

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**ŞAVAK AKKARAMAN KOYUNLARINDA MASTİTİSE DİRENÇLE
İLGİLİ LAP3, MASP2 VE SIRT1 GENLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ**

Gamze DALĞA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ

TUNCELİ-2024

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ŞAVAK AKKARAMAN KOYUNLARINDA MASTİTİSE DİRENÇLE
İLGİLİ LAP3, MASP2 VE SIRT1 GENLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ**

Gamze DALĞA
200010029

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ

TUNCELİ-2024

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**Şavak Akkaraman Koyunlarında Mastitise Dirençle İlgili LAP3, MASP2
ve SIRT1 Genlerinin Moleküler Analizi**

**Gamze DALĞA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 15/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza
Doç. Dr. Ahmet Yusuf
ŞENGÜL
Bingöl Üniversitesi
BAŞKAN

İmza
Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can
YAZDIÇ
Munzur Üniversitesi
DANIŞMAN

İmza
Dr. Öğr. Üyesi Altuğ
KARAMAN
Munzur Üniversitesi
ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Murat KORUNUR

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB023-01

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza

Gamze DALĞA

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ

TEŞEKKÜRLER

Tez çalışma sürecimde desteklerini benden esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ'a , çalışmalarım süresince ihtiyaç duyduğum her türlü bilgi, kaynak vb. durumlar için destek olan, gerek kişisel gerekse bilimsel tecrübeleriyle bana bakış açısı kazandıran değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Altuğ KARAMAN'a, arkadaşım Kevser GECEKUŞU'na teşekkür ederim.

Gerek etik kurul sürecinde, gerekse tez çalışmasının örneklerinin temini konusunda başta Anıl TANKİŞİ ve Munzur Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim. Ayrıca kısmen maddi destek sağlayan Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine teşekkür ederim.

Gamze DALĞA
TUNCELİ - 2024

İÇİNDEKİLER

ETİKİLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	I
TEŞEKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
TABLolar LİSTESİ	VI
RESİMLER LİSTESİ	VII
SEMBOLLER LİSTESİ.....	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1.GİRİŞ.....	1
1.2.Koyuncululuğun Önemi.....	2
1.3.Koyunlarda Genetik Çeşitlilik.....	4
1.4.Türkiye’deki Koyun Popülasyonları.....	6
1.5. Türkiye’deki Yaygın Koyun Irkları.....	8
1.5.1. Şavak Akkaraman Koyun Irkı	11
1.6. Bağışıklık Sistemi.....	12
1.7.Doğal Bağışıklık Sistemi ve Savunma Mekanizması.....	14
1.8.Kazanılmış Bağışıklık Sistemi ve Savunma Mekanizması.....	15
1.9. Mastitis Tanımı ve Patojenler.....	16
1.10.Mastitis Direncini Etkileyen Genetik Faktörler.....	19
1.11.Mastitisleİlgili Özellikler İçin Genetik Parametreler.....	23
1.12.Mastitis Direnci İle İlişkili Aday ve Potansiyel Genler.....	25
1.12.1. Lösinaminopeptidaz 3 (LAP3) geni ve immünyanıtındaki rolü.....	30
1.12.2.Sirtuin 1 (SIRT1) geni ve immün yanıtındaki rolü.....	31
1.12.3.Manan bağlayıcı lektin serin ile ilişkili proteaz 2 (masp2) geni ve immün yanıtındaki rolü.....	32
2.METERYAL VE METOD.....	35
2.1.Kullanılan Kimyasallar.....	35
2.2. Kullanılan Cihaz Ve Aletler.....	35
2.3. Örneklerin Toplanması.....	35
2.5. DNA İzolasyonu Yöntemleri.....	35
2.5.1. Fenotipikverilerin toplanması	36
2.5.2. SNP’lerintanımlanması.....	36
2.5.3. Genotipleme.....	37
2.6. Veri ve İstatikleri Analizi.....	38
2.7. Etik Kurul Onay Bilgileri.....	39
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	40
3.1 .Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu.....	40
3.2. LAP3, MASP2 ve SIRT1 Gen Bölgelerinin PZR Optimizasyonu.....	41
3.3. LAP3, MASP2 ve SIRT1 Gen Bölgelerinin PZR Amplifikasyon Sonucu.....	43
3.4. PZR-RFLP Genotip Sonuçları.....	45
3.4.1. LAP3 intron 12 genotipsonuçları.....	46
3.4.2. LAP3 ekzon 13 genotipsonuçları.....	48
3.4.3. MASP2 ekzon-11 genotipsonuçları.....	50
3.4.4. MASP2 ekzon 2&3 genotipsonuçları.....	52
3.4.5. SIRT1 promotor bölgesi genotipsonuçları.....	53
3.5. LAP3, MASP2 ve SIRT1 Gen Bölgelerinin DNA dizi sonuçları.....	54

3.6. LAP3-intron-12, LAP3-Ekzon-13, MASP2-Ekzon-11, MASP2-Ekzon- 2&3 ve SIRT1-Promotor Gen Bölgelerinin Alel ve Genotip Frekansları.....	55
3.7. LAP3-intron-12, LAP3-Ekzon-13, MASP2-Ekzon-11, MASP2-Ekzon-2&3 ve SIRT1-Promotor Gen Bölgelerinin Hardy-Weinberg Dengesi ve Ki-kare Testi.....	56
3.8. LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor Gen Polimorfizmleri ile Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler.....	58
4.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
5. KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	73



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Bağışıklık sisteminin temel bileşenlerinin akış şeması.....	14
Şekil 1.2. LAP3 Geninin genomik konumu (NCBI).....	30
Şekil 1.3. SIRT1 Geninin genomik konumu (NCBI)	31
Şekil 1.4. MASP2Geninin genomik konumu (NCBI).....	34
Şekil 3.1.LAP3_Int-12 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları.....	47
Şekil 3.2 LAP3_Ekzon-13 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları.....	49
Şekil 3.3 MASP2_Ekzon11 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları.....	50
Şekil 3.4. MASP2_Ekzon2&3 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları.....	52
Şekil 3.5. SIRT1_Promoter Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları.....	53
Şekil 3.6. LAP3 ekzon 13 (506 bç) (A), MASP2 ekzon 11 (689 bç) (B) ve SIRT1 promotor (273 bç) (C) bölgelerinin nükleotid dizisine ait kromatogram görüntüsünün bir kısmı örnek olarak gösterilmiştir.....	55



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Dünyadaki koyun varlığı.....	3
Tablo 1.2. Koyunlarda mastitisin farklı formları ve enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak belirtiler.....	17
Tablo 2.1. Gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılacak primerler ve restriksiyon kesme enzimleri.....	37
Tablo 3.1. Genotiplendirme için kullanılan restriksiyon endonükleazlar.....	46
Tablo 3.2. Şavak Akkaraman koyunlarında LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor gen bölgelerinin genotip ve allel frekansları.....	56
Tablo 3.3. Şavak Akkaraman koyunlarında LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor gen bölgelerinin Hardy-Weinberg Denge analiz sonuçları.....	57
Tablo 3.4. Şavak akkaraman koyunlarına ait süt verim ve genotip verilerinin bir kısmı...	58

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Kandan DNA izolasyonu yöntemleri manuel DNA izolasyonu ve ticari kit DNA izolasyon yöntemi.....	36
Resim 3.1. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü.....	40
Resim 3.2. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü.....	41
Resim 3.3. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü.....	41
Resim 3.4. Hedef gen bölgelerinin gradient PZR jel görüntüsü (A-C).....	42
Resim 3.5. SIRT1 gen promotor bölgesinin gradient PZR jel görüntüsü (A-B).....	43
Resim 3.6. LAP3-Intron-12 (A), LAP3-Exon-13 (B), MASP2-Exon-11 (C) ve MASP2-Exon 2&3 (D) Gen bölgeleri PCR sonucu (M=100 bç).....	44
Resim 3.7. SIRT1 promotor Gen bölgesi PCR sonucu (A), jelden izolasyonu.....	45
Resim 3.8. LAP3 intron 12, HindII (HincII) RE ile genotiplendirme.....	47
Resim 3.9. LAP3 intron 12, AluI RE ile genotiplendirme.....	47
Resim 3.10. LAP3 intron 12, SmaI RE ile genotiplendirme.....	48
Resim 3.11. LAP3 intron 12, MrDNI RE ile genotiplendirme.....	48
Resim 3.12. LAP3 Ekzon 13 PstI RE ile genotiplendirme.....	49
Resim 3.13. LAP3 Ekzon 13 AluI RE ile genotiplendirme.....	49
Resim 3.14. LAP3 Ekzon 13 TaqI RE ile genotiplendirme.....	50
Resim 3.15. MASP2 Ekzon 11 RsaI RE ile genotiplendirme.....	51
Resim 3.16. MASP2 Ekzon 11 NgoMIV RE ile genotiplendirme.....	51
Resim 3.17. MASP2 Ekzon 2&3 BstU1 RE ile genotiplendirme.....	52
Resim 3.18. MASP2 Ekzon 2&3 BsrI(BseNI) RE ile genotiplendirme.....	52
Resim 3.19. MASP2 Ekzon 2&3 AluI RE ile genotiplendirme.....	53
Resim 3.20. SIRT1 Promotor SmaI RE ile genotiplendirme.....	54
Resim 3.21. SIRT1 Promotor BstUI RE ile genotiplendirme.....	54
Resim 3.22. SIRT1 Promotor AluI RE ile genotiplendirme.....	54

SEMBOLLER LİSTESİ

µl	: Mikrolitre
aa	: Amino asit
Ac. No	: AccessionNumber
APC	: AntigenPresenting Cell
ARS	:AntigenRecognitionSites
B	: G, T veya C; Aspartat
bç	: Baz çifti
cDNA	:Complementary DNA
BLAST	: Basic LocalAlignmentSearchTool
D	: G, A veya T; Aspartat
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
E	: Glütamik asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
IgG1-2	: Immunoglobulin G
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mtDNA	:Mitokondriyal DNA
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
NCBI	:National Center forBiotechnology Information
nm	: Nanometre
oC	: Santigrad derece
pmol	:Pikomol
PZR	: Polimer Zincir Reaksiyonları
pH	: Potential of Hydrogen
RFLP	:RestrictionFragmentLenghtPolimophizm
RNA	:Ribonükleik Asit
SBT	: Sekans baztıplendirmesi
SCC	: Somatik hücre sayısı
SCS	: Somatik hücre skoru
SDS	: SodiumDodesil Sülfat
SNP	:Single-NucleotidePolymorphism
sp.	: Tür
SSCP	: Single- StrandConformationPolymorphism
TBE	: Tris, Borik asit, EDTA
Tm	: Erime sıcaklığı
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UPGMA	: UnweighedPairGroupMethod of AritmeticAverages

ÖZET

Koyunlar, dünya genelindeki tarımsal endüstrilerde et, süt ve yün üretimi için besi hayvanı olarak kullanılan geviş getiren memelilerdir. Genetik ve genomik bilgiler, büyüme hızı, et, süt, yün verimi ve hastalık direnci de dahil olmak üzere birçok üretim özelliklerini iyileştirmek için kullanılabilir. Ancak koyun genomundaki genlerin fonksiyonları hakkında önemli bilgiler hala eksiktir. Mastitis, büyük ekonomik kayıplara yol açan, hayvanın refahını etkileyen, süt koyunlarındaki en yaygın hastalıklardan birisidir. Hijyenik veya daha farklı yöntemler uygulanmasına rağmen hastalık tüm süt koyunu üretim sistemlerinde devam etmektedir. Genetik yaklaşımların çiftlik hayvanlarında sağlıkla ilgili özelliklerin ıslahında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu açıdan, bu tez çalışmasında, LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor gen bölgeleri polimorfizmleri Şavak Akkaraman koyun ırkında belirlenmiştir. Genomik DNA 150 baş Şavak Akkaraman koyun ırkına ait kan numunelerinden elde edilmiştir. Hedef gen bölgeleri için tüm örnekler, TasI, HindII, NmuCI, PstI, TaqI, HhaI, BstUI, BsrDI, BsrI, BsaJI, VspI, SmaI enzimleri kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyon-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizm yöntemi ile genotiplendirilmiştir. LAP3-intron-12 bölgesi en yüksek heterozigotluğu sergilemiş ve orta düzeyde genetik çeşitliliğe sahip alellerin (C ve T) dengeli bir dağılımını ortaya koymuştur. LAP3-ekzon-13 tam homozigotluk göstererek genetik çeşitlilik olmadığını göstermiştir. MASP2-ekzon-11, AA genotipinin baskın olduğu yüksek genetik çeşitlilik sergilemiştir. MASP2-ekzon-2&3, çoğunluğu TT genotipine sahip olmak üzere orta düzeyde genetik çeşitlilik göstermiştir. SIRT1-promoteri orta düzeyde heterozigotluk sergilemiş ve bir C>G SNP lokusu polimorfik modeller ortaya koymuştur. Hardy-Weinberg Denge analizi, LAP3-intron-12 ve MASP2-ekzon-11 için sapmalar göstermiş, bu da rastgele olmayan çiftleşme veya genetik sürüklenmenin potansiyel etkilerini düşündürmüştür. Şavak Akkaraman koyunlarında genotipler ve süt verimi arasındaki korelasyon analizleri, LAP3-intron-12 CC genotipi ve daha yüksek süt üretimi için önemli pozitif ilişkiler ortaya koyarken, MASP2-ekzon-11 BB genotipi daha düşük süt verimi ile önemli bir negatif korelasyon göstermiştir. Bu bulgular, Şavak Akkaraman koyunlarında süt üretim özelliklerinin genetik temeline ilişkin bilgiler sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler:Şavak Akkaraman, PZR-RLFP, Gen Polimorfizmi, LAP3, MASP2ve SIRT1

ABSTRACT

Molecular Analysis of LAP3, MASP2 and SIRT1 Genes Related to Mastitis Resistance in Şavak Akkaraman Sheep

Sheep are ruminant mammals used as livestock for meat, milk, and wool production in agricultural industries around the world. Genetic genomic information can be used to improve any production traits, including growth rate, meat, milk, wool yield, and disease resistance. However, important information about the functions of genes in the sheep genome is still lacking. Mastitis is one of the most common diseases in dairy sheep, causing huge economic losses and affecting animal welfare. The disease persists in all dairy sheep production systems despite the application of hygienic and other methods. Genetic approaches are thought to provide important contribution to the breeding of health-related traits in farm animals. In this respect, in this thesis, LAP3-intron-12, LAP3-exon-13, MASP2-exon-11, MASP2-exon-2&3, and SIRT1-promoter gene regions polymorphism were determined by Şavak Akkaraman sheep breed. Genomic DNA was obtained from blood samples of 150 sheep of the Şavak Akkaraman sheep breed. All samples were genotyped for target gene regions by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism method using *TaqI*, *HindII*, *NmuCI*, *PstI*, *TaqI*, *HhaI*, *BstUI*, *BsrDI*, *BsrI*, *BsaJI*, *VspI*, *SmaI* enzymes. The LAP3-intron-12 region exhibited the highest heterozygosity and revealed a balanced distribution of all alleles (C and T) with moderate genetic diversity. LAP3-exon-13 showed complete homozygosity, indicating no genetic diversity. MASP2-exon-11 showed high genetic diversity with the AA genotype being dominant. MASP2-exon-2&3 showed moderate genetic diversity with the majority having the TT genotype. SIRT1-promoter exhibited moderate heterozygosity, and a C>G SNP locus revealed polymorphic patterns. Hardy-Weinberg Equilibrium analysis showed deviations for LAP3-intron-12 and MASP2-exon-11, suggesting potential effects of non-random mating or genetic drift. Correlation analyses between genotypes and milk yield in Şavak Akkaraman ewes revealed significant positive relationships for the LAP3-intron-12 CC genotype and higher milk production, while the MASP2-exon-11 BB genotype showed a significant negative correlation with lower milk yield. The findings provide insights into the genetic basis of milk production traits in Şavak Akkaraman ewes.

KeyWords: Şavak Akkaraman, PCR-RFLP, Gene Polymorphism, LAP3, MASP2 and SIRT1

1. GİRİŞ

Koyun (*Ovis aries*) küresel olarak önemli bir çiftlik hayvanı türünü temsil eder ve et, süt ve yün dahil olmak üzere hayvansal ürünlerin önemli bir kaynağını oluşturur. Birçok gelişmiş ülkede kırsal ekonominin önemli bir parçası olmaya devam ederken, gelişmekte olan ülkelerde ise sürdürülebilir tarımın merkezinde yer almaktadır. Çiftlik hayvanlarındaki ıslah çalışmaları genellikle verim özelliklerinin iyileştirilmesine yöneliktir. Ancak son yıllarda bireyin immun sisteminin rol oynadığı hastalıklara direnç özelliklerinin iyileştirilmesi konusuna ilgi giderek artmaktadır (Mallard ve ark., 2015). Tüm hayvancılık alanlarında üretim maliyetlerinin düşürülmesi ve gerek hayvan sağlığı gerekse insan sağlığı yönünden önemli bir sorun olan antibiyotiğe dirençli patojenlerin oluşumunu azaltmak için antibiyotik kullanımının azaltılması ihtiyacı bir zorunluluk haline gelmiştir (Mallard ve ark. 2015). Bu nedenle çiftlik hayvanlarında sağlıkla ilgili iyileştirme çalışmalarında alternatif metotların uygulamaya konulmasına ihtiyaç vardır.

