.431		

***: $P < 0.001$

Populasyona ait CAST geninin heterozigot MN genotip frekansı 0.696, ve homozigot MM frekansı 0.220 ve NN genotip frekansı ise 0.082 olarak hesaplanmıştır. M allel frekansı 0.569 ve N allel frekansı ise 0.431 olarak birbirine yakın frekanslarda bulunmuştur.

CAST geni bakımından gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.696 olarak tahmin edilirken, beklenen heterozigotluk (H_e) değeri 0.490 olarak tahmin edilmiştir. Avanus (2015) tarafından Kıvrıcık koyun ırkında CAST/*MspI* polimorfizminin tespiti amacıyla yapılan çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.600 olarak hesaplanırken, beklenen heterozigotluk (H_e) değeri 0.429 bulunmuştur. Bozhilova-Sakova vd. (2020) tarafından Bulgar Merinosu koyunları üzerinde yapılan çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.531, beklenen heterozigotluk (H_e) değeri 0.394 olarak hesaplanmıştır. Kırıkçı (2022) Akkaraman ırkı koyunları üzerinde CAST lokusundaki polimorfizmleri belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) değerini 0.540, beklenen heterozigotluk (H_e) değerini ise 0.416 olarak hesaplamıştır.

Bu da bize diğer çalışmalarda gözlenen heterozigotluk değerinin beklenen heterozigotluk değerinden yüksek olduğunu ve populasyon genelinde heterozigotluk oranının fazla olduğunu göstermektedir. Koyunların büyük kısmının heterozigot genotiplere sahip olması gözlenen ve beklenen genotip frekans dağılımı arasındaki farklılığın artırmasına neden olmuştur. Bunun sebebi incelenen Pırlak koyun ırkı populasyonun saf bir ırk olmadığı veya olası bir heterozigotluk baskınlığı ile açıklanabilir.

CAST geni *MspI* polimorfizmine ait Hardy-Weinberg genetik denge kontrol sonuçlarına göre gözlenen ve beklenen genotip frekansları dağılımı arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ($\chi^2=31.829$; $P < 0.001$) ve çalışılan populasyonun önemli ölçüde Hardy-Weinberg genetik dengesinden saptığı tespit edilmiştir. Populasyonlarda meydana gelebilecek herhangi bir doğal seçim, mutasyon, rastgele çiftleşme, gen akışı ve genetik kayıplar Hardy-Weinberg dengesini bozabilmektedir. İncelenen Pırlak koyun ırkı populasyonu hakkında literatürde herhangi bir veri olmadığı

için CAST geni bakımından bu etmenlerden birinin veya birkaçının Hardy-Weinberg dengesini bozmuş olabileceği düşünülmektedir.

İncelenen Pırlak koyun ırkında MSTN geni bakımından sadece mm genotipi gözlenmiştir. Yani MSTN lokusu bakımından herhangi bir polimorfizm tespit edilmemiştir. Bu monomorfizme aşağıda belirtilen faktörler neden olmuş olabilir.

- Populasyonun büyüklüğünde meydana gelen ani ve ciddi bir azalmalar.
- Allel frekanslarının rastgele değişimi ile meydana gelen genetik sürüklemeler.
- Doğal veya yapay seçilim yoluyla populasyonda bir allelin avantajlı hale gelmesi.
- Populasyonun genetik çeşitliliğinin coğrafi veya izolasyonla ile sınırlamak.
- Populasyonda MTSN geni bakımından meydana gelen ciddi bir mutasyon.
- Küçük bir grup bireyden meydana gelen yeni populasyonda kurucu bireylerin allel frekanslarının baskın hale gelerek genetik çeşitliliği sınırlaması.

Bu faktörlerin her biri veya kombinasyonu, belirli bir populasyonun genetik çeşitliliğini etkileyebilir ve belirli bir gen varyantının baskın hale gelmesine neden olabilmektedir.