Mastitis, büyük ekonomik kayıplara yol açan, hayvanın refahını etkileyen, süt koyunlarındaki en yaygın hastalıklardan birisidir (Banos ve ark., 2017). Mastitis direnci ve süt üretimi, süt sektöründe ekonomik öneme sahip karmaşık özelliklerdir (Fang ve ark., 2017). Süt endüstrisinde mastitis, süt üretimi ve kalitesinin düşmesine, hayvanların tedavi ihtiyacı nedeniyle en maliyetli hastalıklardan biridir (Aitken ve ark., 2011). Mastitisin ortadan kaldırılması zor ve kalıtım derecesi düşük olduğundan, geleneksel seleksiyonla mastitisi iyileştirmek çokta etkili değildir ve genetik bağışıklık direncini iyileştirme çabaları çok az başarı elde edilmiştir (Sutera ve ark., 2021). Hijyenik veya daha farklı yöntemler uygulanmasına rağmen hastalık tüm süt koyunu üretim sistemlerinde devam etmektedir. Süt hayvanlarının meme enfeksiyonuna duyarlılığının kalıtsal olduğu düşünülmektedir. Ancak meme bezinde patojenlere karşı oluşan bağışıklık yanıtının meydana gelmesi hakkındaki mevcut bilgiler sınırlıdır (Mastitis, 2011; Rupp ve Boichard, 2003). Süt hayvanlarında, yaygın mastitis patojenleri olan *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*, bağışıklık sistemini farklı şekillerde aktive ederek, hastalığın şiddetini ve kronikliğini etkilerler(Lee ve ark., 2006). Enfeksiyona yanıt olarak memede lökositlerin (nötrofiller) toplanması, süt somatik hücre sayısı (SCC) olarak ölçülür (Gonzalo ve ark., 2002). Hayvan soyağacına ve SCC kayıtlarına dayalı yetiştirme programları (mastitis için ilişkili bir özellik olarak) dünya çapında süt sığırlarında ve Fransız Lacaune süt koyunlarında uygulanmıştır (Heringstad ve ark., 2003; Barillet,

2007). Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) belirteçlerinin genotiplenmesine dayanan işaretleyici destekli seçim veya genomik seçim, genetik iyileştirme çabalarını artırabilir ve hızlandırabilir (Banos ve ark., 2017). Genetik yaklaşımların çiftlik hayvanlarında sağlıkla ilgili özelliklerin ıslahında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

1.2. Koyuncululuğun Önemi

Zamanın başlangıcından beri koyunlar insan nüfusunun ayrılmaz bir parçası olmuştur. Her ne kadar dünya son birkaç yüzyılda uzun bir yol kat etmiş olsa da koyunlar hala inanılmaz derecede önemlidir (Locke ve O'Connor, 2017). Bu nedenle koyun yetiştiriciliği hala çok büyük bir endüstridir. Amerika Birleşik Devletleri'nde çok fazla koyun olmasına rağmen, önemli ölçüde daha fazla koyuna sahip olan birçok başka ülke de vardır. Çin, dünyadaki herhangi bir ülkeden daha fazla koyuna sahiptir ve yaklaşık 175 milyonu kendi sınırları içinde yaşamaktadır. Ekonomi büyümeye devam ettikçe Çin'deki koyun nüfusu da artmaya devam etmektedir. Çin'in listedeki ikinci ülkelerden iki kat daha fazla koyunu varlığıyla karşımıza çıkmaktadır (Anonim, 2024). Çin'i Avustralya takip etmektedir. Avustralya'nın sınırları içerisinde yaklaşık 75 milyon koyun yaşamaktadır (Deards ve ark., 2014). Hindistan'da da çok sayıda koyun bulunmaktadır. Hindistan'ın sınırları içerisinde yaklaşık 54 milyon koyunun yaşadığı tahmin edilmektedir (Muthuchelvan ve ark., 2015). Her ne kadar İran kapalı olsa da İran'ın da çok sayıda koyunu olduğu tahmin edilmektedir. İran'ın sınırları içerisinde yaklaşık 50 milyon koyunun yaşadığı düşünülmektedir. Koyunların dünyanın her yerinde bulunabileceği açıktır ve çok sayıda bulunabilirler (Anonim, 2024).

Türkiye'de nüfusun her yıl [% 2.5 dolayında] artması beslenme sorununu güncel ve önemli bir konu haline getirmektedir. Bir yandan halkımızı dengeli ve çağdaş bir beslenme düzeyine ulaştırma çabaları sürdürülürken, öte yandan et peynir ve canlı hayvan dış satımını arttırmak zorunda oluşumuz, hayvansal üretimde bir atılım yapmamızı gerektirmektedir. Bunun bir sonucu olarak Türkiye'de nüfus arttıkça, koyun sayımızda aynı şekilde artmıştır. Şu anda 48 milyona ulaşan koyun varlığımız insan nüfusuna eşit durumdadır. Koyun varlığımızın büyük kısmını yağlı kuyruklu ıslah edilmemiş yerli koyunlar oluşturmaktadır. Karaman ve Dağlıç koyunu ırkları bu sayı içinde ağırlık kazanmaktadır. Batı Bölgelerimizde ve Trakya'da ince kuyruklu Kıvırcık ırkı yaygın bulunmaktadır. Tüm yerli koyunlarımızda et, süt ve yapağı üretimi yapılır. Bu yüzden

bunlara kombine verim yönlü yerli ırklar adı verilir. Türkiye'de koyunlardan elde edilen et süt ve yapağı gibi verimlerin ekonomik değeri yüksektir ve pazarda her zaman kolayca alıcı bulabilir. Hayvansal ürünler içerisinde en kolay pazarlanan ürün koyunlardan elde edilir. Tüketici koyun sütünden yapılmış peynir ve yoğurdu tercih eder. Koyun sayısının artmasında ürünlerin kolay pazarlanması yanında, sığırların yararlanamadığı meralardan, koyunların yararlanması etken, olmuştur. Ancak, sayıca çok olan koyun varlığımıza rağmen, bu hayvanların canlı ağırlıkları düşük süt verimleri az döl verimleri yetersiz ve yapağıları da düşük kalitelidir. Kumaş endüstrimizin iyi kalite yapağı gereksinimi karşılamak üzere başlatılan Merinoslaştırma çalışmaları henüz istenilen düzeye ulaştırılamamıştır. Bunda koyun verimlerinin ekonomik ağırlıkları ve bunların toplam gelirdeki paylarının da önemli etkisi olduğu gözden uzak tutulmamalıdır. Ülkemizde koyunlardan elde edilen verimlerin toplam gelirleri tahmini payları, Süt verimi % 40, Et verimi % 50, Yapağı verimi % 10 şeklindedir. Dünya koyun sayısı ve gelişimi Tablo 1.1'de sunulmaktadır.

Tablo 1.1. Dünyadaki koyun varlığı

Ülke	Koyun Sayısı	Dünyadaki Yüzdesi
Çin	173,1 milyon	%13,7
Hindistan	68,1 milyon	%5,39
Avustralya	63,5 milyon	%5,03
Nijerya	47,7 milyon	%3,78
İran	46,6 milyon	%3,69
Etiyopya	42,9 milyon	%3,4
Türkiye	42,1 milyon	%3,34
Sudan	40,9 milyon	%3,24
Çad	38,7 milyon	%3,06
Birleşik Krallık	35,6 milyon	%2,59
Pakistan	32,7 milyon	%2,47
Cezayir	31,2 milyon	%2,45

* <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/sheep-population-by-country>

Koyun dünya çapında hala önemli bir rol oynamaktadır ve yün ürettikleri için koyunlar hala popülerliklerini korumaktadır. Yün önemlidir çünkü giysi yapımında kullanılmaktadır. Artık giysi yapımında kullanılabilecek pek çok farklı kumaş türü var,

ancak yün birçok nedenden dolayı hâlâ popülerdir. Yapımı nispeten ucuzdur, insanların sıcak kalmasına yardımcı olabilir ve çok çeşitli renklere boyanabilir. Dolayısıyla bazı insanlar polyesteri tercih etse de yün giyim sektörünün ayrılmaz bir parçası olmaya devam edecektir, bu da koyunların küresel ekonomide önemli bir rol oynamaya devam edeceği anlamına gelmektedir.

1.3. Koyunlarda Genetik Çeşitlilik

Evcilleştirme ve ardından gelen seleksiyon bağlantılı yetiştirmenin bir sonucu olarak koyunlar, çeşitli ortamlarda gelişmelerini sağlayan özellikler sergilemiştir (Kijas ve ark., 2012). Evcilleştirme süreci, hayvanların vahşi ortamdan insanlarla yaşamaya başlamalarını içeriyordu; bu da yün, süt ve et gibi belirli üretim amaçlarına göre uyarlanmış çok çeşitli türlerin ortaya çıkmasına bunun bir sonucu olarak da koyun ırklarında morfolojik, davranışsal ve genetik değişikliklere yol açmıştır (Chessa ve ark., 2009). Verimliliği artırmak için yapılan yoğun seleksiyon programları, ırkların farklılaşmasını hızlandırmıştır. Coğrafi farklılıklar, farklı ırkların oluşumunda rol oynasa da, küresel etkileşimler gen akışını kolaylaştırarak karma ve melez ırkların oluşmasına yol açmıştır. Koyun ırkları arasındaki fenotipik çeşitlilik, çoğu koyun popülasyonunun henüz incelenmediğini ve çoğunun tam olarak karakterize edilmemiş olan genetik heterojenliğin olduğunun bir göstergesidir (Kijas ve ark., 2012; Fariello ve ark., 2014).

Koyunların en erken evcilleştirilen hayvanlar arasında olduğunu ileri sürmektedir (Crombé ve ark., 2020). Asya ve Avrupa Muflonları (Vahşi koyunları), mitokondriyal DNA (mtDNA) haploit gruplarında farklılıklar sergilemektedir (Hiendleder ve ark., 2002). Koyunların, Asya'daki *Ovis Orientalis* popülasyonundan türediği öne sürülmektedir (Meadows ve ark., 2011). Dünya çapında 74 farklı koyun ırkından alınan 2819 DNA örneğini içeren ve 50.000'den fazla SNP markerin kullanıldığı bir çalışmada, koyun ırklarının köpekler gibi diğer evcil hayvanlardan farklı olarak yüksek düzeyde genetik çeşitliliğe sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (Kijas ve ark., 2012). Asya ve Avrupa'daki evcil koyun ırkları arasında da yüksek seviyede gen akışı gözlemlenmiştir (Meadows ve ark., 2005). Kantitatif genetik metodolojilerinin, suni tohumlamanın, genomik seleksiyon gibi yöntemlerin kullanılması, evcilleştirme sonrası ırkların çoğalmasına ve koyunların küresel çeşitliliğinin artmasına neden olmuştur (Deniskova ve ark., 2019). Ancak bunun bir sonucu olarak cins içi çeşitliliğe yol açmıştır (Kristensen ve ark., 2015).

Binlerce yıl boyunca koyunların evcilleştirilmesi ve ardından seleksiyonları, yün, süt, et, post ve kombine amaçlar için kullanılmaları, çeşitli amaçlar için uzmanlaşmış ırkların ortaya çıkmasını sağlamıştır (Gouveia ve ark., 2014). Buna koyun morfolojisi, davranışı ve genetiğindeki değişiklikler de eşlik etmiştir. Gerek koyun gerekse diğer evcilleşmiş çiftlik hayvanlarında gözlemlenen genetik çeşitlilik, ekolojilerinin veya coğrafi bölgelerinin bir yansıması olduğu sonucuna varmıştır (Al-Atiyat ve ark., 2018). Genetik çeşitlilik, çok sayıda ekotip ve yerel ırkta ortaya çıkarılmıştır; yerel ırklar, evrimsel genetik çeşitliliğin deposu olarak kabul edilmektedir (Taberlet ve ark., 2008). Yerel ve yerli ırklar zorlu koşullara, beslenme farklılıklarına, hastalıklara ve parazitlere karşı direnç gösterirler (Wei ve ark., 2015). Sosyo-kültürel ve ekonomik faktörler, koyun ve diğer hayvan popülasyonlarının genetik çeşitliliğini şekillendiren etkili faktörler olduğu tespit edilmiştir (Tisdell, 2003). Nüfus artışı, kentleşme, ekonomik kalkınma ve pazar talepleri gibi sosyo-ekonomik ve çevresel faktörler, hayvan sayısındaki değişikliklere katkıda bulunarak genetik çeşitliliği doğrudan etkilemektedir (Mwangi, 2013). Yetiştirme hedefleri doğrultusunda, sürü yönetim uygulamaları, suni tohumlama programları ve doğal seleksiyon baskıları (coğrafi ve iklimsel faktörler), seleksiyon etkili bir şekilde gerçekleşmişine, bu da koyunların farklı ortamlara ve özel üretim koşullarına uyum sağlayan ırklara ve popülasyonlara ayrılmasına neden olmuştur (Gouveia ve ark., 2014). Bu seleksiyon süreçleri, hem fonksiyonel mutasyonlar hem de tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) için hedef popülasyon içindeki alel frekanslarını değiştirmiştir (Rochus ve ark., 2020). Evcilleştirilmiş koyunlar ırkları, yapağı, et ve süt üretimi için yapay seleksiyonun yanı sıra, koyun genomunda ayırt edici seleksiyon izleri bırakan doğal seleksiyona da maruz kalmıştır (Paim ve ark., 2018). Günümüzde koyunlarda gözlemlenen geniş fenotipik çeşitlilik yelpazesi, yapağı, süt ve et gibi farklı üretim özelliklerine yönelik seleksiyon yanı sıra yeni ortamlara doğal adaptasyonun birleşik etkilerinden kaynaklanmaktadır (Ruiz-Larrañaga ve ark., 2018). Bir çok çalışmada, farklı koyun ırkları ve popülasyonlarında seleksiyon belirtileri ve yerel koşullara adaptasyonları araştırmıştır. Kijas ve ark. (2012) tarafından yürütülen kapsamlı bir genomik analiz çalışmasında, küresel ölçekte koyun popülasyonlarında, kürk pigmentasyonu, iskelet morfolojisi, vücut büyüklüğü, büyüme ve üreme dahil olmak üzere çeşitli fenotipik özelliklerle ilişkili 31 genomik bölge tanımlanmıştır. Boynuz eksikliği için seçici üremeye yanıt veren *RXFP2* gibi genlerde ve özel yapağı pigmentasyonunu etkileyen ve farklı ırklarda tanımlanan *KIT*, *ASIP* ve *MC1R* gibi genlerde dikkate değer seleksiyon özelliğine sahip olduğu

bulunmuştur. Yurchenko ve ark. (2019), koyun popülasyonlarındaki seçilim baskılarını ve genomik markerleri daha ayrıntılı olarak açıkladıkları çalışmalarında. Rus koyun ırklarında, genomik seleksiyon için önemli olabilecek, genomik bölgelerin, morfoloji, adaptasyon ve evcilleştirmeyeyle ilgili özellikler açısından seleksiyon altında olduğu bulunmuşlardır. EGFR, HSPH1, NMUR1, EDNRB, PRL, TSHR ve ADAMTS5 gibi genlerin çevresel adaptasyonlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Hastalıklardan ve parazitlerden kaynaklanan seçici baskılar McRae ve ark., (2014) tarafından araştırıldı, koyun popülasyonlarında kitinaz aktivitesinde ve sitokin tepkisinde yer alan aday genleri vurgulamaktadır. Çin yerli koyun ırklarının, özellikle iklim değişikliğine tepki olarak aşırı ortamlara uyum sağladığı, tüm genom dizisi verileri kullanılarak gösterilmiştir (Yang ve ark., 2016). Ruiz-Larrañaga ve ark. (2018), Batı Pireneler 'deki 25 Sasi Ardi ve 75 Latxa koyunun genomunu taramış ve yerel adaptasyonun geleneksel sütçülük seleksiyon baskısının altında yatan bölgelerdeki seleksiyonu ve son dönemde Latxa ırkı için oluşturulan modern genetik iyileştirme programının spesifik etkisini yaşayan bölgeleri rapor etmiştir. Manzari ve ark. (2019), İran koyun ırklarının evcilleştirilmesine kadar uzanan iskelet sistemi ve kuyruk, şeker ve enerji metabolizmaları, büyüme, üreme, bağışıklık ve sinir sistemi özelliklerinde rol oynayan bölgelerde seçilim olduğunu göstermiş ve çok sayıda aday gen bildirmiştir, HOXB9, HOXB13, ACAN, NPR2, TRIL, AOX1, CSF2, GHR, TNS2, SPAG8, HINT2, ALS2, AAAS, RARG, SYCP2, CAV1, PPP1R3D, PLA2G7, TTLL7 ve C20orf10 gibi. Genel olarak, seleksiyon ve adaptasyonu inceleyen çalışmalar, diğer çiftlik hayvanı türlerinde de yaygın olan, koyunlarda seleksiyon baskılarını uygulayan evrimsel özelliklere dair öngörüler sağlamıştır.

1.4. Türkiye'deki Koyun Popülasyonları

Türkiye, önemli bir koyun popülasyonuna sahiptir, koyun yetiştiriciliği açısından dünya çapında önemli ülkeler arasında yer almaktadır. Ancak kişi başına düşen verim geride kaldığı için bu sayısal önem koyun başına yüksek verimliliğe dönüşmemektedir (Yargıcı ve diğerleri, 1986). Türkiye'deki koyun popülasyonu, 2023 yılı itibarıyla 42 milyon 565 bin civarındadır ve bu da Türkiye'yi dünyadaki en yüksek koyun popülasyonuna sahip ülkelerden birisi yapmaktadır (TUİK, 2024). Koyunlar, Türk tarım sektöründe önemli bir rol oynamakta olup, hem et hem de süt üretimine önemli katkılarda bulunmaktadır. Türkiye'de üretilen toplam etin yüzde 43'ü, toplam sütün ise yüzde 33'ü

koyun ve keçilerden elde edilmektedir. Canlı koyun, keçi ve bunların etleri ve tiftiği de dahil olmak üzere hayvancılık ihracatı ekonomiyeye önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Türkiye'de koyun sayısının çokluğuna ve sektörün hayati rolüne rağmen koyun yetiştiriciliği ağırlıklı olarak ekstansif koşullarda yapılmaktadır. Koyun popülasyonunun çoğunluğu, yüzyıllara yayılan geleneksel yetiştirme uygulamalarının bir sonucu olarak, düşük verimli ancak yetersiz bakım ve beslenme koşullarına adapte olmuş yerli ırklardan oluşmaktadır (Eliçin ve Okuyan, 1975; Eliçin ve ark., 1989).

Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerindeki çeşitli sosyo-ekonomik ve doğal koşullar, farklı morfolojik ve fizyolojik özelliklere sahip çok sayıda koyun ırkının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Türk koyunları genel olarak küçük yapılı, kaba Yapağılı, düşük verimli ve bulundukları bölgenin şartlarına iyi adapte olmuş hayvanlardır. Türkiye'deki koyun popülasyonunun %80'inden fazlasını yağlı kuyruklu koyun ırkları oluşturmakta olup, Akkaraman ırkı başta olmak üzere, onu Morkaraman, Dağlıç, Kıvırcık, Merinos, Karayaka ve İvesi ırkları takip etmektedir. İmroz, Sakız ve Tuj ırkları ise daha küçük popülasyonlarda bulunmaktadır (Eliçin ve Ertuğrul, 1992). Türkiye'de yerli koyun ırklarına yönelik araştırmalar ağırlıklı olarak kamu kurumlarında yürütülmektedir. Koyun popülasyonlarının farklı yetiştirme koşullarındaki genel performansının, morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin ve üreme koşullarının anlaşılması, daha etkin hayvancılık geliştirme politikalarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Çiftçi işletmelerinde koyunların yetiştirme koşulları ve performansları tam olarak anlaşılmadan etkili yetiştirme programları planlanamaz (Karaca ve ark., 1996). Bu tür araştırmaların sonuçları, ülkenin koyun çiftçiliğinin geliştirilmesine yönelik etkili politikaların uygulanmasının önemli bir parçasını oluşturmaktadır.

Farklı bölgelerdeki geleneksel koyunculuk altyapısının araştırılması ve yerli koyun popülasyonlarının değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Günümüzde koyun popülasyonunun çoğunluğu Merinos ve melezlerinden oluşmakta olup toplamın yalnızca %4'ünü oluşturmaktadır (Akman ve Kızılkaya, 1993). Koyun popülasyonunun büyük çoğunluğunun yoğunlaştığı Doğu Anadolu Bölgesi'nde Morkaraman ırkı Erzurum, Kars, Ağrı ve Muş'ta, Akkaraman ırkının bir çeşidi olan Karakaş ve Şavak Akkaraman çeşitleri ise Erzincan, Tunceli, Bitlis ve Van (Karaca ve diğerleri, 1996). Bununla birlikte, tek tek işletmelerde bile tür veya çeşitlilik bakımından çoğu zaman bir tekdüzelik eksikliği söz konusudur.

Son yıllarda, Irak ve İran kökenli koyunların yasa dışı girişi ve mevcut ırklar arasındaki melezleme, işletmeler içinde ve aralarında büyük farklılıklara yol açmıştır. Türkiye'deki ekonomik koşullar koyun yetiştiriciliğine uygun görülmektedir. Akkaraman ırkı, Türkiye'deki koyun popülasyonunun yaklaşık yarısını oluşturmakta olup, erkek kuzu satışı yoluyla ana gelir kaynağını oluşturmaktadır. Böylece Akkaraman ırkı, kırmızı et açığının kapatılmasında, düşük kaliteli meralardan yararlanılmasında ve yüksek sürü kapasitesinden faydalanılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle Akkaraman ırkının gelişim özelliklerinin geliştirilmesi Türkiye'de koyun eti üretiminin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır

1.5. Türkiye'deki Yaygın Koyun Irkları

Türkiye, coğrafik konumu açısından değerlendirildiğinde, tam bir kavşak konumundadır. Evcilleştirmenin merkezi konumdan olduğu düşünüldüğünde farklı ırkların bulunması kaçınılmazdır. Türk koyun ırkları, pek çok benzersiz ve değerli çeşitleri, ülkenin zengin tarımsal mirasının bir göstergesidir. Bu ırklar arasında İvesi koyunu, ağırlıklı olarak Türkiye'nin güneydoğu bölgesinde yaşamaktadır ve nesli tehlike altında olan bir tür olarak sınıflandırılmaktadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012). İvesi koyunu, baş, boyun ve bacaklarda siyah veya kahverengi lekeler bulunan orta büyüklükte beyaz bir gövdeye sahiptir. Hem erkek hem de dişi İvesi koyunları doğal olarak boynuzsuzdur (Yılmaz ve ark., 2012). Dağlıç ırkı Batı Anadolu'ya özgü olup, kaba yünü, et ve süt verimi, baş ve bacaklarındaki siyah noktalar ile karakterize edilir. Dağlıç ırkının erkekleri genellikle boynuzlu iken dişileri genellikle boynuzsuzdur. Ne yazık ki Dağlıç nesli tükenme tehlikesiyle karşı karşıyadır ve Bolvadin'de üç çiftçi tarafından yalnızca 200 koyun korunmaktadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012). Kuzey Anadolu'da bulunan Karayaka'nın kaba yünü, uzun ince kuyruğu ve küçük vücut büyüklüğü vardır. Erkek Karayaka koyunlarının ağırlığı 55 kg civarında, dişileri ise yaklaşık 40 kg civarındadır. Gövde rengi ağırlıklı olarak beyazdır, bazen siyah gözler veya siyah baş ve bacaklar bulunur. Erkekler genellikle kalın ve spiral boynuzlu iken dişiler genellikle boynuzsuzdur (Mason, 1996; Arat, 2011; Yılmaz ve ark., 2012). Anavatani Türkiye'nin kuzeybatısında olan Kıvırcık, Bulgaristan'ın Karnobat'ına ve Balkanlar'ın Tsigai'sine benzeyen, orta/kaba yünlü, et ve süt tipi bir cinstir. Kıvırcık koyununun kürkü beyaz veya benekli olup, siyah ve kahverengi çeşitleri mevcuttur. Erkek Kıvırcık koyunları

boynuzlu, dişileri ise genellikle boynuzsuzdur. Cins, muhtemelen Avrupa koyun ırklarından kaynaklanan farklı bir genetik yapıya sahiptir (Koban, 2004; Yılmaz ve ark., 2012). Bir hükümet girişimi, Marmara Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde (MARI) toplam 286 Kıvırcık koyunu (15 koç ve 271 koyun) koruma altına almakta olup, buna ilaveten 200 koyun da Kırklareli 'de özel bir çiftçinin bakımı altındadır (Ertuğrul ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012). Doğu Anadolu'da baskın bir koyun ırkı olan Morkaraman, açık kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişen gövde yapısına sahip bir et türü olarak nitelendirilmektedir. Erkek Morkaraman koyunları boynuzlu, dişileri ise genellikle boynuzludur. Erkeklerin ağırlığı 50 ila 90 kg arasında değişmekte olup dişilerin ağırlığı genellikle 40 ila 60 kg arasındadır (Yılmaz ve ark., 2012). İç Anadolu'da yaşayan Akkaraman, kaba yünlü, et ve süt cinsi bir ırktır. Akkaraman koyununun kürk rengi burun ve yüzde siyah olup, bazen göz çevresine kadar uzanır. Bu cinsin erkekleri genellikle boynuzsuz, dişileri ise doğal olarak boynuzsuzdur (Mason, 1996; Yılmaz ve ark., 2012).

Türk koyun popülasyonu, Çandır, Çine Çaparı, Hemşin, Herik, İmroz (Gökçeada), Kangal Karaman, Karacadağ, Karagül, Karakaş, Karya, Norduz, Pırlak, Sakız, Güney Karaman ve Tuj dahil olmak üzere birçok nadir ırkı kapsamaktadır (Yılmaz ve ark., 2012). İmroz (Gökçeada), Karya, Pırlak ve Sakız ırkları ince kuyruklu, diğerleri ise yağlı kuyruklu özellikler göstermektedir (Yılmaz ve ark., 2012). Dağlıç ve Akkaraman'ın çiftleşmesi sonucu oluşan melez bir koyun olarak tanımlanan Çandır, Batı Anadolu'da yaşamaktadır ve eşanlamlısı Kesber'dir (Mason, 1996; Sönmez, 1978). Aydın'da bulunan Çine Çaparı koyununun hastalığa dayanıklı olduğu, yetişkin dişilerinin ağırlığının ise 35 kg civarında olduğu belirtilmiştir. Yapağı rengi ağırlıklı olarak beyazdır, bazen ayaklarda ve midede açık kahverengiden siyaha kadar lekeler bulunur. Nesli tükenmekte olan bir tür olarak sınıflandırılan Çine Çaparı'nın nesli neredeyse tükenmek üzere olup, Aydın'da 120 koyun iki çiftçi tarafından koruma altına alınmıştır (MARA/FAO, 2000; Ertuğrul ve diğerleri, 2009). Türkiye'nin kuzeydoğusundaki Morkaraman'ın bir çeşidi olan Hemşin, kahverengi, siyah veya beyaz yapağı rengine sahip, kaba yünlü ve et türü bir cinstir. Erkekler boynuzludur, dişiler ise genellikle boynuzludur ve yağlı tabanlı uzun bir kuyruğa sahiptirler. Nesli tükenme tehlikesi altında olan Hemşin'in Artvin Ardanuç'ta 200 koyunu bir çiftçi tarafından koruma altındadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009). Kuzey Anadolu'da yer alan Herik, kaba yünlü, etli ve sütlü bir ırk olarak nitelendirilmektedir. Dağlıç'a benzer şekilde genellikle beyaz renktedirler ve başlarında koyu lekeler bulunur ve erkekler boynuzlu, dişiler ise genellikle boynuzsuzdur. Kısa ve kalın kuyruklu Herik'in

nesli tehlike altında olup, Amasya'da 200 koyun üç çiftçi tarafından koruma altındadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009). İmroz (Gökçeada), süt, et ve kaba yapağı özelliklerine sahip bir cinstir. Erkekler boynuzludur ve dişiler ya boynuzludur ya da yara izleri gösterir. Gökçeada olarak da bilinen bu cinsin 94 koyunu devlet koruması altındadır ve ayrıca Çanakkale Gökçeada'da iki çiftçinin bakımında 200 koyunu bulunmaktadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009). Kangal Karaman, Sivas ve Malatya illerinde bulunan, beyaz gövdeli, başında siyah benekli, Akkaraman'ın yöresel bir çeşididir. Erkeklerin yaklaşık %5'inin boynuzları vardır, dişiler ise genellikle boynuzsuzdur (Yılmaz ve ark., 2012). Karacadağ, Diyarbakır ilinde yer alan Morkaraman'ın Diyarbakır ili yakınlarında bulunan yerel bir çeşididir (Mason, 1996). Nesli tükenme tehlikesi altında olan Karagül'ün 200 koyunu Tokat'ta iki çiftçinin koruması altında bulunuyor. Et ve süt tipi bir cins olarak sınıflandırılan Karagül, genellikle siyah, bazen de kahverengi, gri veya beyaz bir kürk rengi sergiler. Dişi ve erkeklerin yaklaşık %13'ünün boynuzları vardır . Güneydoğu Anadolu'da nesli tehlike altında olan Karakaş, beyaz gövdeli, başında siyah benekli Akkaraman çeşididir (Sönmez, 1978). Aydın, İzmir, Manisa, Uşak ve Denizli illerinde bulunan Karya, kaba yünlü, küçük boyutlu, etli ve sütlü bir ırk olarak nitelendirilmektedir. Karya tipik olarak ağız çevresinde, gözlerde ve kulaklarda siyah noktalar bulunan beyaz bir gövde sergiler. Erkekler genellikle kalın, güçlü ve spiral boynuzludur, dişiler ise genellikle boynuzsuzdur. Nesli tükenme tehlikesi altında olan Karya'nın uzun ince bir kuyruğu vardır (Ertuğrul ve ark.,2009; Yılmaz ve ark., 2012). Norduz, Türkiye'nin doğusunda Van ilinin Gürpınar ilçesine bağlı Norduz Bölgesi'nin yerel bir cinsidir. Yapağı rengi genellikle beyaz, bazen gri, gri, kahverengi veya beyazdır. Norduz, et ve süt tipi bir cins olarak sınıflandırılır; erkekleri boynuzludur ve dişileri %50 oranında boynuzsuzdur. Aynı zamanda yağlı kuyruklu bir ırk olup, Van ilinde 200 koyunu 11 çiftçi tarafından koruma altına alınmaktadır (Ertuğrul ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012). Afyon, Burdur, Isparta, Kütahya, Manisa ve Uşak'ta bulunan Pırlak, kaba yünlü ve orta büyüklükte bir gövdeye sahiptir. Yapağı rengi genellikle beyazdır ve ağız çevresinde, gözlerde ve kulaklarda siyah noktalar bulunur. Erkekler genellikle güçlü ve spiral boynuzludur, dişiler ise genellikle boynuzsuzdur. Pırlak nesli tehlike altında olarak sınıflandırılmaktadır (TAGEM, 2009; Ertuğrul vd., 2009). İzmir'de bulunan Sakız'ın yapağı rengi beyaz olup, ağız çevresi, gözleri, kulakları ve bacaklarında siyah noktalar vardır. Erkekler boynuzludur ve dişiler tipik olarak boynuzludur ve tabanında yağ bulunan uzun bir kuyruk vardır. Nesli tükenmek üzere olarak sınıflandırılan Sakız'ın 130 koyunu

devlet koruması altındadır ve ayrıca 113 koyunu da İzmir Çeşme'de dört çiftçinin bakımı altındadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009). Güney Anadolu'da Antalya, Mersin, Hatay ve Gaziantep illerinde yetişen Ak Karaman'ın siyah çeşidi olan Güney Karaman, et ve süt tipi bir ırktır. Yapağı rengi beyaz, gri, kahverengi, kırmızı, siyahtan alacaya kadar değişir. Dişilerin nadiren boynuzu vardır, erkeklerin ise boynuzları vardır. Erkek ve dişi ağırlıkları sırasıyla yaklaşık 52 kg ve 37 kg'dır. Nesli tükenme tehlikesi altında olan Güney Karaman'ın Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde devlet koruması altında 46 koyunu bulunmaktadır (Ertuğrul ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012). Aslen Gürcistan kökenli olan ve Kars, Ardahan ve Iğdır illerinde bulunan Tuj (Tushin), etli, kaba yünlü ve sütlü bir cins olarak sınıflandırılır. Yapağı rengi, göz çevresinde ve ayaklarda koyu lekeler içerebilir. Erkekleri 50-55 kg, dişileri ise 45-50 kg civarındadır. Erkekler ve dişiler boynuzludur ve Tuj'un kısa, kalın bir kuyruğu veya kalın bir kalçası vardır. Nesli tükenmek üzere olan Tuj, koruma çalışmaları gerektirdiği için tehlikeyle karşı karşıyadır (Mason, 1996; Ertuğrul ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012).

1.5.1. Şavak akkaraman koyun ırkı

Türkiye, İran ve Irak üçgeninde geniş bir alana yayılmış olan Şavak Aşireti, Doğu Anadolu'da başta Tunceli olmak üzere Elazığ ve Erzincan illerinde ikamet ettikleri, göçler sonucu Konya, Ankara, Sivas, İstanbul ve Adıyaman gibi illerde de yayıldığı bilinmektedir. Kırsal kesimde geçimini küçükbaş hayvan yetiştiriciliği ile sağlayan bu aşiret; göçebe yaşamı günümüze kadar getiren bu kültürün devam etmesini sağlayan bir topluluktur (Durmuş ve ark., 2009). Şavak koyunu; Elazığ ve çevre illerde özellikle Şavak aşiretine mensup yetiştiriciler tarafından Akkaraman koyun ırkının kendi içerisinde, daha çok süt verimi yönünden fenotipik özellikleri göz önüne alınarak uzun yıllar yapılan yetiştiriciliği sonucu farklı bir varyete olarak ortaya çıkmıştır. Elazığ Tarım ve Orman İl Müdürlüğü verilerine göre Elazığ'da yaklaşık 900 bin baş koyun varlığı mevcuttur. Bu koyun varlığının 213.648 baş gibi önemli bir kısmını Şavak genotipi oluşturmaktadır. Elazığ/Merkez ilçesinin 148.766 baş Şavak koyun varlığı mevcuttur (<https://elazig.tarimorman.gov.tr/Menu/71/Faaliyetlerimiz>).

Şavak aşireti, koyunları öncelikle süt üretimi için yetiştirmektedir. Bunun için koyunların mümkün olduğunca laktasyon süresini uzatmayı amaçlamaktadır. Şavak koyunu ırkı, Akkaraman koyun ırkından farklı özellikler sergileyebilmektedir.

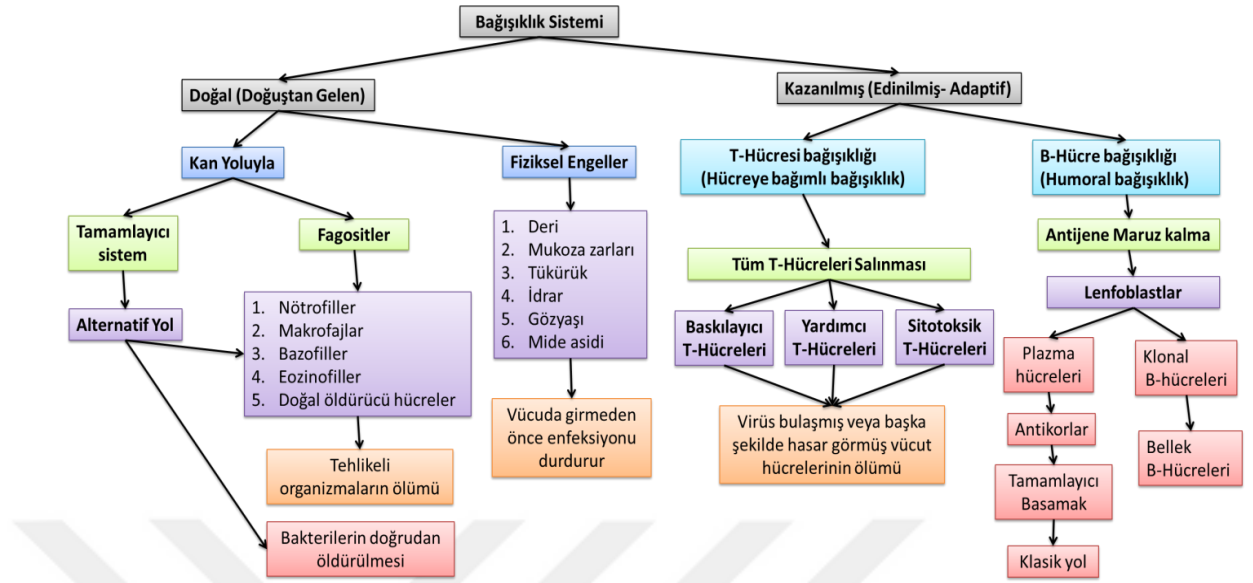
Koyunlardan elde edilen sütün büyük bir kısmı "Şavak Tulum Peyniri" üretiminin birincil kaynağını oluşturmaktadır (Yıldırım, 2003). Verim yönünden incelendiğinde Şavak Akkaraman kombine (et, süt, döl ve yapağı) bir ırak olarak ortaya çıkmaktadır. Yetiştirme alanı Doğu Anadolu bölgesi, Tunceli, Elazığ ve Erzincan olarak karşımıza çıkar. Genellikle aile işletmelerinde büyük sürüler halinde yetiştirilir (Yağcı ve ark., 2018). Bireyler, göz, burun ve pedal bölgelerindeki siyah işaretlerle vurgulanan, ağırlıklı olarak beyaz bir vücut teni sergilemektedir. Bu türün hayvanları tipik olarak 62 ila 65 santimetre arasında değişen omuzlarda bir yüksekliğe ulaşırlar. Baş, çene altı bölgede ve ekstremitelerde belirgin bir yapağı yokluğu sergiler. Koyunlarda boynuz bulunmazken koçlarda boynuz gelişimi düşük oranda görülür. Hastalıklara karşı son derece dayanıklı olan bu tür, çeşitli çevre koşullarına güçlü bir uyum yeteneği göstermektedir. Uzun yol yürüyüşlerine ve kapsamlı hareket etme eğilimi yanında iyi gelişmiş bir sürü içgüdüleri sergilerler. Yönetilen sürülerde süt üretimi, 140-160 günlük laktasyon döneminde ortalama 126 ila 208 kilogram arasındadır. Ayrıca yavrular 90 günlük yaşta ortalama 33 kilogram canlı ağırlığa ulaşırlar (Yağcı ve ark., 2018).