Çizelge 4.2. Koyunlarda CAST ve MSTN geni ile ilgili yapılan çalışmalar

Koyun Irkı	Birey Sayısı (n)	CAST		Kaynak
		M	N	
Pırlak	181	0.57	0.43	Özkan 2024
Karagül	100	0.79	0.21	Shahroudi vd. 2006
Arabic	111	0.85	0.15	Mohammadi vd. 2008
Tsigai	58	0.91	0.09	Gabor vd. 2009
Dalagh	120	0.80	0.20	Khederzadeh 2011
Lori	100	0.64	0.36	Nanekarani vd. 2011
Balkhi	300	0.88	0.12	Khan vd. 2012
Çine Çaparı	97	0.74	0.26	Ata 2012
Karya	90	0.54	0.46	Ata 2012
Zel	100	0.75	0.25	Gharahveysi vd. 2012
Sakız	87	0.34	0.66	Yılmaz 2014
Kıvırcık	100	0.90	0.10	Kaplan vd. 2017
İvesi	80	0.48	0.51	Jawasreh 2017
Zom	98	0.56	0.44	Durmaz 2021
Karayaka	105	0.84	0.16	Kırıkçı 2021
İvesi	100	0.75	0.25	Dokgöz 2023
Akkaraman	100	0.82	0.18	Dokgöz 2023
Pırlak	8	0.75	0.25	Bayrak 2023

Çizelge 4.2'nin devamı

Koyun Irkı	Birey Sayısı (n)	MSTN		Kaynak
		M	m	
Pırlak	181	Monomorfik		Özkan 2024
Zel	200	Monomorfik		Denhavi vd. 2012
Dalagh	110	Monomorfik		Azari vd. 2012
Mehreban	120	0.26	0.74	Jamshidi vd. 2014
Kordi	58	0.08	0.92	Akbari vd. 2015
Karakaçan	25	Monomorfik		Bozhilova-Sakova vd. 2016
Madras Red	127	Monomorfik		Sahu vd. 2016
Mecheri	101	Monomorfik		Sahu vd. 2016
Nilagiri	103	0.69	0.31	Sahu vd. 2019
Batur	30	0.74	0.26	Haren vd. 2020
Morkaraman	110	0.44	0.56	Saygılı 2021
Morkaraman	29	Monomorfik		Uğuz 2022
Sakız	30	Monomorfik		Uğuz 2022
Kıvırcık	28	Monomorfik		Uğuz 2022
Pırlak	24	Monomorfik		Uğuz 2022

Diğer koyun ırklarında yapılan moleküler genetik çalışmalarda CAST ve MSTN geni için bildirilen allel gen frekansları Çizelge 4.2'de verilmiştir. CAST lokusu bakımından M ve N allel frekansları sırası ile 0.569 ve 0.431 olarak tespit edilmiştir. İncelenen koyun ırkların büyük bir kısmında M allelinin yaygın olduğu görülmektedir.

Zom koyunlarında tespit edilen M alleli (0.56) ve N alleli (0.44) frekansları çalışmamızda bulunan frekanslar değerlerine benzerdir (Durmaz 2021). İstisna olarak İvesi ırkı koyunlarda M alleli frekansı 0.486 olarak bildirilmiştir (Jawasreh vd. 2017). Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan Sakız ırkı koyunlarda ise M alleli frekansı 0.345 olarak tespit edilmiştir (Yılmaz 2014). Bu iki koyun ırkı dışında CAST lokusu bakımından incelenen tüm çalışmalarda bildirilen M allelinin frekansı çalışmamızda bulduğumuz M allel frekansı değerinden yüksek olduğu görülmektedir.

Osmaniye ilinde halk elinde yetiştirilen 8 baş Pırlak koyunu üzerinde CAST lokusundaki polimorfizmleri tespit amacıyla Bayrak (2023) tarafından yapılan çalışmada, M ve N allel frekansları sırasıyla 0.75 ve 0.25 olarak bulunmuştur. İstatistik açıdan gözlenen ve beklenen genotip frekansları önemli bulunmamıştır. Örnek genişliği çok küçük olan populasyon Hardy-Weinberg dengesinde bulunmuştur. Bu küçük popülasyondaki kurucu bireylere ait allel gen frekanslarının baskın hale gelmesi genetik çeşitliliği sınırlandırmaktadır. Ayrıca populasyon hakkında veri olmadığından bu küçük populasyon içerisinde rastgele çiftleşme veya herhangi bir genotipik seleksiyonun yapılmadığı düşünülmektedir.