1.6. Bağışıklık Sistemi

Gelişmiş organizmalar, bol miktardaki besin kaynağından yararlanmak isteyen potansiyel istilacıları tespit etmek ve bunlara karşı savunma yapmak için güçlü bir dizi savunma mekanizması kullanırlar. Bu karmaşık savunma sistemi, bir yandan organizmanın kendi hücreleri ile zararlı istilacı varlıkların hücreleri arasında aynı anda ayırım yapmalı, bir yandan da bağırsak ve deri gibi çeşitli dokularda bulunan faydalı kommensal floraya zarar vermekten kaçınılmalıdır. Bağışıklık tepkileri, çeşitli hücreler ve bunların salgıladığı çözünabilir moleküller tarafından düzenlenir. Lökositler tüm bağışıklık yanıtlarında merkezi bir rol oynarken, diğer doku hücreleri, lenfositlere sinyal göndererek ve T hücreleri ve makrofajlar tarafından salınan çözünabilir hücreler arası sinyal molekülleri olan sitokinlere yanıt vererek katkıda bulunurlar (Parkin ve Cohen, 2001). Antijenlerin ve patojenlerin, özellikle de mononükleer fagosit soyunun içselleştirilmesinden ve parçalanmasından sorumlu olan fagositler çok önemli bir rol oynar. Kemik iliği kök hücrelerinden köken alan bu hücreler, çok çeşitli mikrobiyal mikroorganizmaları tanımayı ve onlara bağlanmayı sağlayan yüzey reseptörlerine sahiptir. Bağışıklık sisteminin iki amacı vardır: Patojenin kendisini yok etmek ve yan ürünlerini nötralize etmek. Hücre içi

patojenlerle mücadelede kilit oyuncular olan T hücreleri, sitotoksikite yoluyla enfekte hücrelerin yok edilmesini tetikleyebilir veya patojene doğrudan karşı koymak için enfekte hücreleri aktive edebilir (örneğin, içselleştirilmiş organizmaları ortadan kaldırmak için makrofajları uyaran sitokinleri serbest bırakan yardımcı T hücreleri). Birçok patojenin enfeksiyonun hem hücre içi hem de hücre dışı aşamalarına maruz kaldığı göz önüne alındığında, farklı mekanizmalar sıklıkla farklı aşamalarda çalışır. Örneğin antikorların, virüs kan dolaşımına girdiğinde enfeksiyonun başlangıç aşamasını engellemede oldukça etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ancak yerleşik bir enfeksiyonu ortadan kaldırmak için sitotoksik T lenfositlerin (CTL'ler) enfekte hücreleri yok etmesi gerekir. Sonuç olarak, antikorlar enfeksiyonun yayılmasını sınırlamada ve yeniden enfeksiyonu önlemede çok önemli bir rol oynarken, CTL'ler enfekte olmuş hücreleri ele almak için vazgeçilmezdir (Castelo-Branco ve Soveral, 2014).

Bağışıklık sistemi, tepkinin hızına ve özgüllüğüne göre belirlenen iki kısımdan oluşur (Şekil 1.1). Birbiri içerisine geçmiş çok fazla etkileşim olmasına rağmen bunlar doğuştan gelen ve sonradan kazanılan (adaptif-edinilmiş) bağışıklık sistemi olarak adlandırılmaktadır. Doğuştan gelen bağışıklık terimi bazen fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik engelleri içerecek şekilde kullanılır, ancak daha genel olarak, anında konakçı savunması sağlayan bağışıklık sisteminin unsurlarını (nötrofiller, monositler, makrofajlar, kompleman, sitokinler ve akut faz proteinleri) kapsar. En basit hayvanlarda bile görülen tepkinin yüksek düzeyde korunmuş olması, hayatta kalmadaki önemini ortaya çıkarmaktadır (Metchnikoff, 1887; Parkin and Cohen, 2001). Adaptif bağışıklık sistemi (edinilmiş bağışıklık sistemi), gelişmiş canlılarda bağışıklık sisteminin ayırt edici özelliğidir. Bu yanıt, T lenfositleri ve B lenfositleri yoluyla antijene özgü reaksiyonlardan oluşur. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bağışıklık tepki hızlı olmasına rağmen bazen özgüllük eksikliği nedeniyle normal dokulara zarar verirken, adaptif (edinilmiş) bağışıklık tepki ise kesindir ancak gelişmesi birkaç gün veya hafta alır, başka bir deyişle belirli bir süre almaktadır. Edinilmiş bağışıklık tepkisini bir hafızası vardır, böylece sonraki maruz kalmalarda daha güçlü ve hızlı bir tepkiye yol açar, ancak bu hemen olmaz (Mackay ve ark., 2000). Büyüme, üretim performansı, doğurganlık, kuraklık ve aşırı sıcaklar bağışıklık fonksiyonunu etkileyebilir. Zorlu ortamlara uyum sağlamak için, vücuttaki bağışıklık faktörleri tarafından bir dizi bağışıklık tepkisi oluşturulur. Bağışıklık sistemi vücudu patojenlerden (hastalığa neden olan virüsler, bakteriler ve parazitler) koruduğu için hayatta kalmanın temelidir.



Şekil 1. 1.Bağışıklık sisteminin temel bileşenlerinin akış şeması (Paul ve El Bethel Hmar, 2020).

1.7.Doğal Bağışıklık Sistemi ve Savunma Mekanizması

Hem dış hem de iç tehditlere karşı en önde gelen savunma hattı olarak nitelendirilen doğuştan gelen bağışıklık, doğal veya doğuştan gelen bağışıklık olarak da adlandırılır. Bu bağışıklık şekli spesifik değildir ve antijenden bağımsızdır, bir antijenle karşılaşıldığında dakikalar veya saatler içinde acil bir yanıt sağlar (Cruvinel ve ark., 2010). Konak savunma mekanizmaları, olgun haliyle konağın germ hattını oluşturan gen veya genler tarafından kodlanır (Chaplin, 2010). Bu tür bağışıklık yanıtı, aynı patojen ikinci kez istila ederse, bu immünolojik hafızayı oluşturamadıkları için patojeni tanımak için yetersiz kalmaktadır. Doğuştan gelen bağışıklık iki ana bileşenden oluşur: Humoral (kompleman hücreleri) ve hücreli (nötrofilleri, makrofajları ve doğal öldürücü hücreleri).

Humoral (kompleman hücrelerini kapsayan) ve Hücreli (nötrofiller, makrofajlar ve doğal öldürücü hücreleri içeren) olmak üzere iki temel bileşenden oluşan doğuştan gelen bağışıklık, temel bir koruyucu sistem olarak hizmet eder. Doğuştan gelen bağışıklık içindeki savunma bariyerleri dört tipte ortaya çıkar: (a) Deri ve mukoza zarları gibi anatomik bariyerler. Epitel hücre katmanları sıkı bağlantıları kolaylaştırarak hücreler arası yakın teması sağlar. Solunum, gastrointestinal ve genitoüriner sistemlerdeki mukus tabakaları epitelyal siller aracılığıyla yabancı partikülleri sürekli olarak dışarı atar. (b)

Sıcaklık, düşük pH ve kimyasal araçlar dahil olmak üzere fizyolojik bariyerler. (c) Nötrofiller, makrofajlar, dendritik hücreler, doğal öldürücü hücreler ve diğer doğuştan gelen lenfoid hücreler gibi endositik ve fagositik hücreler. (d) İnflamatuar süreç sırasında mikropların yok edilmesine veya etkisiz hale getirilmesine önemli ölçüde katkıda bulunan bir dizi olayı içeren inflammatuar bariyerler (Paul ve ark., 2020).

1.8.Kazanılmış Bağışıklık Sistemi ve Savunma Mekanizması

Adaptif bağışıklık, gelişmiş canlıların yaşamı boyunca edindiği direnç anlamına gelen spesifik veya edinilmiş bağışıklık olarak da bilinir. Antijene bağımlı ve antijene özgü bir savunma mekanizmasıdır ve bu nedenle antijenin ortaya çıkma ve maksimum yanıt üretme süresini geciktirir. Adaptif bağışıklığın avantajı, konakçının antijene ardışık maruziyete karşı daha hızlı, daha güçlü ve etkili bir bağışıklık yanıtı ortaya çıkarmasına izin veren hafıza oluşturma kapasitesidir (Marshall ve ark., 2018). Bu tür bağışıklık, bulaşıcı hastalıklara karşı etkili bağışıklamanın temelini oluşturur. Adaptif bağışıklığın iki ana bileşeni Humoral (B lenfositleri tarafından oluşturulan antikordardan oluşur) ve Hücrelidir (T lenfositlerinin aracılık ettiği). B lenfositleri ve T lenfositleri, bu bağışıklık türünde bulunan ve 'hafıza hücrelerine' çoğalarak spesifik antijenlere karşı uzun süreli bağışıklık sağlayan iki tür lenfositir. Lenfositler kemik iliğinden üretilir ve kemik iliğinde olgunlaşan tip B lenfositlerine dönüşürken, kemik iliğini terk edip timus bezine göç eden tip T lenfositlerine dönüşür ve yüzeylerindeki 'farklılaşma kümesi' (CD) moleküllerine bağlı olarak farklı işlevlerini belirleyen belirli genetik ve immün yüzey özellikleri kazanırlar (Paul ve El Bethel Hmar, 2020). B lenfositleri plazma hücrelerine farklılaşarak spesifik antikordların oluşumundan sorumluyken, T lenfositleri APC ve Histocompatibility Complex (MHC) gibi makrofajlar tarafından sunulan uygun antijenlerin varlığında aktive olurlar. B lenfositlerinin işlevi askeri istihbarat sistemi gibidir, hedefi bulur ve savunma eylemi düzenlerler, T lenfositleri ise askerler gibi çalışır, istihbarat sistemi yani B lenfositleri tarafından belirlenen istilacı maddeyi yok ederler (Paul ve El Bethel Hmar, 2020). Antijene özgü reseptörler, sağlam T hücre reseptörü (TCR) ve immünoglobulin (B hücre antijen reseptörü; Ig) genlerini oluşturmak için germ hattı geninin somatik yeniden düzenlenmesi ile bir araya gelen genler tarafından kodlanır. Milyonlarca farklı antijen reseptörü, her biri potansiyel olarak benzersiz ve antijene özgü olan antijen reseptörlerinin birkaç yüz germ hattı kodlu gen elemanının bir araya gelmesinden oluşur (Chaplin, 2010).

Reseptörlerin bu çeşitliliğinin avantajı, adaptif bağışıklığın her türlü patojeni tanımlamasına yardımcı olur (Turvey ve Broide, 2010). Doğal olarak edinilen adaptif bağışıklık ve yapay olarak edinilen adaptif bağışıklık olmak üzere iki türdür. Doğal olarak edinilen adaptif bağışıklık: Doğal yollarla edinilen aktif adaptif bağışıklıkta, antijenler vücuda doğal yollarla girdikten sonra vücut antikorlar ve özelleşmiş lenfositler geliştirirken, doğal yollarla edinilen pasif adaptif bağışıklıkta antikorlar anneden fetüse/bebeğe plasenta/anne sütü yoluyla geçer. Doğal olarak edinilen aktif adaptif bağışıklık, doğal olarak edinilen pasif adaptif bağışıklıktan daha uzun ömürlüdür. Yapay olarak edinilmiş adaptif bağışıklık: Yapay olarak edinilen aktif adaptif bağışıklıkta, antijenler aşılar kullanılarak vücuda verilir ve ardından vücut buna karşı antikorlar ve özelleşmiş lenfositler üretirken, yapay olarak edinilen pasif adaptif bağışıklıkta, bağışıklık serumunda önceden oluşturulmuş antikorlar enjeksiyon yoluyla vücuda verilir. Yapay olarak kazanılan aktif adaptif bağışıklık, yapay olarak kazanılan pasif adaptif bağışıklıktan daha uzun ömürlüdür, ancak aktif bağışıklık geliştirmek için çok az zaman olduğunda, pasif tip enfeksiyonu herhangi bir aşamada önleyebildiği ve süreci hızlı olduğu için daha etkilidir (Paul ve El Bethel Hmar, 2020).

1.9.Mastitis Tanımı ve Patojenler

Mastitis, ağırlıklı olarak bakteriler olmak üzere mikrobiyal ajanlar, nadiren virüs ve mantarların katılımı veya kimyasal, termal veya mekanik yaralanmalarla tetiklenen meme dokusunda iltihaplı bir yanıt olarak karakterize edilir. Bu enflamatuvar süreç, meme dokusu ve sütte kan proteinleri ve beyaz kan hücrelerinde artış olarak kendini gösterir. Bu yanıtın birincil amacı, neden olan tahriş edici maddeyi ortadan kaldırmak, hasarlı dokunun onarımını kolaylaştırmak ve normal meme işlevini geri kazandırmaktır. Küçük ruminant süt hayvanlarında meme içi enfeksiyonlar öncelikle bakteriyel kökenlidir (Bergonier ve ark., 2003). Koyun ve keçilerdeki meme içi enfeksiyonlar, epizootiyoloji ve kontrol stratejileri açısından birçok ortak noktayı paylaşırsa da, bazı fizyopatolojik farklılıklar mevcuttur. Bu farklılıklar arasında kuru dönemin yokluğu veya kısalığı, somatik hücre sayısını (SHS) etkileyen çeşitli faktörler, lentiviral meme enfeksiyonları, keçilerde strese karşı artan duyarlılık ve diğer ilgili varyasyonlar yer almaktadır. Hayvancılık uygulamalarındaki farklılıklar da bu sürece eki eder, örneğin daha düşük yavru senkronizasyonu, keçilerde kısaltılmış veya hiç olmayan süt emme dönemleri ve sıfır

otlatmadan geleneksel ekstansif yönetime kadar değişen besleme sistemleri gibi faktörler bu farklılıklara katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle, kontrol stratejileri temelde benzer prensiplere dayansa da, bir miktar değişkenlik sergilemektedir (Bergonier ve ark., 2003). Genel anlamda mastitis    gruba ayrılabilir: 1- Klinik Mastitis, 2- Subklinik Mastitis ve 3- Kronik Mastitisdir. Koyunlarda görülen mastitisin inflamasyon (vücudun herhangi bir zarara karşı verdiği koruyucu yanıt)  zellikleri tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Koyunlarda mastitisin farklı formları ve enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak belirtiler (Kahinda, 2021).

Mastitise Karşı İnflamatuvar Değişiklikler		
Sütte	Klinik Belirtiler	Meme’de
Görünür anormallik yok; yüksek bakteri sayısı; süt üretiminde azalma; SCC > 500 x10 ³ hücre/mL; süt bileşiminde değişiklikler	Subklinik	Görünür iltihap belirtisi yok;
Sütte gözle görülür değişiklikler, örneğin kanlı veya sarı olabilir, kalın, "pütürlü" veya çok sulu olabilir	Klinik	Memede gözle görülür anormallikler; meme sert, şişkin vb. olabilir, anormalliğin ağırlığı hastalığın şiddetine göre değişir.
Pıhtı, pul veya renksiz salgı içerebilir	Subakut (hafif derecede klinik)	şişmiş, kırmızı memeler, dokunulduğunda sıcak ve ağrılı; sert hassas meme;
Azalmış süt salgısı, pıhtı, pul veya renksiz salgı içerir; sulu görünür	Akut (ani başlayan iltihaplanma, ölümcül olabilir)	şişmiş; sıcak; dokunulduğunda kırmızı ve ağrılı
Anormal süt görüntüsü; kanlı sıvı	Perakut (şiddetli iltihaplanma, ölümcül veya etkilenen memenin kaybı)	Gözle görülür anormallikler; şişmiş; soğuk; mavi/siyah; dökülebilir; kangrenli
Süt �retilimi olmayabilir; verim ve bileşim azalmıştır; irinli materyal (irin) içerir;	Kronik	Sert veya pütürlü; apseler; yara izleri olabilir; fibrotik olabilir; şişmiş meme başı; sert bir irin çekirdeği içerebilir; asimetrik görünüm; büyümüş veya k���l�m�ş;

Küçük ruminantlarda hem klinik hem de subklinik mastitise çeşitli organizmaların neden olduğu bilinmektedir. Sporadik klinik (subklinik) mastitis 'de ağırlıklı olarak *Staphylococcus aureus*, koagülaz-negatif Staphylococci, *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium*, *Pasteurella* spp., gibi mikroorganizmalardan kaynaklanırken, klinik mastitis 'de en yaygın olarak *S. aureus*, *Streptococcus* spp. (*S. uberis*, *S. agalactiae* ve *S. suis*) ve *Aspergillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Serratia* gibi fırsatçı patojenlerle bağlantılıdır (Croft ve ark. 2000; Pugh ve Baird 2011). Çok sayıda çalışma, koagülaz negatif Stafilocoklar hem koyunlarda (%78) hem de dişi geyiklerde (%71) subklinik mastitisin baskın nedeni olarak tanımlamıştır. Koagülaz negatif Stafilocoklar arasında *S. epidermidis* ve *S. caprae* sıklıkla izole edilirken, diğer türler de tanımlanmıştır (Croft ve ark. 2000). Koagülaz negatif stafilocokların yayılması sıklıkla döngüseldir, somatik hücre sayısı (SHS) yükselmesiyle ters orantılıdır ve tek kültür değerlendirmelerinde fark edilmeyebilir. Kültürlenmiş koagülaz negatif stafilocok suşlarının %60 ila %80'i hemolitiktir; hemolitik suşlar, özellikle *S. epidermidis*, SHS'sı önemli artışlara neden olma eğilimindeyken, diğer koagülaz-negatif stafilocok türleri yüksek SHS ile belirgin bir ilişki göstermeyebilir (Croft ve ark. 2000). *S. aureus*, koyunlarda (%4) ve dişi geyiklerde (%8) subklinik mastitiste en sık izole edilen ikinci etkindir; *Streptococcus* spp. ve *Corynebacterium* ise daha az yaygın olarak tespit edilmiştir (Croft ve ark. 2000). Süt sığırlarından farklı olarak gram-negatif bakteriler koyunlarda (%3) ve dişi geyiklerde (%8) mastitisin nadir nedenleridir (Croft ve ark. 2000). Bazen mastitisle karıştırılsa da, *Listeria* ve *Salmonella* spp. zoolojik potansiyelleri nedeniyle dikkat çekicidir; *Listeria* klinik olarak normal memelerden görülebilir (Contreras ve ark. 2007).