Çiftlik hayvanlarında CAST geni polimorfizmi ile et verim kalitesi özellikleri arasında ilişki olduğu birçok moleküler çalışma ile kanıtlanmıştır (Lonergan vd. 1995; Huff-Lonergan vd. 1996; Boehm vd. 1998). İskelet kas gelişimi üzerinde önemli bir rolü olan CAST geninin yapılacak ıslah çalışmalarında önemli bir potansiyele sahip olduğu unutulmamalıdır.

Çalışmada incelenen Pırlak ırkı koyunlarda monomorfik bulunan MSTN geni ile ilgili yapılan diğer literatür çalışmalarının büyük bir kısmında da benzer sonuç elde edildiği ve herhangi bir polimorfizme rastlanmadığı bildirilmiştir (Denhavi vd. 2012; Azari vd. 2012; Sahu vd. 2016; Bozhilova-Sakova vd. 2016; Uğuz 2022). Bu çalışmalarda da monomorfik bulunan MSTN geni bakımından sadece mm genotipinin tespit edildiği bildirilmektedir. Polimorfik bulunan diğer çalışmalarda allel gen frekansları arasında büyük farklılıklar olduğu görülmektedir. Jamshidi vd. (2014) tarafından Mehreban ırkı koyunlar üzerinde MSTN geni bakımından yapılan çalışmada M ve m allel frekansı sırasıyla 0.26 ve 0.74 olarak, Akbar vd. (2015) tarafından Kordi koyunlardan yapılan çalışmada ise M ve m allel gen frekansları sırasıyla 0.08 ve 0.92 olarak bildirilmiştir.

Ülkemizde Pırlak ırkı koyunlarda MSTN/*Hae*III polimorfizmi tespiti amacıyla ilk olarak Uğuz (2022) tarafından 24 baş koyun üzerinde yapılan çalışmada herhangi bir polimorfizm tespit edilmemiştir. İkinci olarak yapılan bu çalışmamızda da benzer şekilde herhangi bir polimorfizm tespit edilmemiştir.

Koyunlarda MSTN geni, kas gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olup kaslılık düzeyini artırarak et verimini artırabilmektedir. Koyun yetiştiriciliğinde bu genin özelliklerini saptamak ve et üretiminde verimliliği artırmak amacıyla kullanmak önemli strateji olabilir.

5. SONUÇLAR

Araştırmada, Antalya Damızlık Keçi Koyun Yetiştiricileri Merkez Birliğine kayıtlı yetiştiricilerden temin edilen 181 baş Pırlak koyun ırkında CAST ve MSTN gen lokusları bakımından genotipik yapılar PCR-RFLP metodu kullanılarak belirlenmiştir.

İncelenen populasyonun, CAST ve MSTN lokusları bakımından gen ve genotip frekanslarının dağılımı kontrol edilmiştir. MSTN/*Hae*III bakımından herhangi bir polimorfizme rastlanılmadığı ve bu lokusun monomorfik olduğu tespit edilmiştir. CAST geni bakımından populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı ve bu lokusların hepsinde gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, mevcut populasyon genelinde heterozigotluk düzeyinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Çalışma kapsamında, CAST geni *Msp*I polimorfizmi için yapılan analizler sonrasında, M allelinin (0.569) N alleleline (0.431) kıyasla daha yaygın olduğu görülmektedir. Ayrıca CAST geni için elde edilen allel ve genotip frekansları farklı koyun populasyonları üzerinde yapılan çalışmalara benzer sonuçlar göstermektedir. CAST geni için tespit edilen bu polimorfik yapıların marker olarak kullanılabileceği ve moleküler genetik odaklı yapılacak seleksiyonlarda önemli katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak DNA'ya dayalı PCR ve RFLP gibi moleküler teknikler, et verim kalitesi ve karkas özellikleri ile ilişkili genotiplerin belirlenmesini kolaylaştırmaktadır. Polimorfizm çalışmaları populasyon içindeki genetik çeşitliliği ve bu çeşitliliğin fenotipik özelliklerle ilişkisini incelemektedir. Moleküler çalışmalarla belirlenen polimorfizmler, hayvan ıslahında kullanılabilirliğin tespit edilmesine yardımcı olup üstün özelliklere sahip genotiplerin seçilerek ıslah programlarına dahil edilmesine olanak sağlamaktadır. Farklı ırklar ve populasyonlar üzerinde yapılan genotipleme çalışmaları genetik temelli iyileştirmeler yaparak hayvan yetiştiriciliğinin verimliliğini artırmaktadır.

Ayrıca elde edilen polimorfik sistemlere ait genotiplerden seleksiyonda yararlanabilme olanaklarının araştırılması ve artırılması gerekmektedir. Bu bağlamda, koyun yetiştiriciliğinde söz konusu gen bölgeleri bakımından genetik yapılarının önceden belirlenmesinin ülke ekonomisine katkılar sağlamanın yanında yerli ırklarımızı da koruma açısından oldukça önemli olduğu unutulmamalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Aali, M., Moradi-Shahrbabak, H., Moradi-Shahrbabak, M., Sadeghi, M., Yousefi, A.R. 2017. Association of the calpastatin genotypes, haplotypes, and SNPs with meat quality and fatty acid composition in two Iranian fat-and thin-tailed sheep breeds. *Small Ruminant Reserarch*, 149(2): 40-51.
- Akbari, S., Dashab G., Alipanah, M., Rokouei, M., Saghi, D. 2015. Study on the polymorphism in myostatin gene and its association with growth traits in Kordi sheep of Northern Khorasan. *Modern Genetics Journal*, 10(1): 129-133.
- Anonim 2009: Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu, 2009. 70-71 s.
- Ansary, M., Tahmoorespur, M., Nassiry, M. R., Taheri, A., Vafaye Valleh, M. 2011. Polymorphism in Intron-I of Myostatin gene and its association with estimated breeding values of growth traits in Baluchi sheep (*Ovis aries*). *The Indian Journal of Animal Sciences*, 81(8): 75-00.
- Ata, N. 2012. Çine Çapari ve Karya Koyunlarda Calpastatin Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 64 s.
- Avanus, K., 2015. Genetic Variability of CAST Gene in Native Sheep Breeds of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(6): 789-794.
- Azari, M.A., Dehnavi, E., Yousefi, S., Shahmohamadi, L. 2012. Polymorphism of calpastatin, calpain and myostatin genes in native Dalagh sheep in Iran. *Slovak Journal Animal Sciences*, 45(1): 1-6.
- Balcioğlu, M.S., Karşı, T., Şahin Semerci, E., Ulutaş, Z., Aksoy, Y. 2014. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Yerli Koyun Irklarında Kalpastatin (CAST) Geni Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(4): 427-433.
- Barzehkar, R., Salehi, A., Mahjoubi, F. 2009. Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. *Iranian Journal of Biotechnology*, 7(4): 241-246.
- Bayrak, G. 2023. Osmaniye İlinde Yetiştirilen Bazı Koyun Irklarının CAST ve DGAT1 Genotiplerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 68 s.
- Bayraktar, M., Shoshin, O.M. 2022. Association between CAST and MSTN Gene Polymorphisms with Growth Traits in Awassi Sheep. *Kuwait Journal of Science*, 49(2): 1-15.

- Bellinge, R.H.S., Liberles, D.A., Laschi, S.P.A., Brien, O., Tay, G.K. 2005. Myostatin and its implications on animal breeding: a review. *Animal Genetics*, 36(1): 1-6.
- Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F., Goll, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *Journal Animal Science*, 76(9): 2415-2434.
- Boman, I.A., Klemetsdal, G., Nafstad, O., Blichfeldt, T., Vage, D.I. 2010. Impact of two myostatin (MSTN) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Genetics Selection Evolution*, 42(1): 1-7.
- Bozhilova-Sakova, M., Dimitrova, I., Teneva, A., Petrov, N.M. 2020. Genotype frequencies in calpastatin (CAST) and callipyge (CLPG) genes in Northeast Bulgarian Merino sheep breed using PCR-RFLP method. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26(2): 475-479.
- Bozhilova-Sakova, M., Dimitrova, I., Ignatova, M., Teneva, A., Ivanova, T., Koutev, V., Stoikova-Grigorova, R., Viryanski, D. 2022. Identification of MSTN/DraI polymorphism in ten Bulgarian sheep breeds. *Zhivotnovadni Nauki*, 59(4): 36-40.
- Bozhilova-Sakova, M., Dimitrova, I., Stancheva, N., Teneva, A. 2022. Molecular analysis of ovine calpastatin (CAST) and myostatin (MSTN) genes in lambs from three Bulgarian sheep breeds. *Tradition and Modernity in Veterinary Medicine*, 7(1): 31-37.
- Bozhilova-Sakova, M., Dimitrova, I., Teneva, A., Petrov, N.M. 2016. PCR-RFLP Analysis of MSTN Gene in Karakachan Sheep Breed. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22(1): 115-117.
- Broad, T. E., Glass, B. C., Greer, G. J., Robertson, T. M., Bain, W. E., Lord, E. A., McEwan, J. C. 2000. Search for a locus near to myostatin that increases muscling in Texel sheep in New Zealand. *Proceedings of New Zealand Society of Animal Production*, 60: 110-112.
- Cockett, N.E., Jackson, S.P., Shay, T.L., Farnir, F., Berghmans, S., Snowden, G.D., Nielsen, D.M., Georges, M. 1996. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science*, 273(5272): 236-238.
- Çelikeloglu, K. 2012. Pırlak Kuzularında Büyüme Eğrilerini Etkileyen Genetik ve Çevresel Faktörlerin Belirlenmesi ve Eğri Parametreleri Yönünden Baba Koçların Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar, 157 s.