Nadir de olsa mantarların neden olduğu mastitis görülebilir ve genellikle uzun süreli antibiyotik kullanımının bir sonucudur. *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus neoformans*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Nocardia* spp., *Rhodotorula glutinis* ve *Geotrichum candidum* dahil olmak üzere çeşitli organizmalar neden olmaktadır. Mantar mastitisinin klinik belirtileri arasında irinli meme salgıları, etkilenen bezde sertleşme, ateş ve kilo kaybı yer alır (Jensen ve ark. 1996). Gıda üreten türlerde kullanım için onaylanmış ilaçların bulunmaması nedeniyle genellikle tedavi önerilmemektedir (Pugh ve Baird, 2011).

Sırasıyla caprine arthritis encephalitis ve ovine progressive pneumonia etkenleri olan keçi ve koyun retrovirüslerin her ikisi de subklinik mastitise neden olabilir. Mastitis,

bu enfeksiyonların her birinde gözlenen birincil klinik bulgu olmasa da, bu virüslerin neden olduğu mastitis, dişi koyunun verimliliğini önemli ölçüde etkileyebilir. Retroviral mastit genellikle “sert meme” veya “sert torba” olarak adlandırılır. Çoğunlukla doğum sırasında fark edilen bir interstisyel mastittir. İnterstisyel mastitisin birincil klinik belirtisi, gevşek üst deriye sahip sert bir memedir. Deride ödem, ısı veya eritem görülmez. Emzirmenin başlangıcında, etkilenen hayvan çok az süt üretebilir veya hiç süt üretemez, ancak doğumdan sonraki ilk birkaç hafta içinde süt üretimi giderek artabilir. Üretilen sütün görünümü normal olacaktır ancak hücre sayısı önemli ölçüde artacaktır. Etkilenen hayvanlarda sistemik hastalık kanıtı yoktur. Meme üstü lenf düğümleri de büyüyebilir. Normal sağım yapan dişi koyunların memesinde de sertlik görülebilir. Buna ek olarak, etkilenen hayvanlar arterit veya solunum problemleri belirtileri gösterebilir. Ne yazık ki caprine arthritis encephalitis ve ovine progressive pneumonia için herhangi bir tedavi mevcut değildir. Bu nedenle etkilenen hayvanların itlaf edilmesi önerilir. Caprine arthritis encephalitis ve ovine progressive pneumonia'nin kontrolü, sürü veya sürülerdeki viral enfeksiyonu ortadan kaldırmayı amaçlamaktadır (Plummer ve Plummer 2011).

1.10. Mastitis direncini etkileyen genetik faktörler

Koyunlarda mastitisin en yaygın şekli subklinik mastitis olup, prevalansının %5-30 ve bazen %50'ye kadar çıktığı bildirilmiştir. (Contreras ve ark., 2007; Akter ve ark., 2020). Subklinik mastitisin tanımlanması, esas olarak klinik belirtilerin olmaması nedeniyle zordur. Subklinik mastitis sadece süt bakteriyolojik testi veya somatik hücre sayımı (SHS) (yani, enflamatuar hücreler ve bazı epitel hücreleri) ile tespit edilebilir (Bergonier ve ark., 2003; Berthelot ve ark., 2006). Koyunlarda SHS'nin $>500 \times 10^3$ hücre/mL süt veya pozitif Kaliforniya Mastitis Testi olması subklinik mastitis olarak kabul edilir. Çoğu durumda, subklinik mastitisli koyunlar sağlıklı görünür, ancak süt üretiminde azalma ve iltihaplanma nedeniyle sütün bileşiminde değişiklikler ortaya çıkar (Kiossis ve ark., 2007; Kiossis ve ark., 2007; Giadinis ve ark., 2012). Subklinik mastitis, enfekte koyunların kuzularını etkileyerek büyüme hızlarının düşük olmasına, süttten kesim ağırlıklarının azalmasına ve zaman zaman ölümlerine neden olabilir (Fthenakis ve Jones 1990; Knuth ve ark., 2019). Bu nedenle, subklinik mastitis, kuzuların büyüme hızını ve süttten kesim ağırlığını etkilediği için gerek et üreten koyun sürülerinde gerekse süt üreten koyunu sürülerinde süt

üretimi ve kalitesi üzerindeki etkisi nedeniyle önemli finansal etkilere sahiptir (Fthenakis ve Jones 1990; Giadinis ve ark., 2012; Knuth ve ark., 2019).

Bir diğer önemli konu da enfekte süttten yapılan peynirlerin, özellikle de bazı geleneksel peynir türlerinin süt pastörizasyonu yapılmadan tüketilmesi açısından halk sağlığı açısındandır (Libera ve ark., 2021). Küresel olarak koyunların yalnızca %25'i süt üretimine yöneliktir (Pulina ve ark., 2018). Birçok ülkede koyunların çoğu et üretimi için besleniyor ve bu nedenle çoğu çalışma süt üreten koyunlarda meydana gelen mastitis semptomlarına odaklanmamaktadır. Bu sürülerde sadece şiddetli klinik mastitisin görülmesi ve teşhisi üzerinde durulmaktadır. Bunun bir sonucu olarak, süt üreten koyunlarda klinik mastitisin ortaya çıkışının yaygın olmasına ve subklinik mastitisin göz ardı edilmesine yol açmıştır (Ruegg, 2011). Klinik mastitis tipik olarak emziren koyunların <%5'inde görülür, ancak subklinik mastitis hayvanların %15-30'unda meydana gelebilir (Ruegg, 2011). Etiyolojik ajanlar arasında en yaygın olanları koagülaz negatif stafilokoklar olup (*Corynebacterium* sp., *Streptococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mannheimia haemolytica*, *Corynebacterium* spp.) ve nispeten daha düşük oranlarda mantarlar da koyunlarda mastitise neden olabildiği gözlemlenmiştir (Olechnowicz, ve Jaśkowski, 2014). Mastitis, dünya genelinde süt koyunlarında erken itlafın en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde meme sağlığı sorunlarında etkilenen ve her yıl itlaf edilenler koyunların yaklaşık %14'ünü oluşturmaktadır (Pulina ve ark., 2018). Farklı cins ve çeşitli bölgelerdeki yayılım gösteren koyunlarda mastitisin yaygınlığı konusunda henüz tam anlamıyla bir bilgiye sahip değiliz (Pulina ve ark., 2018). Klinik mastitisten kaynaklanan koyunların %70 ve hatta %90'a ulaşabileceği rapor edilmiştir (Marogna ve ark., 2010; Olechnowicz, ve Jaśkowski, 2014). Bu nedenle doğru teşhis, mastitisin ve ekonomik sonuçlarının önlenmesinde kritik bir öneme sahiptir. Süt koyunlarında mastitis kontrolü için laktasyonun son aşaması ve bu dönemdeki meme sağlığı yönetimi kritik önem taşır. Bu aşamada, meme bezi enfeksiyonlara karşı daha hassastır. Mastitis kontrolünü sağlamak için iki önemli adım vardır: 1. Mevcut subklinik enfeksiyonların ortadan kaldırılması: Akut veya kronik mastitisten etkilenen koyunlar sürüden ayrılarak kurutulmalı ve tamamen iyileşene kadar izole edilmelidir. Bu süreçte meme içi antibiyotik uygulaması yapılmalıdır. 2. Subklinik mastitisli (SM) koyunların teşhisi ve ayrılması: SM'li koyunları tespit etmek için laboratuvar testleri gereklidir. Bu testler sayesinde mastitis taşıyıcısı olan koyunlar sürüden ayrılabilir ve hastalığın yayılması önlenir. Daha basit bir ifadeyle:

Laktasyonun son aşamasında meme hijyenine ve meme sağlığına özen gösterilmelidir. Mastitisli koyunlar sürüden ayrılarak tedavi edilmeli veya itlaf edilmelidir. Akut veya kronik mastitisten etkilenen koyunların sürüden itlaf edilene veya tamamen iyileşene kadar kurutulması ve uzaklaştırılması sırasında meme içi antibiyotik uygulamasına dayanır (Bergonier ve Berthelot, 2003). SM'li koyunlar laboratuvar testleri ile belirlenerek sürüden uzaklaştırılmalıdır. Bu adımların uygulanması, sürüde mastitis prevalansını ve süt kaybını önemli ölçüde azaltabilir. Bununla birlikte mastitisli koyunları tanımlamak için laboratuvar teşhisleri çok önemlidir.

Labaratuvar teşhisleri, üretim verimliliğinin arttırılmasında ve mastitis dahil hastalıkların kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır (Zafalon, ve ark 2016). Mastitis vakaları klinik ve subklinik olarak sınıflandırılabilir. Klinik form, sütteki anormallikler (yani kan, irin, renk değişikliği veya topaklar varlığı), elle hissedilebilen olası meme bezi dokusu değişikliği veya sistemik semptomlar (örneğin ateş, iştah kaybı) ile karakterize edilir (Fthenakis, ve ark., 2019). Öte yandan, subklinik form, inflamatuvar hücrelerin memeye mobilizasyonunu içerir, Somatik hücre sayısını (SHS) arttırır, ancak bez dokusunun veya süt görünümünde değişiklik olmaz, bu nedenle saha koşullarında tanımlanması zordur (Clements, ve ark., 2003). California Mastitis Testi (CMT) gibi farklı olarak CMT, toplu süt somatik hücre sayımlarındaki artışları tespit etmek için nadiren kullanılır. Süt koyunlarında bazı uygulamaları vardır. CMT'nin orijinal olarak inekler için gelişmiş olması ve sübjektif doğası nedeniyle bazı sınırlamaları vardır ve bu da sonuçların yorumlanmasında yanlışlıklara yol açabilir (Zafalon, ve ark., 2016, Clement, ve ark., 2003). Benzer şekilde, koyun sütündeki SHS'nin eşik değeri konusunda literatürde ortak bir fikir birliği yoktur (Zafalon, ve ark., 2016, Albenzio ve ark., 2019). Ayrıca sütteki SHS, ineklerde Subklinik Mastitis'nin standart bir göstergesi olarak kabul edilse bile, yaş, cins gibi meme içi enfeksiyonlar dışındaki birçok faktöre bağlı değişkenlik nedeniyle (yönetim sistemi, hayvanın fizyolojik evresi (laktasyon evresi, kuru dönem), mevsim, doğan kuzu sayısı ve diğer faktörler) koyunlarda meme bezinin inflamatuvar durumunun spesifik bir işareti olmayabilir (Miglio, ve ark., 2013). Bireysel SHS, koyunlarda subklinik mastitisin tespit ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bununla birlikte bir çok araştırmacı koyun sütündeki somatik hücre sayısı eşik değeri belirlemeye çalışmıştır; ancak veriler hala tam tutarlı değildir (Albenzio ve ark., 2019). SHS >300.000 hücre/mL olmasının meme bezinin

süt üretiminde azalmaya yol açtığını öne sürmüştür. Farklı araştırmacılar somatik hücre sayısının 250.000 hücre/mL'yi geçmediğinde memenin sağlıklı kabul edildiğini bildirmiştir (Gonzalo, ve ark., 2002, Rosati ve ark., 2005, El-Khabaz ve ark., 2015, Swiderek ve ark., 2016). Koyun sütündeki somatik hücrelerin 200.000 hücre/mL'ye kadar dalgalanmalarının normal olduğunu ve yalnızca bu değerin üzerinin subklinik mastitis için olası eşik olarak kabul edildiğini belirtmişlerdir. Buna karşılık Miglio ve arkadaşları (2013), bakteriyolojik test pozitif olduğunda veya süt örneklerinde SHS >500.000 hücre/mL (spesifik olmayan subklinik mastitis) olduğunda belirsiz subklinik mastitisin meydana geldiğini ileri sürmüştür (Spanu ve ark., 2011). Aylık 3 veya daha fazla olan SHS'sının ≥ 400.000 hücre/mL olan koyunlarda, bu eşiğin altında SHS'sı olan koyunlarla karşılaştırıldığında sütlerinde mastitis patojenlerinin tespit edilmesinin 5.6-7.5 kat daha muhtemel olduğunu sunmuştur (Kern ve ark., 2013). Etçi koyun ırklarında mastitis problemlerinin tespiti için en uygun sınır olarak 400.000 hücre/mL olduğu ileri sürülmüştür. Öte yandan, süt koyunlarında 200.00 ila 400.000 hücre/mL arasındaki SHS'nın subklinik mastitise işaret ettiğini bildirilmiştir (Olechnowicz, ve ark., 2014).

Bir diğer ilgili tanı aracı ise enfeksiyona neden olan patojeni izole etmeyi amaçlayan mikrobiyolojik kültürdür. Süt numunesi bir kültür ortamında inkübe edilmeli ve koloni büyümesi açısından kontrol edilmelidir. Bakterilerin doğru bir şekilde tanımlanması da gereklidir ve bu da zaman alıcıdır. Bu yöntemin dezavantajları vardır; özellikle test için gereken sürenin uzunluğu ve mastitisli süt kültürlerinde sıklıkla 'üreme yok' vakalarının görülme sıklığıdır. Süt koyunlarında mastitisin diğer teşhis araçları ve belirteçler arasında, enfekte koyunların meme dokusundan numunelerin toplanması ve ardından histolojik ve immünohistokimyasal analizlerin gerçekleşmesine yer almaktadır, ancak aynı zamanda pratik değildir ve çoğunlukla araştırma çalışmalarında uygulanmıştır (Al-Graibawi, ve ark., 2021).

Ancak tüm bu testlerin, mastitisin daha duyarlı ve güvenilir belirleyicilerinin tanıtılmasını ve geliştirilmesini gerektiren eksiklikleri vardır. Süt numunelerinde SHS'da bir artış ve mastitis patojenleri için pozitif bakteriyoloji, subklinik mastitisin göstergesidir, ancak bu değişikliklerden yalnızca birinin kanıtı, belirsiz bir subklinik mastitis olgusunu akla getirmelidir (Miglio ve ark., 2013). Ne yazık ki, subklinik mastitis'li hayvanlar sıklıkla tedavi edilememektedir çünkü hastalık ortaya çıkmayabilir ve bu durum hayvan sağlığı, çiftlik geliri ve halk sağlığı açısından

gerçek bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, küçük süt üreten türler (süt koyunu, keçi ve bufalo gibi) için mastitis kontrol stratejilerinin tanımlanmasına yatırım yapılması gerektiğini vurgulanmaktadır (Ruegg, ve ark., 2017).

Literatürde koyunlarda mastitis kontrolü ve tanısı üzerinde genetiğin önemli bir etkiye sahip olduğunu doğrulayan birçok araştırma bulunmaktadır (Oget, ve ark.,2019). Farklı genlerin alelik polimorfizminin SHS üzerindeki etkisi gösterilmiştir. Örneğin, Ovar-MHC genlerinin allelleri (OLADRB1, OLADRB2, OMHC1) bağlı olarak SHS düzeyi ile sütteki CD4, CD8 ve CD19 lenfositlerin yüzdesi arasında önemli farklılıklar saptanmıştır (Swiderek, ve ark., 2020). Ayrıca Belice koyunlarında bağışıklık sistemi, meme yapısı ve SHS ile ilişkili birkaç aday gen tanımlanmıştır. Beş farklı kromozomda yer alan SHS için sekiz önemli SNP (tek nükleotid polimorfizmi) tespit edilmiş ve bunlar arasında yalnızca bir belirteç genom çapında anlamlılık eşiğine ulaştığı bulunmuştur. SHS ile ilişkili en önemli SNP, SERP1 (stresle ilişkili endoplazmik retikulum proteini 1) bölgesinde bulunmaktadır. Ayrıca, bu sonuçlara göre GG, CC ve AA genotiplerine sahip bireylerin, sütteki somatik hücre içeriğini azaltmak için seçilebileceğini göstermişlerdir (Sutera, ve ark., 2021). Öte yandan, mastitis direncinde hayvan genetik değişkenliğinin, Sakız koyununda spesifik mastitis direnci için kantitatif özellikler lokusları (QTL) bölgelerinde bulunan markerlara dayalı olarak spesifik 960 teki nükleotid polimorfizmi DNA dizisi ile 609 koyunun genotipini belirlenmiştir (Banos, ve ark., 2017; Vasileiou ve ark., 2018). Son araştırmalarda mastitis sırasında meme bezi tarafından süte salınan moleküllerin araması gerektiği yönünde yeni yaklaşımlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu gösterge, enzimatik analizler veya diğer immünolojik test prosedürleriyle tespiti pratik olan bir molekül, enzim veya protein olacağı vurgulanmaktadır (Viguier ve ark., 2009). Son araştırmalar, akut faz proteinlerinin ve mikroRNA'ların ölçümünün erken teşhisin iyileştirilmesi için gerekli araçlar olabileceğini göstermektedir (Wierzoslawski ve ark., 2018; Katsafadou ve ark. 2019; Srikok ve ark., 2020).

1.11. Mastitisle ilgili özellikler için genetik parametreler

Geçtiğimiz süre zarfında, süt koyunlarında mastitis ile ilişkili genetik parametreleri ele alan yayınlanmış literatürler incelendiğinde elde edilen veriler her geçen gün artmaktadır (Rupp ve Foucras, 2010; Riggio ve Portolano, 2015). Bu alandaki genetik

Çalışmalarda ağırlıklı olarak 'Somatik Hücre Skoru' (SHS) olarak adlandırılan somatik hücre sayısının logaritmik dönüşümü kullanılmıştır (Ali ve Shook, 1980). Koyunlarda mastitis ile ilgili en yaygın olarak araştırılan genetik zellik, Sakız (Yunanistan), Churra (İşpanya), Doğu Friesian (Almanya), Lacaune (Fransa), Latxa (İşpanya), Manchega (İşpanya), Manech Red Face (Fransa), Sarda (İtalya) ve Valle del Belice (İtalya) gibi çeşitli süt koyunu ırklarında laktasyon dönemi ortalamalarını veya tekrarlanan test günlerinden elde edilen kayıtları kapsayan somatik hücre skorlarının kalıtım derecesidir. Bu ırklarda somatik hücre skorları için kalıtım derecesi tahminlerinin düşük olduğu, 0,04 ile 0,28 arasında değiştiği ve ağırlıklı ortalamanın 0,163 olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, 0,30 ila 0,60 arasında değişen kalıtım dereceleri sergileyen üretim özelliklerine kıyasla daha az olsa da, bu özellik için genetik varyasyonun varlığına işaret etmektedir (Oget ve ark., 2019). Somatik hücre skoruna dayalı mastitisle ilgili daha az araştırılan bir başka dolaylı özellik olan Kaliforniya Mastitis Testi skoru, süte deterjan ve pH indikatörü içeren bir reaktifin eklenmesini içerir. Reaktif, sütle reaksiyona girdikten sonra viskoz bir jel oluşturarak sütün rengi ve viskozitesine göre puanlama yapılmasına olanak tanır ve somatik hücre sayısı ile inflamasyon seviyesini gösterir. Süt koyunlarında yapılan bir çalışmada bu özellik için bir kalıtım derecesi tahmin edilmiş ve somatik hücre skorları için gözlemlenen aralıkla tutarlı olan 0,12 değeri elde edilmiştir (Banos ve ark., 2017). Bununla birlikte, hem somatik hücre skorları hem de Kaliforniya Mastitis Testi sonuçları mastitisin dolaylı göstergeleridir ve enfeksiyon durumundan ziyade meme bezindeki iltihaplanmanın boyutunu yansıtır. Bu zellikler, enfeksiyon şiddeti ve konakçının tepki yoğunluğu ölçümlerini bir araya getirir (Oget ve ark., 2019). Mastitisin doğrudan ölçümleri, özellikle veteriner hekim muayenelerine dayalı klinik mastitis oluşumu, hastalığın seyrekliği ve büyük ölçekli uygulamalardaki lojistik zorluklar nedeniyle süt koyunlarında yeterince araştırılmamıştır (Bergonier ve ark., 2003). Klinik mastitisin varlığını veya yokluğunu gösteren bu ikili özellik için kalıtım derecesi tahmini, Sakız ırkında somatik hücre skorları için gözlemlenen aralıkla uyumlu olarak 0,18 olarak bildirilmiştir (Banos ve ark., 2017).

Etil koyun ırklarında yapılan son araştırmalarda, hem finansal hususlar hem de hayvan refahı üzerindeki önemli etkileri nedeniyle, mastitis ile ilgili özelliklerle ilişkili genetik parametrelerin değerlendirilmesine büyük önem verilmiştir (Conington ve ark., 2008). Özellikle, Belclare, Charollais, Suffolk, Texel ve Vendeen dahil olmak üzere çeşitli ırklar üzerinde yapılan alışmalar, İrlanda popülasyonunda klinik mastitis oluşumu için 0.04'lk bir kalıtım derecesine sahip olduğu tahmin edilmiştir (O'Brien ve ark., 2017).

Texel ırkında, somatik hücre skorları ve Kaliforniya Mastitis Testi sonuçları için kalıtım derecesi tahminleri 0,07 ila 0,11 arasında değişmektedir (McLaren ve ark., 2018). Bu kalıtım dereceleri, kısmen kayıt düzenine (hayvan başına tek bir muayene ile sınırlı) atfedilen süt koyunlarında gözlemlenenlerden nispeten daha düşük görünse de, et üreten koyun ırklarında mastitis için genetik kontrolün varlığını doğrulamaktadır (Oget ve ark., 2019).

Son yıllarda, genetik araştırmalar, sütçül koyunlarda meme içi bakteri baskısını ölçmek için süt örneklerinin bakteriyolojik analizlerine giderek daha fazla odaklanılmıştır. Yaygın teknik olarak, agar plakaları üzerinde inkübasyondan sonra süt örneklerindeki bakteri kolonilerinin sayılması ortaya çıkmıştır. Valle del Belice ırkında, "enfeksiyon durumu" ikili özelliği için kalıtım derecesi tahminleri, bakteri türüne bağlı olarak 0,02 ila 0,09 arasında değişmektedir (Riggio ve ark., 2010; Tolone ve ark., 2016). Banos ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir başka çalışmada, bakteriyolojik incelemeye dayalı bir özellik olan toplam bakteri sayısının kalıtımsallığı, enfeksiyon özelliği ile karşılaştırılabilir ancak süt somatik hücrelerine dayalı özelliklerle ilişkili kalıtımsallıklardan daha düşük olacak şekilde yaklaşık 0,09 olarak tahmin edilmiştir. Fransız Lacaune ırkında süt örneklerinde stafilokok DNA amplifikasyonu için kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) kullanan yeni bir teknik kullanılmış, somatik hücre skorlarıyla benzer bir aralığa yerleştirerek 0.18'lik bir kalıtım derecesi tahmini olarak vermiştir (Allain ve ark., 2018; Oget ve ark., 2019).

Mastitisle ilgili çeşitli özellikler arasındaki genetik korelasyonlar da araştırılmıştır. Sakız Adası'ndaki hayvanlarda klinik mastitis oluşumu ile somatik hücre skorları, Kaliforniya Mastitis Testi sonuçları ve toplam bakteri sayısı (0,35 - 0,36) arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur, bu da hastalık gelişimi ve mastitisi dolaylı olarak yansıtan özellikler için ortak bir genetik temele işaret etmektedir (Banos ve ark., 2017). Lökosit ile ilgili iki özellik, Kaliforniya Mastitis Testi sonuçları ve somatik hücre skorları arasında yüksek genetik korelasyonlar (0,76 ila 0,98) gözlenmiştir ve bu da Kaliforniya Mastitis Testinin hücre sayımına alternatif olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Banos ve ark., 2017; McLaren ve ark., 2018). Ayrıca, enfeksiyöz durum (geleneksel teknik) ile somatik hücre skorları (0,51 ila 0,93), toplam bakteri sayısı ile somatik hücre skorları (0,56) ve stafilokok DNA'sı ile somatik hücre skorları (0,72) arasında güçlü korelasyonlar kaydedilmiştir. Bu bulgular, süt bakteriyolojik özellikleri ile mastitisle ilgili yaygın olarak kullanılan 'somatik hücre skoru' özelliği arasında genetik bir yakınlık olduğunu ve değişen

çevresel koşullara, patojenlere ve hayvan durumuna rağmen kalıcı meme içi enfeksiyona veya akut klinik ataklara karşı ortak direnç mekanizmaları olduğunu göstermektedir (Oget ve ark., 2019).

1.12. Mastitis direnci ile ilişkili aday ve potansiyel genler

Genel olarak süt üretimi ile mastitis insidansı (somatik hücre skorları) arasında 0,24 ila 0,55 (ortalama 0,43) arasında değiştiği tahmin edilen pozitif bir genetik korelasyon olduğu bilinmektedir (Zemanova ve ark., 2022). Literatürde, süt üretimi ile klinik mastitis arasındaki genetik korelasyon hafif negatif ile 0,66 arasında değişmekte olup, yedi çalışmanın ortalaması 0,30'dur (Vallimont ve ark., 2009; Chegini ve ark., 2018). İslah programında mastitisin etkisi göz ardı edilirse, süt üretimine yapılan genetik etki mastitis direncini olumsuz etkileyecektir. Çalışmalar, mastitis ile süt verimi arasında 0,30'luk bir genetik korelasyon olduğu varsayıldığında, ıslah planında mastitisin etkilerinin göz ardı edilmesinin, mastitis vakalarında inek başına yılda 0,02'lik bir genetik artışa yol açtığını göstermiştir. Bu nedenle, sadece süt üretimine dayalı seçimden kaynaklanan istenmeyen korelasyonları bastırmak için ıslah programlarına direncin dahil edilmesi gerekmektedir (Zemanova ve ark., 2022). Mastitis direncini artırma seçimi, üretim maliyetlerini azaltmaya ve genel ekonomik karı en üst düzeye çıkarmaya katkıda bulunur (Heringstad ve ark., 2000). Klinik mastitis için önemli ölçüde genetik varyasyon vardır. Meme hastalıklarına ilişkin sağlık kayıtları, sütçül ırkların sağlığını genetik olarak değerlendirmek için kullanılabilir (Vallimont ve ark., 2009). Mastitis, laktasyondaki sütçül ırklarında antibiyotik kullanımının en yaygın nedenidir. Mastitis direncinde genetik iyileştirme veya mastitise karşı aşılama, antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç riskini azaltmanın yanı sıra tedavi ihtiyacını (ve sonuç olarak antibiyotik kullanımını) azaltabilir. Yüksek antibiyotik tüketimi küresel bir sorundur ve her geçen gün büyüyen bir problem olmaya devam etmektedir (Cheng ve Han, 2020).

Doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinde rol oynayan genlerin ve varyantların haritalanması, bu enflamatuvar hastalığı anlamak ve mastitis direncinin potansiyel genetik belirteçlerini tanımlamak için gereklidir. Bunun bir sonucu olarak elde edilecek yeni nesil sütçül ırklar, enfeksiyona karşı daha fazla direnci teşvik eden ve antibiyotik kullanımını azaltan uygun alelleri taşıyan bireyler olacaktır (Mahmood ve ark., 2017). Mastitis direnci, çok sayıda aday genin etkisi altında ve çeşitli kalıtsal mekanizmaları içeren karmaşık bir

sistemdir (Karthikeyan ve ark., 2016). Düşük kalıtım derecesi, yüksek çevresel etki ve çiftlik yönetimindeki farklılıklar, genetik varyantlar ile mastitis direnci arasındaki bağlantının belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Pighetti ve Elliott, 2011). Bu nedenler, araştırmacıları bireysel çalışmalarda sütçü ırklarda mastitis direnciyle ilgili genleri ve genetik değişkenliği belirlemeye yöneltmiştir (Sahana ve ark., 2014). Araştırmacılar, patojen tanıma, lökosit toplanması, göç, eliminasyon ve patojen farklılaşması gibi faaliyetler aracılığıyla mastitisle ilişkili genleri tanımlamaya odaklanmışlardır. Mastitis direnci için hastalığın poligenik yapısından dolayı özellikleri belirleyen aday genlerin belirlenmesi zordur. Karmaşık özellikler, sınırlı sayıdaki ana genlerle karşılaştırıldığında, çoğunlukla küçük genler (birçok düşük etkili gen) tarafından kontrol edilir (Karthikeyan ve diğerleri, 2016).

Çok sayıda çalışma, ekonomik açıdan önemli özelliklerle ilişkili olarak aday genlerin önemini kanıtlamıştır. Örnekler arasında, Fransız süt sığırları ırklarında süt üretimi ve kompozisyon özelliklerine neden olduğu tespit edilen GHR, PAEP, CSN2, DGAT1, GPAT4 ve FASN gibi iyi karakterize edilmiş fonksiyonel aday genler yer almaktadır (Tribout ve ark., 2020). Son zamanlarda yapılan çalışmalar APP, FOXL2, SSFA2, OTUD3, ADORA2A, TXNRD2 ve NDUFS6 ile GC ve NPFFR2 gibi çeşitli aday genlerin süt sığırlarında klinik mastitis ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Sahana ve ark., 2014; Szyda ve ark., 2019). Ayrıca, aday genler MHC, IL, TLR, LTF, CARD15, FEZL, CD14, C4A ve MBL1 mastitise karşı dirençle ilişkilendirilmiştir (Ogorevc ve ark., 2009). Bu açıdan sığırlarda elde edilen bu bilgilerin koyunlarda da önemli bir hastalık etkeni olan mastitisle ilişkilerinin incelenmesi önemlidir. Ayrıca mastitis direncini ve süt üretimini artırmak için ıslah programlarında kullanılmak üzere genetik varyantların belirlenmesi, gelecekteki ilerlemeler için büyük önem taşımaktadır.

Mastitis direnci için, Büyük Doku Uygunluk Kompleksi (Major Histocompatibility Complex-MHC) genleri, enfeksiyonlara karşı hem antikor hem de hücre aracılı bağışıklık tepkilerini düzenlemedeki önemli rolleri nedeniyle makul adaylardır. Bununla birlikte, çeşitli sınıf I alelleri (haplotipler) ya duyarlılık ya da direnç kazandırıyor gibi görülmüş, sınıf I ilişkilendirme çalışmaları tutarsız sonuçlar vermiştir (Dettloux, 2009). Bu tutarsızlık, direncin bir sınıf I geninden ziyade bağlantılı bir sınıf II geni tarafından yönetilmesi olasılığı ile açıklanabilir. Sınıf II genler arasında DRB3, yüksek polimorfizmi nedeniyle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Rupp ve Boichard (2003) tarafından yapılan bir derlemede, üç çalışma DRB3.2*24 alelinin mastitis ve majör patojenlerin neden olduğu

memede içi enfeksiyonlara duyarlılık, klinik mastitis ve yüksek somatik hücre sayısı (SHS) ile önemli bir ilişkisi olduğunu göstermiştir. DRB3.223, DRB3.28 ve DRB3.216 alelleri ya daha yüksek ya da daha düşük SHS ve/veya klinik mastitis ile ilişki gösterdiğinden durum karmaşıklaşmaktadır. Örneğin, Dietz ve arkadaşları (1997) DRB3.216 ile daha yüksek SHS arasında anlamlı bir ilişki bulurken, Sharif ve arkadaşları (1998) daha düşük SHS ile bir ilişki olduğunu göstermiştir. Starkenburg ve arkadaşları (1997) düvelerde DRB3.2*23 ile SHS (pozitif) ve klinik mastitis (negatif) arasında ilişkiler gözlemlemiştir, ancak bulunan sonuçlar anlamlı değildir. MHC alelleri ve mastitis göstergeleri üzerine yapılan çalışmalar arasındaki farklılığın birkaç açıklaması olabilir. İlk olarak, aleller çevresel koşullara bağlı olarak direnç veya duyarlılıkla ilişkili olabilir ve farklı patojenlere karşı etkinlikleri değişebilir. İkinci olarak, MHC polimorfizmleri ve mastitis özellikleri arasındaki ilişki nedensel olmayabilir, ancak mastitis direncini etkileyen diğer MHC lokuslarıyla bağlantılı olabilir ve bu da farklı genetik gemişlerde farklı ilişkilerle sonuçlanabilir (Detilleux, 2009). Bu nedenle, tek bir lokus yerine MHC haplotiplerinin etkilerinin analiz edilmesi, genotip-direnç ilişkisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. Örneğin, Park ve arkadaşları (2004) DRB3.224, DQA1A ve DQB*1 alellerini içeren DH24A haplotipinin, mastitis tedavisi geçmişi olmayan dirençli bir gruba kıyasla klinik mastitis tedavisi gören ineklerde daha sık grldğiğin tespit etmiştir. MHC-hastalık ilişkilerine yol açan altta yatan biyolojik mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Rupp ve arkadaşları (2007) BoLA DRB3.2 alelleri ile bağışıklık yanıtları arasındaki ilişkilerin tip 1 (hücresel) ve tip 2 (humoral) bağışıklık yanıtı özellikleri için zıt olma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Örneğin, DRB3.2*3 ve *24 alelleri daha yüksek antikor-aracılı ancak daha düşük hücre-aracılı yanıtlarla ilişkiliyken, *22 aleli için bunun tersi gözlenmiştir. Bu tutarsızlık, meme hücrelerini enfekte eden bakteri türlerinin nötrofiller ve dendritik hücreler arasındaki iletişimi etkilemesiyle ilgili olabilir; bu hücreler güçlü antijen sunan hücreler olarak T yardımcı hücre oluşumunu yönlendirir. Bovine Leukemia Virus (BLV) için önerildiği gibi, DRB3.2 lokusundaki dirençli ve duyarlı alellerin amino asitleri farklıysa, MHC molekülleri yardımcı T hücrelerine farklı şekilde bağlanarak Th1 veya Th2 yanıtlarını tetikleyebilirler (Detilleux, 2009).

Bağışıklık savunmasında kilit rol oynayan nötrofil gn etkileyen genetik varyasyonlar, hayvan ışlahında seleksiyon için umut verici hedefleri temsil etmektedir (Detilleux, 2009). Özellikle, Mac-1 glikoproteininden sorumlu CD18 alt birimini kodlayan gendeki bir nokta mutasyonu, Sığır Lökosit Yapışma Eksikliği (BLAD) sendromunun

gelişimiyle bağlantılıdır (Shuster ve ark., 1992). Ayrıca, bir kemokin reseptörü olan CXCR2 genindeki polimorfizmler, bozulmuş polimorfonükleer göçü ve yüksek subklinik mastitis insidansı ile ilişkilendirilmiştir (Rambeaud ve Pighetti, 2005). Buna karşılık, somatik hücre skoru için üreme değerleri üzerine yapılan araştırmalar, kemokin genleri (CCL2 ve IL8) ve kemokin reseptör genleri (IL8RA ve CCR2) ile sınırlı genetik ilişkiler ortaya koymuştur (Leyva-Baca ve ark., 2007). Jersey ineklerinde, interlökin-8 reseptör (IL-8R) genindeki polimorfizmler klinik mastitise yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir (Youngerman ve ark., 2004). Ayrıca, bakteriyel antitoksinler için önemli bir örüntü tanıma reseptörü olan Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) genindeki varyasyonların Kanada Holstein boğa popülasyonunda SHS için tahmini üreme değerleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Sharma ve ark., 2006). Son olarak, Holsteinlarda beta 4-defensin gen dizisindeki polimorfizmlerin somatik hücre sayısı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Bagnicka ve ark., 2007).