- Dehnavi, E., Ahani M., Saeed, A., Mohammad H., Nassiry, R., Mohajer, M., Ahmadi, A.K., Shahmohamadi, L., Yousefi, S. 2012. Polymorphism of Myostatin Gene in Intron 1 and 2 and Exon 3, and Their Associations with Yearling Weight, Using PCR-RFLP and PCR-SSCP Techniques in Zel Sheep. *Biotechnology Research International*, 2012(6628): 472307.
- Dimitrova, I., Bozhilova-Sakova, M., Stancheva, N., Tzonev, T. 2016. Molecular analysis of ovine myostatin gene (MSTN) in Northeast Bulgarian Merino Sheep Breed using PCR-RFLP Method. *Bulgarian Journal Agricultural Science*, 22(2): 0-0.
- Dimitrova, I., Bozhilova-Sakova, M., Iliev, M. 2017. Study of some genes associated with meat productivity in Karnobat Merino sheep breed using PCR-RFLP. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 10(8): 61-65.
- Djadid, N.D., Nikmard, M., Zakeri, S., Gholizadeh, S. 2011. Characterization of calpastatin gene in Iranian Afshari sheep. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9(2): 145-149.
- Dokgöz, M. 2023. Osmaniye İlinde Halk Elinde Yetiştirilen İvesi ve Akkaraman Koyunlarında Kalpastatin Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 61 s.
- Durmaz, M. 2021. Şanlıurfa İlinde Yetiştirilen Zom Koyunlarında Kalpastatin (CAST) Gen Polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, 28 s.
- Erlich, H.A., Gelfand, D., Sninsky, J.J. 1991. Recent advances in the polymerase chain-reaction. *Science*, 252(5013): 1643-1651.
- Ertuğrul, M., Akman, N., Dellal, G., Goncagül, T. 2000. Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları. V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, ss. 285-300, 17-21 Ocak, Ankara.
- Farhadian, M., Hashemi, A., Mardani, K., Darvishzadeh, R., Jafari, S. 2012. Polymorphisms in the ovine myostatin gene are associated with birth weight but not with weight gain in Iranian Makoei sheep. *Genetics Molecular Research*, 11(4): 3568-3575.
- Gábor, M., Trakovická, A., Miluchová, M. 2009. Analysis of polymorphism of CAST gene and CLPG gene in sheep by PCR-RFLP method. *Zootehnie și Biotehnologii*, 42(2): 470-476.
- Gharahveysi, S., Abbasi, H.A., Irani, M., Abdollahpour R., Mirhabibi, S. 2012. Polymorphism investigation of calpastatin gene in Zel sheep population of Iran by PCR-RFLP method. *African Journal of Biotechnology*, 11(13): 3211-3214.