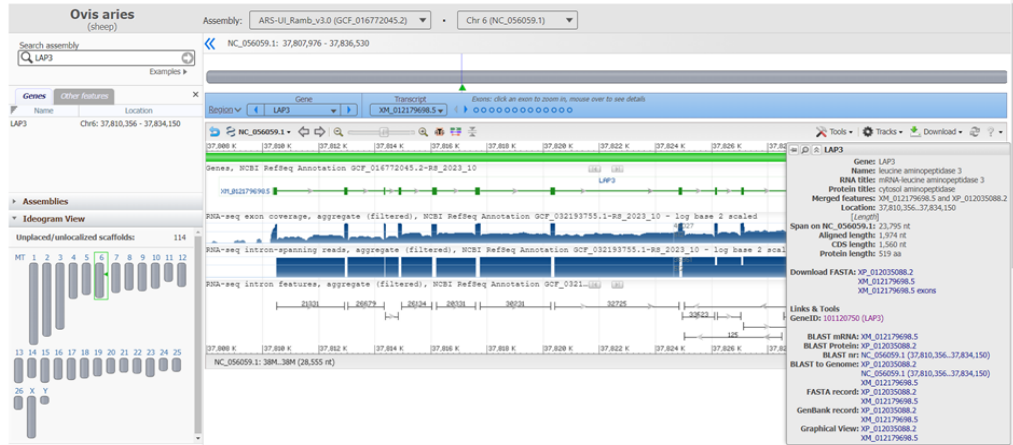
Mikroarray teknolojisinden yararlanmak, karmaşık hastalıklarla ilişkili aday genlerin tanımlanması için yaygın bir stratejidir. Bu yaklaşım, hastalığa yatkınlıkla ilişkili binlerce genin diferansiyel ifadesinin eşzamanlı olarak izlenmesini sağlayarak önemli bir avantaj sunmaktadır. Temel prensip, hastalığa dirençli ve duyarlı hayvanlar arasında bu kalıpların farklılık göstermesi beklentisiyle, hastalık zorluklarını takiben gen ekspresyon modellerindeki varyasyonların değerlendirilmesini içerir. Ayrıca, mikroarray analizi genler arasındaki düzenleyici ilişkilerin çözülmesine katkıda bulunarak hastalık patogenezi ile ilişkin anlayışımızı geliştirir (Bunney ve ark., 2003 ; Miller ve Tang, 2009; Kwok ve ark., 2021). Zheng ve arkadaşları (2006) bir fare modelinde meme içi lipopolisakkarit (LPS) infüzyonundan 4 saat sonra yaklaşık 23.000 transkriptin gen ifade modellerini analiz etmiştir. Toplam 489 gen önemli ölçüde etkilenmiş ve bunların 391'i indüklenmiştir; bunların çoğu doğuştan gelen bağışıklık tepkisi, apoptoz ve hücre çoğalması ile ilişkili genlerdir (kemokinler CXCL1, CXCL2 ve S100A8; akut faz proteini SAA3; ve LPS bağlayıcı protein CD14). Schwerin ve arkadaşları (2003) bir ineğin enfekte olmayan ve enfekte meme hücrelerinden alınan örneklerdeki meme bezi mRNA modellerini karşılaştırmıştır. Daha önce tanımlanan genlerle benzerlik gösteren 532 (toplam 704) farklı şekilde görüntülenen cDNA bandı arasında, çoğunluk protein kinaz kodlayan genlerle (STK9, JIK, CDK8, PRKDC ve VRK2) homoloji sergilemiştir, gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan genlere (AHCY, HNRPU, SSR1, NRD1, RORA), büyüme ve farklılaşma faktörü kodlayan genlere (OSTF1, RSC1A1, AHNK ve TP53) ve immün yanıt veya inflamasyon belirteci kodlayan genlere (COVA1, LY75, PLCE ve SAA3)

tanımlanmıştır. Meme epitel dokusunda gen ekspresyonu üzerine yapılan araştırmalar, konakçı-patojen etkileşiminin erken aşamalarına ışık tutmuştur. Larson ve arkadaşları (2006) Gram-negatif bakteriyel lipopolisakkarit (LPS) ve Gram-pozitif bakteriyel lipoteikoik aside (LTA) maruz kalmanın ardından sığır meme epitel hücrelerinde serum amiloid A3'ün (SAA3) yukarı regülasyonunu gözlemlemiştir. Swanson ve arkadaşları (2004) sığır meme epitel dokusunda mastitise yanıt olarak beta-defensin ekspresyonunun indüklendiğini kaydederken, Pareek ve arkadaşları (2005) LPS mücadelesinden sonra RANTES/CCL5, IL-6 ve T-PA genlerinin ekspresyonunun arttığını bildirmiştir. Mikroarray analizleri de nöronal gelişim ve doğuştan gelen bağışıklığın kesiştiği noktada bir genin tanımlanmasına yol açmıştır. Sugimoto ve arkadaşları (2006) yüksek somatik hücre sayısına sahip düvelerde ön beyin embriyonik çinko parmak benzeri geninde (FEZL) üç bazlı bir eklenti bulmuşlardır. Mastitisin FEZL ekspresyonunu artırdığını, bunun da akson çekici molekül semaforun 5A'yı (SEMA5A) teşvik ederek TNF- α ve IL-8 ekspresyonunun indüklenmesine yol açtığını öne sürmüşlerdir.

1.12.1. Lösin aminopeptidaz 3 (LAP3) geni ve immün yanıtta rolü

6. kromozomda yer alan sığır lösin amino peptidaz üç (LAP3) geni, 25 kilobazlık bir genomik uzantıya yayılan ve 519 amino asitlik olgun bir proteini kodlayan 13 ekzondan oluşur (Şekil 1.2). Memelilerde, LAP3 geni, biyoaktif peptitlerin (oksitosin, vazopressin, enkefalinler) işlenmesine katkıda bulunur ve MHC-I antijen sunumu için plazma zarında yer alır (Matsui ve ark., 2006) . Önceki çalışmalar, LAP3 aday geninin sığır kromozomu 6 üzerinde QTL bölgesinde yer aldığını ve süt üretim özellikleri üzerinde büyük etkisi olduğunu ortaya koymuştur (Ogorevc ve ark., 2009). Öte yandan, LAP3 gen varyantlarındaki polimorfizmlerin, süt sığırlarında süt üretim özellikleri ve somatik hücre skoru ve koyunlarda doğum ağırlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ju ve ark., 2012).

Genome Data Viewer



Şekil 1.2. LAP3 Geninin genomik konumu (NCBI).

Memeli LAP'larının MHC I antijen sunumunda rolü vardır (Kloetzel ve Ossendorp, 2004). İnterferon-g seviyeleri arttığında, seçilmiş aminopeptidazların (LAP dahil), TAP'ların (antijen sunumu ile ilişkili taşıyıcılar) ve MHC seviyeleri artar. Proteazom, üç b alt biriminin (b1, b2 ve b3) immünoşubunitlerle (sırasıyla LMPS2, LMP7 ve MECL-1) değiştirilmesiyle yeniden modellenerek 20S çekirdek immünoproteazomu oluşturur. Buna ek olarak, PA28 a ve b alt birimleri birikerek 20S immünoproteazoma bağlanan heptamerik bir kompleks oluşturur. PA28 düzenleyici kompleksi ile immünoproteazom proteazomal aktiviteyi artırır ve proteazom özgüllüğünü değiştirir. Serbest bırakılan peptitler, yapısal proteazom tarafından işlenen peptitlere kıyasla N-terminal uzantılarına sahiptir. Bu peptitler LAP veya diğer aminopeptidazlar tarafından işlenir, TAP'lar tarafından ER'ye taşınır ve ER-lokalize aminopeptidazlar tarafından daha fazla işlenir (Stoltze ve ark., 2000). Peptitler daha sonra sitotoksik T-hücrelerine antijen sunumu için MHC I'e iletilir. LAP antijenik peptitleri in vitro olarak açıkça işlerken, LAP-nakavt farelerin analizi LAP aktivitesinin in vivo antijen sunumu için gerekli olmadığını gösterir, bu da diğer aminopeptidazların LAP'larla işlevsel olarak gereksiz olması gerektiğini düşündürür (Beninga ve ark., 1998; Towne ve ark., 2005).

1.12.2. Sirtuin 1 (SIRT1) geni ve immün yanıtaki rolü

25. kromozomda bulunan koyun sessiz bilgi düzenleyici bir (SIRT1) geni 9 ekzon içerir ve böbrek ve yağ dokusunda yüksek oranda eksprese edilir (Ghinishozumi ve ark., 2011) (Şekil 1.3). SIRT1, karaciğer, kas, pankreas, testis, yumurtalık ve yağ dokularındaki fizyolojik fonksiyonlarda hücre çoğalmasını, hücre hayatta kalmasını ve apoptozu

düzenlemek için rol oynar. Ayrıca memeli hücrelerinde kalori kısıtlamasının, stres kaynaklı apoptozu en aza indiren sessiz bilgi düzenleyici geni aktive ederek hücrenin ömrünü uzattığı keşfedilmiştir (Cohen ve ark., 2004).

Genome Data Viewer



Şekil 1.3. SIRT1 Geninin genomik konumu (NCBI).

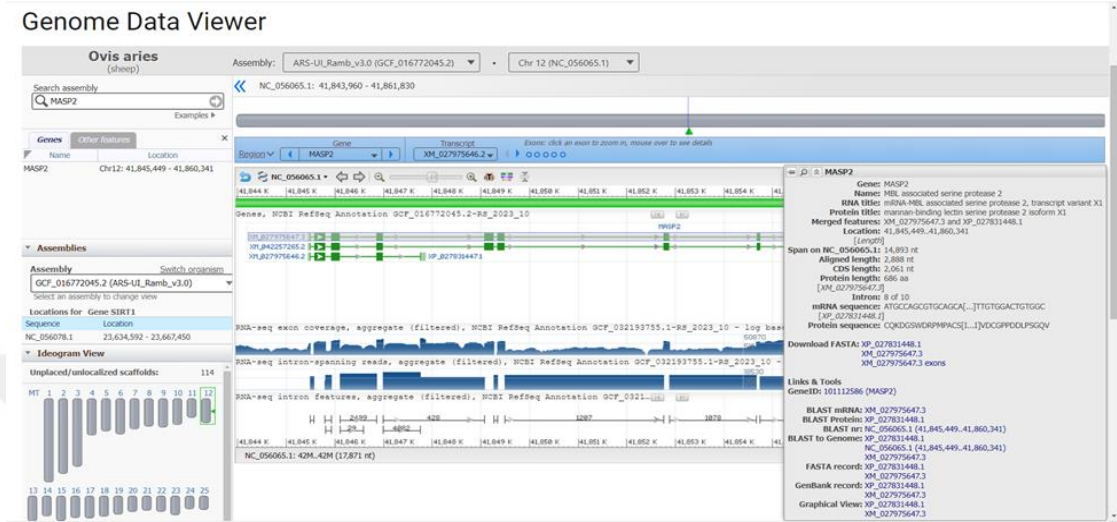
SIRT1, hücresel metabolizma yollarındaki temel metabolik sensörlerden birisi olarak kabul edilir ve bağışıklık yanıtlarını etkilemede hayati roller oynar. SIRT1, bağışıklık yanıtlarını metabolizmaya bağımlı ve bağımsız yollarla düzenler. Doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarında SIRT1, miyeloid türevli baskılayıcı hücrelerin glikolitik aktivitesini düzenleyebilir ve bu hücrelerin fonksiyonel farklılaşmasını etkileyebilir. SIRT1, artan NAD⁺ seviyesine eşlik eden NF- κ B ve PGC-1 aracılığıyla monosit işlevini düzenleyebilir. SIRT1 geni, dendritik hücrelerin sitokin üretimini metabolizmadan bağımsız bir şekilde yönlendirerek ve CD4⁺ T hücrelerinin farklılaşmasını teşvik ederek doğuştan gelen bağışıklık sinyalini uyarlanabilir bir bağışıklık tepkisine bağlar. Adaptif bağışıklık hücreleri için SIRT1, NAD⁺ bağımlı bir şekilde enflamatuvar T hücre alt kümelerinin farklılaşmasına aracılık edebilir. Buna ek olarak, SIRT1 metabolizma motor aktivitesini inhibe eder, böylece Th9 hücrelerinin farklılaşmasını ve işlevini olumsuz yönde düzenler. Bağışıklık hücreleri bağışıklıkla ilişkili hastalıkların kontrolünde çok önemli olduğundan, SIRT1 geni enfeksiyon, tümörler, alerjik hava yolu iltihabı ve otoimmün hastalıklar dahil olmak üzere bağışıklıkla ilişkili hastalıklarla yakından bağlantılıdır (Yu ve ark., 2018). Sirtuin 1 (SIRT1) hem metabolizmada hem de bağışıklık yanıtlarında çok önemli bir faktördür. Nikotinamid-adenin dinükleotid (NAD⁺) bağımlı deasetilazlardan biri olan SIRT1, metabolizmanın transkripsiyonel düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Cohen ve ark., 2004; Rodgers ve ark., 2005). SIRT1, adenozin 5'-monofosfat (AMP) ile aktive olan protein kinaz (AMPK) gibi bazı metabolik faktörler tarafından düzenlenebilir (O'Neill ve ark., 2013; Wang ve ark., 2016). Ayrıca SIRT1, her

ikisi de pro-enflamasyon yanıtlarında anahtar transkripsiyonel faktörler olan aktive B hücrelerinin nükleer faktör kappa-ışık (kappa-light-chain) zinciri arttırıcısı (NF-κB) ve hipoksi ile indüklenebilir transkripsiyon faktörü-1 alfa alt birimi (HIF1α) dahil olmak üzere bazı aşağı akış hedeflerini deasetile edebilir (Liu ve ark., 2015). SIRT1, bazı temel transkripsiyon faktörlerinin deasetilasyonu yoluyla doğrudan veya metabolik yollar yoluyla dolaylı olarak immün yanıtları düzenleyebilir. SIRT1 ile ilişkili metabolizma, immün yanıtların düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (Kim ve ark., 2010; Zeng ve Chi, 2015).

1.12.2. Manan bağlayıcı lektin serin ile ilişkili proteaz 2 (MASP2) geni ve immün yanıtındaki rolü

MASP2 (Manan bağlayıcı lektin serin ile ilişkili proteaz 2) koyunlarda 12. Kromozom üzerinde 10 ekzondan oluşan, üretim özellikleriyle ilgili biyokimyasal süreçler ile ilişkili bir gen bölgesidir (Şekil 1.4). Mannan bağlayıcı lektin serin proteaz 2 (MASP2), immün yanıtta kompleman sisteminde bulunan lektin yolunun önemli bir bileşenidir. Lektin yolu, klasik ve alternatif yolların yanı sıra kompleman sisteminin üç aktivasyon yolundan biridir. Kompleman sistemi veya tamamlayıcı sistem, doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde hayati bir rol oynar ve bakteri ve virüs gibi patojenlerin tanınmasına ve ortadan kaldırılmasına yardımcı olur. Koyunlarda, diğer memelilerde olduğu gibi, mannoz bağlayıcı lektin (MBL) patojenlerin yüzeyinde bulunan karbonhidratlara bağlandığında lektin yolu başlatılır. Bağlanmanın ardından MBL, bir serin proteaz olan MASP2'nin aktivasyonuna yol açan konformasyonel değişikliklere uğrar. Daha sonrasında fagositoz için patojenlerin opsonizasyonuna yol açar (Li ve ark., 2021). MASP2 geni, MASP2 proteinini kodlar ve gendeki değişiklikler, MASP2'nin işlevselliğini ve dolayısıyla lektin yolunun verimliliğini etkileyebilir. MASP2 genindeki genetik polimorfizmler, bağışıklık tepkisi ve hastalık direnci üzerindeki potansiyel etkilerini anlamak için koyunlarda da dahil olmak üzere çeşitli türlerde incelenmiştir (Tulio ve ark., 2011; Goeldner ve ark., 2014; Chen ve ark., 2015). MASP-2'nin hem seviyeleri hem de işlevi, MASP2 geninin tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) tarafından modüle edilir (Thiel ve ark., 2009). Plazmadaki MASP-2 seviyesi, enfeksiyon hastalıklarının bulaşmasında ve ilerlemesinde ikili bir rol oynamaktadır (Kasanmoentalib ve ark., 2017). Plazmadaki MASP-2 eksikliği HIV'e yatkınlık ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşılık, MASP-2'nin aşırı üretimi enflamatuar etkiyi artırabilir. Başka bir deyişle, MASP-2'nin düşük seviyeleri HIV'in ilerlemesinde

koruyucu etkiye sahiptir (Boldt ve ark., 2016). Ayrıca, son yıllarda, MASP2 geninin polimorfizmi ile enfektif hastalıklara ve bağışıklık sistemi hastalıklarına yatkınlık arasındaki ilişkiyi kanıtlayan çok sayıda çalışma yapılmıştır (Bibert ve ark., 2019; Xu ve ark., 2020).



Şekil 1.4. MASP2Geninin genomik konumu (NCBI).

Koyunlar, dünya genelindeki tarımsal endüstrilerde et, süt ve yün üretimi için besi hayvanı olarak kullanılan geviş getiren memelilerdir. Genetik ve genomik bilgiler, büyüme hızı, et, süt, yün verimi ve hastalık direnci de dahil olmak üzere birçok üretim özelliklerini iyileştirmek için kullanılabilir. Ancak koyun genomundaki genlerin fonksiyonlar hakkında önemli bilgiler hala eksiktir. Mastitis, büyük ekonomik kayıplara yol açan, hayvanın refahını etkileyen, süt koyunlarındaki en yaygın hastalıklardan birisidir. Hijyenik veya daha farklı yöntemler uygulanmasına rağmen hastalık tüm süt üretim sistemlerinde devam etmektedir. Genetik yaklaşımların çiftlik hayvanlarında sağlıkla ilgili özelliklerin ıslahında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu nedenle, bu çalışma süt koyunlarından Şavak Akkaraman ırkındaki hastalıklara direnç konusunda potansiyel bir aday genler olan LAP3, MASP2 ve SIRT1 genlerindeki SNP yönünden genotiplendirilmesi ve süt verim özellikleriyle ilişkisini açıklamaya çalışacaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Kimyasallar

Tez çalışması boyunca kullanılan kimyasallar Merck (Almanya) ve Sigma (Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

2.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Su banyosu (Nüve), PZR cihazı (BioRADThermalCycler), hassas terazi (Vibra), otomatik pipetler (Eppendorf veya Biohit), inkubator (nüve), spektrofotometri (J.P. selecta), elektroforez tankı (ThermoScientific-Gel HorizontalElectrophoresisSystem), NanoDrop (thermofisher), DNA dizileme (3130xl GeneticAnalyzers, AppliedBiosystems), jel görüntüleme (TJP), kullanılmıştır.

2.3. Örneklerin Toplanması

Araştırma meteryalini, farklı işletmelerdeki toplam 150 Şavak Akkaraman koyunlarından alınan kan örneklerinden oluşmaktadır. Ayrıca süt verim kayıtları alınmıştır. Şavak Akkaraman koyun örnekleri Tunceli ilindeki koyun yetiştirme çiftliklerinden elde edilmiştir. Alınan kan örnekleri kan tüplerine küpe numaraları ve çalışmada kullanılmak üzere Şavak Akkaraman-1 (ŞA-1 vb) şeklinde numaralandırılmıştır. Soğuk zincirle laboratuvara taşınmış ve tüm işlemler boyunca -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

2.5. DNA İzolasyonu

Kandan DNA izolasyonuQiagenDNeasy Blood &Tissue DNA kiti kullanılmıştır, üretici firmanın protokolüne uyularak yapılmıştır. Sonuç alınamaması veya saflık ve konsantrasyonunun yetersiz kalması durumunda manuel olarak standart amonyum asetat ile çöktürme yöntemi kullanılmıştır (Miller ve ark. 1998). DNA örneklerinin saflığı ve konsantrasyonunun belirlenmesi için spektrofotometre (Thermo-NanoDrop) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. 260 nm DNA’nın, 280 proteinin ve 230 ise fenolün maksimum

absorbans verdiği dalga boylarıdır. DNA'nın saflığı değerlendirilirken A260/A280 ve A260/A230 oranlarına bakılmıştır ve 1.8-2.0 arasındaki değerlerde DNA örnekleri saf kabul edilmiştir. İzolasyonu istenilen saflıktaki DNA örnekleri PCR uygulaması için – 20 °C de saklanmıştır (Resim2.1).



Resim2.1. Kandan DNA izolasyonu yöntemleri manuel DNA izolasyonu ve ticari kit DNA izolasyon yöntemi (A-C: İzolasyon süreci, B: Kan tüpleri ve izolasyon kiti). (Orjinal çekimdir.)

2.5.1. Fenotipik verilerin toplanması

Süt kayıt verileri yaklaşık 150 Tunceli bölgesindeki halk elinde yetiştirilen Şavak Akkaraman Koyunlarının süt verileri toplanmıştır.