- Güz, N., Kılınçer, N. 2012. Böcek sistematğinde moleküler markörlerin kullanımı. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 2(2): 125-145.
- Haren, H.I.H., Purwantini, D., Sumaryadi, M.Y. 2020. Short Communication: polymorphism at third exon of the myostatin gene and its association with growth and carcass traits in Batur sheep. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(5): 2074-2078.
- Hickford, J. G., Forrest, R. H., Zhou, H., Fang, Q., Han, J., Frampton, C. M., Horrell, A. L. 2010. Polymorphisms in the ovine myostatin gene (MSTN) and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney sheep. *Animal Genetics*, 41(1): 64-72.
- Huff-Lonergan, E.J., Mitsuhashi, T., Beekman, D.D., Parrish, J., Olson, D.G., Robson, R.M. 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *Journal Animal Science*, 74(5): 993-1008.
- Jawasreh, K.I., Jadallah, R., Al-Amareen, A.H., Abdullah, A.Y., Al-Qaisi, A., Alrawashdeh, I.M., Al-Zghoul, M.B.F., Ahamed, M.K.A., Obeidat, B. 2017. Association between *MspI* calpastatin gene polymorphisms, growth performance, and meat characteristics of Awassi sheep. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(5): 635-639.
- Jamshidi, S., Karani S., Goudarzi, M. 2014. Study polyporphism myostatin gene in Mehraban's sheep using PCR-RFLP method. *Science International Lahore*, 26(3): 1129-1135.
- Johnson, P.L., Mcewan, J.C., Dodds, K.G., Purchas, R.W., Blair, H.T. 2005. A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass traits in Texel sheep. *Journal of Animal Science*, 83(9): 1988-2000.
- Jyoti, Akram, N., Kumar, R., Sharma, R.C., Kashyap, S.K., Gowane, G.R. 2020. Molecular characterization of myostatin gene in Malpura sheep of Rajasthan. *Genetika*, 52(2): 465-476.
- Kaplan, S., Atalay S. 2017. Determination of Calpastatin Gene Polymorphism in Kivircik Crossbred Ewesby PCR-RFLP Method. *Selcuk Journal of Acriculture and Food Sciences*, 31(3): 147-150.
- Khaleel, I.J., Zuhair B.İ. 2019. Effects of calpastatin gene polymorphism on hematology and selected serum biochemical parameters in Awassi lambs. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(2): 193-196.

- Khan, S.U.H., Riaz, M.N., Ghaffar, A., Khan, M.F.U. 2012. Calpastatin (CAST) gene polymorphism and its association with average daily weight gain in Balkhi and Kajli sheep and Beetal goat breeds. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(2): 377-382.
- Khederzadeh, S. 2011. Polymorphism of calpastatin gene in crossbreed Dalagh sheep using PCR-RFLP. *African Journal Biotechnology*, 10(53): 10839-10841.
- Kırıkçı, K. 2022. Polymorphism of the Calpastatin (CAST) and Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) genes in Akkaraman Sheep Breed. *Journal Animal Produse*, 63(1): 21-26.
- Kırıkçı, K., Çam, M. A., Mercan, L. 2021. Investigation of the CAST Gene Polymorphism in Karayaka Sheep. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 11(1): 89-93.
- Kolenda, M., Grochowska, E., Milewskib, S., Mroczkowskia, S. 2019. The association between the polymorphism in the myostatin gene and growth traits in Kamieniec and Pomeranian sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 177(2019): 29-35.
- Kolosov, Y. A., Gorlov, I. F., Shirokova, N. V. 2021. Determination of CAST gene polymorphism in sheep of the Volgograd breed. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 677(5): 52-112.
- Lazar, C., Gras, A.M., Rotar, M.C., Pistol, G.C., Pelmus, R.S., Ghita, E. 2016. Identification of Myostatin gene polymorphism using PCR-RFLP for improving carcass meat evaluation of Teleorman Black Head lambs. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 49(1): 63-68.
- Loneragan, S.M., Ernst, C.W., Bishop, M.D., Calkins, C.R., Koohmaraie, M. 1995. Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness. *Journal Animal Science*, 73(12): 08-12.
- Marcq, F., Larzul, C., Marot, V., Bouix, J., Eychenne, F., Laville, E., Georges, M., Bibe, B., Leroy, P. L., Elsen, J.M. 2002. Preliminary results of a whole genome scan targeting QTL for carcass traits in a Texel Romanov intercross. Proceedings of the 7th World Congress on Applied Livestock Production, pp 02-14, 19-23 August, Montpellier.
- McPherron, A. C., Lawler A.M., Lee, S.J. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF beta super family member. *Nature*, 387(6628): 83-90.
- McRae, A.F., Bishop, S.C., Walling, G.A., Wilson, A.D., Visscher, P.M. 2005. Mapping of multiple quantitative trait loci for growth and carcass traits in a complex commercial sheep pedigree. *Animal Science*, 80(2): 135-41.

- Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesk, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleid Acids Research*, 16(3): 1215
- Mohammadi, H., Shahrehabak, M.M., Sadeghi, M. 2013. Association between single nucleotide polymorphism in the ovine DGAT1 gene and carcass traits in two Iranian sheep breeds. *Animal Biotechnology*, 24(3): 159-167.
- Mohammadi, M., Nasiri, M.T.B., Alami-Saeid, K.H., Fayazi, J., Mamoe, M., Sadr, A.S. 2008. Polymorphism of calpastatin gene in Arabic sheep using PCR-RFLP. *African Journal of Biotechnology*, 7(15): 2682-2684.
- Moradian, C., Mohamadi, N., Sheshdeh, S., Hajihosseini, A., Ashrafi, F. 2013. Effectsof genetic polymorphism at the growth hormone gene on growth traits in Makooei sheep. *European Journal of Experimental Biology*, 3(3): 101-105.
- Murray, N.E. 2000. Type I restriction systems: Sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). *Microbiology and Molecular Reviemws*, 64(2): 412-434.
- Nanekarani, S., Asadi, N., Khederzadeh, S. 2011a. Genotypic frequency of Calpastatin gene in Lori sheep by PCR-RFLP method. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology*, 4(2011): 148-150.
- Nanekarani, S., Khederzadeh, S., Kaftarkari, A.M. 2011b. Genotypic frequency of Calpastatin gene in Atabi sheep by PBR method. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology*, 9(2011): 189-192.
- Ozdemirov, A.A., Chizhova, L.N., Khozhokov, A.A. 2021. Polymorphism of Genes CAST, GH, GDF9 of Sheep of the Dagestan Mountain Breed. *South of Russia Ecology Development*, 16(2): 39-44.
- Özdemir, M., Doğru, Ü. 2008. Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Önemli Moleküler Markörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(1): 127-135.
- Page, B.T., Casas, E., Heaton, M.P., Cullen, N.G., Hyndman, D.L., Morris, C.A., Crawford, A.M., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Keele, J.W., Smith, T.P. 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science*, 80(12): 3077-3085.
- Palmer, B.R., Roberts, N., Hickford, J.G.H., Bickerstaffe, R. 1998. Rapid communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. *Journal of Animal Science*, 76(5): 1499-1500.

- Ranjbari M., Hashemi A., Mardani K., Darvishzadeh R. 2012. Allelic Polymorphism of Makoei Sheep Calpastatin and single strand conformation polymorphism. *African Journal of Biotechnology*, 10(5): 10083-10086.
- Ren, H., Li L., Su, H., Xu, L., Wei, C., Zhang, L., Li, H., Liu, W., Du, L. 2011. Histological and transcriptome-wide level characteristics of fetal myofiber hyperplasia during the second half of gestation in Texel and Ujumqin sheep. *BMC Genomics*, 12(1): 411.
- Riaz, M.N., A. Ghaffar, A., Khan, M.F.U. 2012. Calpastatin (CAST) Gene Polymorphism and its Association With Average Daily Weight Gain in Balkhi and Kajli Sheep and Beetal Goat Breeds. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(2): 377-382.
- Sahu, A.R., Jeichitra, V., Rajendran, R., Raja, A. 2019. Novel report on mutation in exon 3 of myostatin (MSTN) gene in Nilagiri sheep: an endangered breed of South India. *Tropical Animal Health and Production*, 51(5): 1-6.
- Saygılı, E. 2021. Morkaraman Koyun Irkında Miyostatin Geni Polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 48 s.
- Shahroudi, F.E., Nassiry, M.R., Valizadh, R., Heravi Moussavi, A., Pour, M.T., Ghiasi, H. 2006. Genetic polymorphism at MTNR1A, CAST and CAPN loci in Iranian Karakul sheep. *Iranian Journal of Biotechnology*, 4(2): 117-122.
- Smith, T.P., Lopez-Corrales, N.L., Kappes, S.M. 1997. Myostatin maps to the interval containing the bovine mh locus. *Mammalian Genome*, 8(10): 742-744.
- Sjakste, T., Paramonova, N., Grislis, Z., Trapina, I., Kairisa, D. 2011. Analysis of the single-nucleotide polymorphism in the 5' UTR and part of intron I of the sheep MSTN gene. *DNA and Cell Biology*, 30(7): 433-444.
- Soufy, B., Mohammad Abadi, M.R., Shojaeian, K., Baghizadeh, A., Ferasaty, S., Askari N. Dayani, O. 2009. Evaluation of Myostatin gene polymorphism in Sanjabi sheep by PCR-RFLP method. *Animal Science Reserches Tabriz University*, 19(1): 81-89.
- Suleman, M.U., Saeed, M., Khan, R.N., Yousaf, M., Shah, A., Ishaq, R., Ghafoor, A. 2012. Calpastatin (CAST) gene polymorphism in Kajli, Lohi and Thalli sheep breeds. *African Journal of Biotechnology*, 11(47): 10655-10660.
- Szkudlarek-Kowalczyk, M., Wiśniewsk, E., Mroczkowsk, S. 2011. Polymorphisms of calpastatin gene in sheep. *Journal of Central European Agriculture*, 12(3): 425-432.
- TAGEM 2009. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, Ankara.

- Temizkan, G., Arda, N. 2021. Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri. Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları: 46069, Ders Kitabı, İstanbul, 129 s.
- TUİK 2023a. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-2023-49681> [Son erişim tarihi: 08.05.2023].
- TUİK 2023b. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kirmizi-Et-Uretim-Istatistikleri-2023-53540> [Son erişim tarihi: 08.05.2023].
- TUKETBİR 2018. <http://tuketbir.org.tr/kirmizi-etin-faydalari/> [Son erişim tarihi: 09.05.2023].
- Uğuz, E.B. 2022. Yerli Koyun Irklarında Miyostatin (MSTN) Gen Polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar, 30 s.
- Voronkova, V. N., Gorlov, I. F., Shirokova, N. V. 2016. CAST/MspI Gene Polymorphism and its Impact on Growth Traits of Soviet Merino and Salsk Sheep Breeds in The South European Part of Russia. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 40(4): 399-405.
- Walling, G.A., Visscher, P.M., Wilson, A.D., Mctair, B.L., Simm, G., Bishop, S.C. 2004. Mapping of quantitative trait loci for growth and carcass traits in commercial sheep populations. *Journal of Animal Science*, 82(8): 2234-2245.
- Wang, J., Zhou, H., Hu, J., Li, S., Luo, Y., Hickford, J. G. 2016. Two single nucleotide polymorphisms in the promoter of the ovine myostatin gene (MSTN) and their effect on growth and carcass muscle traits in New Zealand Romney sheep. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 133(3): 219-226.
- Watson, J.D., Gilman, M., Witkowskii J., Zoller, M. 1992. The polymerase chain reaction In: Recombinant DNA, pp. 79-98, New York.
- Xing, H. J., Wang, Z. Y., Zhong, B. S., Ying, S. J., Nie, H. T., Zhou, Z. R., Fan, Y. X., Wang, F. 2014. Effects of different dietary intake on mRNA levels of MSTN, IGF-I, and IGF-II in the skeletal muscle of Dorper and Hu sheep hybrid F1 rams. *Genetics and Molecular Research*, 13(3): 5258-5268.
- Yang, G., Forrest, R., Zhou, H., Hodge, S., Hickford, J. 2014. Genetic variation in the ovine uncoupling protein 1 gene: association with carcass traits in New Zealand (NZ) Romney sheep, but no association with growth traits in either NZ Romney or NZ Suffolk sheep. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 131(6): 437-444.
- Yılmaz, O., Sezenler, T., Ata, N., Yaman, Y., Cemali I., Karaca, O. 2014. Polymorphism of The Ovine Calpastatin Gene in Some Turkish Sheep Breeds. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38(4): 354-357.

- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Tanur Erkoyuncu, M. 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2): 1-12.
- Zeder, M.A. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(3): 11597-11604.
- Zhou, H., Hicford, J.G.H., Gong, H. 2007. Polymorphism of the ovine calpastatin gene. *Molecular and Cellular Probes*, 21(3): 242-244.



ÖZGEÇMİŞ

BÜLENT ÖZKAN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2021-2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
2011-2015	Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kırşehir

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Memur	Akdeniz Üniversitesi
2016-2021	Eğitim Fakültesi, Antalya
Şef	Akdeniz Üniversitesi
2021 Devam Ediyor	Rektörlüğü Personel Daire Başkanlığı, Antalya