2.5.2. SNP'lerin tanımlanması

Gen bölgelerine ait PZR ürünleri ABI3730XL DNAdizileycide (ABI, Fostercity, CA, ABD) kullanılarak hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. DNA dizi verileri SNP ve mutasyon alanlarını belirlemek ve gen bölgelerinin doğruluğunu kanıtlamak için Codon-Code (Codon-Code, Dedham, MA), ClustalW 1.6 MEGA 11 kullanılarak analiz edilmiştir. MEGA11 (Oxford Universitypress) yazılımı ile çoklu dizi hizalamaları yapılmıştır. Elde edilen DNA dizilerinin doğrulanması NCBI'daki BLAST (NCBI'daki temel hizalama ve arama aracı) için kullanılmıştır (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

2.5.3. Genotipleme

LAP3, MASP2 ve SIRT1 gen bölgeleri için PZR amplifikasyonu (ön denatürasyon için 94°C’de 3 dak. tek döngü; denatürasyon 94 °C’de 30 saniye, primer çiftlerine göre değişen yapışma sıcaklığında 30 sn. ve uzama 72 °C’de 30 sn.) 30 döngü olarak planlanmış ve yapılmıştır. Herbir PZR reaksiyonunda 1mM dNTP, DNA polimeraz (5 U µl⁻¹) 1X PCR solusyonu, 20 pikomol ileri ve geri primeri kullanılarak toplam 50 µl olarak yapılmıştır. PZR sonuçları ürün büyüklüklerine göre % 1,5 agaroz jelde görüntülenmiştir. PZR’ı çalışan örneklerin genotiplendirilmesi için restriksiyon kesme enzimleri olan “TasI, HindII, NmuCI, PstI, TaqI, HhaI, BstUI, BsrDI, BsrI, BsaJI, VspI, SmaI” kullanılmıştır (Tablo 2.1.).

RFLP Analizi için her enzimin kendi sıcaklığında sıcak su banyosunda kesme işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 10 µl PCR ürünü, toplam hacim 20 µl olacak şekilde enzime reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bütün işlemler üretici firmaların protokollerine göre yapıldı Reaksiyon karışımları;TasI, HindII, NmuCI, PstI, TaqI, HhaI, BstUI, BsrDI, BsrI, BsaJI, VspI, SmaI enzimlerinin protokolleri (Total vol: 20 µl), 10 µl PZR reaksiyon ürünü (~0.2µg of DNA), 5 µlnukleaz içermeyen su, 4 µl 10x buffer ve 1 µl enzim olacak şekilde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı, hafifçe birkaç dk karıştırıldıktan sonra her reaksiyon enzime uygun sıcaklıkta inkübasyona bırakıldı. Kesim işlemleri sonucunda oluşan RFLP ürünleri, %3’lük agaroz jel elektroforezinde 90 voltta 1 saat, 15 dakika yürütülmüştür. Elde edilen bant görüntüleri kaydedilmiştir.

Tablo 2.1. Gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılacak primerler ve restriksiyon kesme enzimleri.

G en Adı	Bölg e	PrimerSequence (5’-3’)	Kesme Enzimi
AP3	Intro	F: AGATTGCCAACTTGCTGATG	<i>TasI, HindII,</i>
		R: AATGTGCCCACTTAGGATGAG	
	Exon	F: GGACCCTGATTGAATTCCTG	<i>PstI, TaqI, HhaI</i>
		R: GTAACACAGCCAGAAGAGACA	
M	Exon	F: ATCAGGTTTCTGTAAAGCCTCTAT	

ASP2	- 11	R: ACCACTTCTGGGTCTCATTATCTA	
	Exon	F: ACAAGTACGCCAACAACCAG	<i>BstUI, BsrDI,</i>
	2 & 3	R: GCATTGTGATGATGTCAGACC	<i>BsrI</i>
SI	Prom	F: GTATAGTCCACGGGGTTACAG	<i>BsaJI, VspI</i>
RT1	oter	R: CCAAACCTGTCTTTCAGAGTC	<i>SmaI</i>

2.6. Veri ve İstatistik Analizleri

Gen bölgelerinin her iki yönlü okuması ile elde edilen DNA verilerindeki mutasyon dizileri, BioEdit yazılımı (BioEdit, ABD) kullanılarak dizilerin karşılaştırılması ve analiz edilmesiyle doğrulanmıştır. Şavak Akkaraman koyun örneklerindeki LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor Geni bölgelerine ait genotiplerinin ve alellerinin frekansları Ki-kare (X²) testi kullanılarak doğrudan hesaplanmıştır. Genonipik frekanslar ve allel yapıları FSTAT 2.9.3.2 filogenetik analiz programı ile belirlenecektir (Goudet, 1995). Gen bölgelerindeki SNP'leri yönünden popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıklarının belirlenmesi için de Ki-kare analizi yapılmıştır (OEGE 2008). GDIcall Online Calculator (<http://www.msccall.com/Gdicall.aspx>, son erişim: 30 Kasım 2023) kullanılarak polimorfizm bilgi içeriği (PIC) hesaplanmıştır (Li ve ark., 2018). Ayrıca, iki mutasyon lokusunun popülasyonlarının bağlantı dengesizliğini analiz etmek için SHEsis programı (<http://analysis.bio-x.cn>, son erişim: 30 Kasım 2023) kullanılarak r² testi değerleri de hesaplanmıştır (Wang vd., 2017). Ayrıca, SPSS yazılımında (IBM Corp, ABD) varyans analizi (ANOVA) ve bağımsız örneklem t ve kolerasyon testleri kullanılarak, genotipler ve süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler belirlenmiştir. Genotipler bağımsız değişkenler, süt verim özellikleri ise bağımlı değişkenler olarak kabul edilmiştir (Li ve ark., 2018). Veriler varyansların homojenliği ve normal dağılım göstermiyorsa, parametrik olmayan (Kruskal-Wallis) bir test kullanılmıştır (Wang ve ark., 2019). Sonuçlar P<0:05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve tüm istatistiksel testler iki yönlü yapılmıştır.

2.7. Etik Kurul Onay Bilgileri

Etik kurul adı: Munzur Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Etik kurul tarihi: 26.01.2023

Etik kurul toplantı sayısı: 23-22

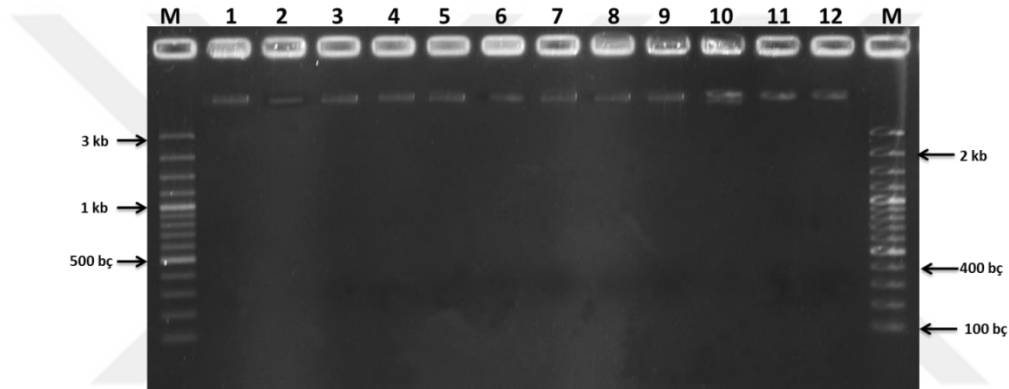
Etik kurul kararının sayısı: 22-01



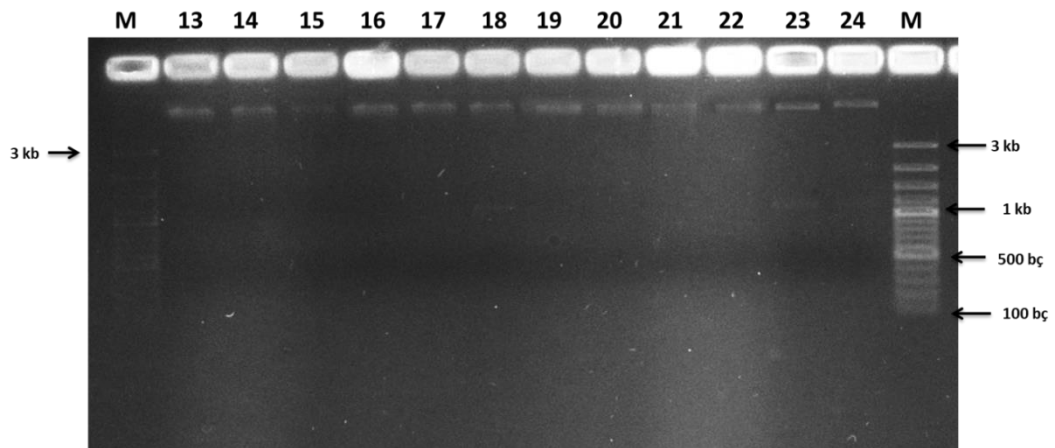
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

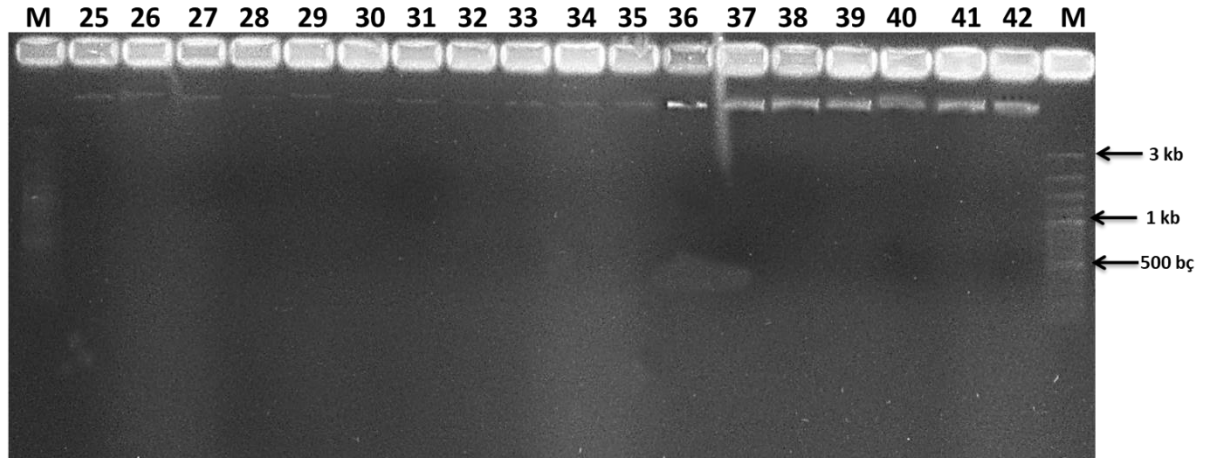
Materyal ve metot'da 2.3 ve 2.4'de anlatıldığı gibi Şavak Akkaraman koyun kanlarından elde edilen örneklerden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonrasında elde edilen DNA %1 veya %1,5'luk agaroz jel elektroforez kullanılarak görüntülenmiştir (Resim 3.1, 3.2 ve 3.3). Tez kapsamında toplanan 150 adet kan örneğinin tamamından DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen jel görüntülerinde dayanarak DNA varlığı pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.1. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü. (1-12: Şavak akkaraman örnek numaraları, M: 100 bp'lik marker).



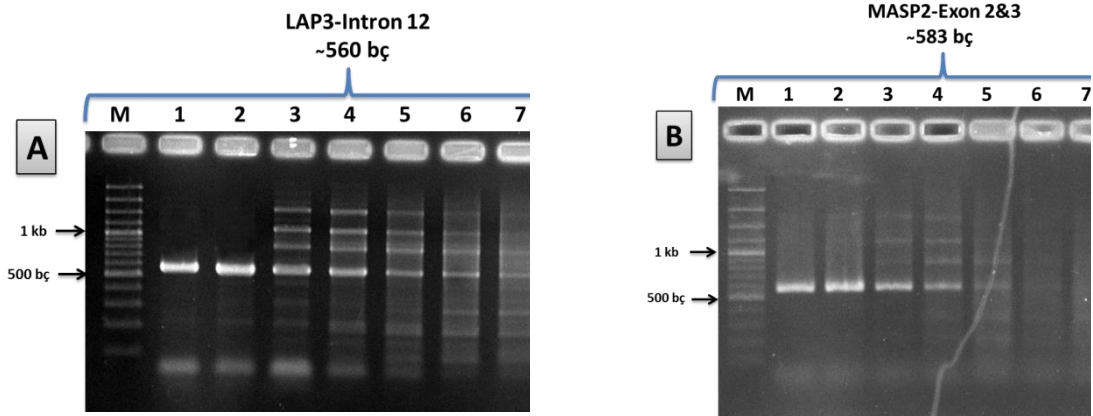
Resim 3.2. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü. (13-24: Şavak akkaraman örnek numaraları, M: 100 bp'lik marker).

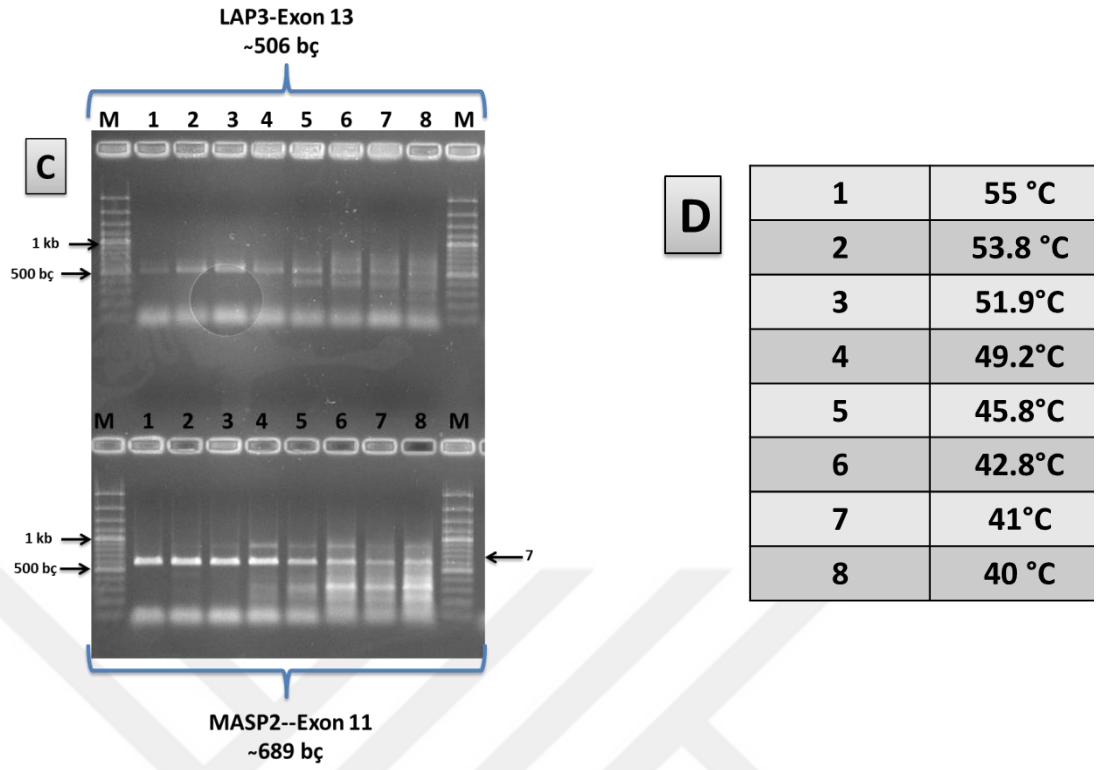


Resim 3.3. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü. (25-42: Şavak akkaraman örnek numaraları, M: 100 bç'lik marker).

3.2. LAP3, MASP2 ve SIRT1 Gen Bölgelerinin PZR Optimizasyonu

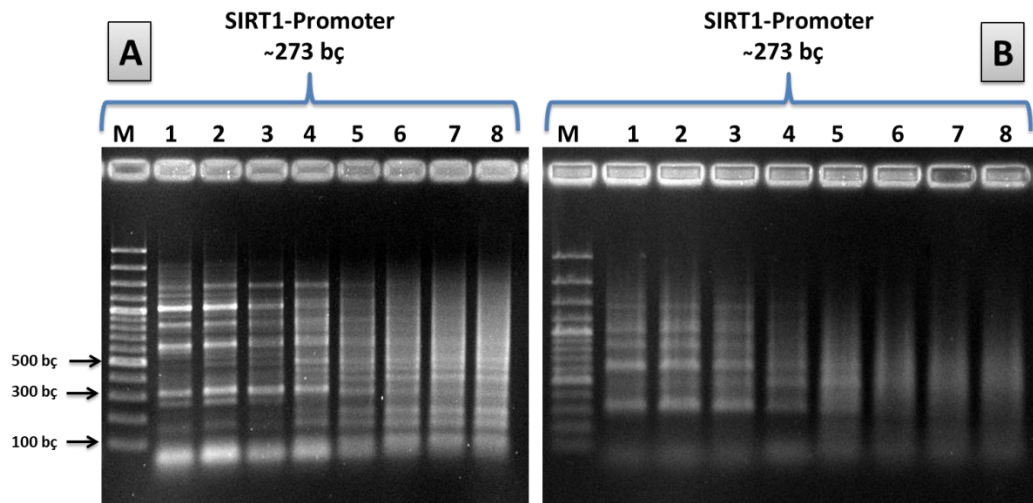
Hedef gen bölgeleri için kullanılan primerler önceki çalışmalardan yararlanılarak elde edildiğinden, gerek laboratuvarımızda kullandığımız Biorad PZR cihazı gerekse PZR reaksiyonu için her primer çifti için gradient PZR işlemi uygulanmıştır. Primer sıcaklıklarının belirlenmesi için yapılan gradient PZR ile primer sıcaklıkları tam olarak belirlenmiştir (Resim 3.4)





Resim 3.4. Hedef gen bölgelerinin gradient PZR jel görüntüsü (A-C), gradiyent PZR sıcaklıkları (D) (M: 100 bç DNA standardı).

Tez kapsamında SIRT1 Gen promotor bölgesi farklı sıcaklıklarda yapılan gradiyent PZR işlemlerin her denemesinde birden fazla bant vermiştir (Resim 3.5). Bu durum göz önüne alınarak PZR işleminden sonra jelden izolasyon yöntemine gidilerek (Materyal ve metot 'da SIRT1'den) yaklaşık 273bç uzunluğundaki bölge kesilerek diğer çalışmalarda kullanılmak üzere saflaştırılmıştır.



C	1	55 °C
	2	53.8 °C
	3	51.9°C
	4	49.2°C
	5	45.8°C
	6	42.8°C
	7	41°C
	8	40 °C

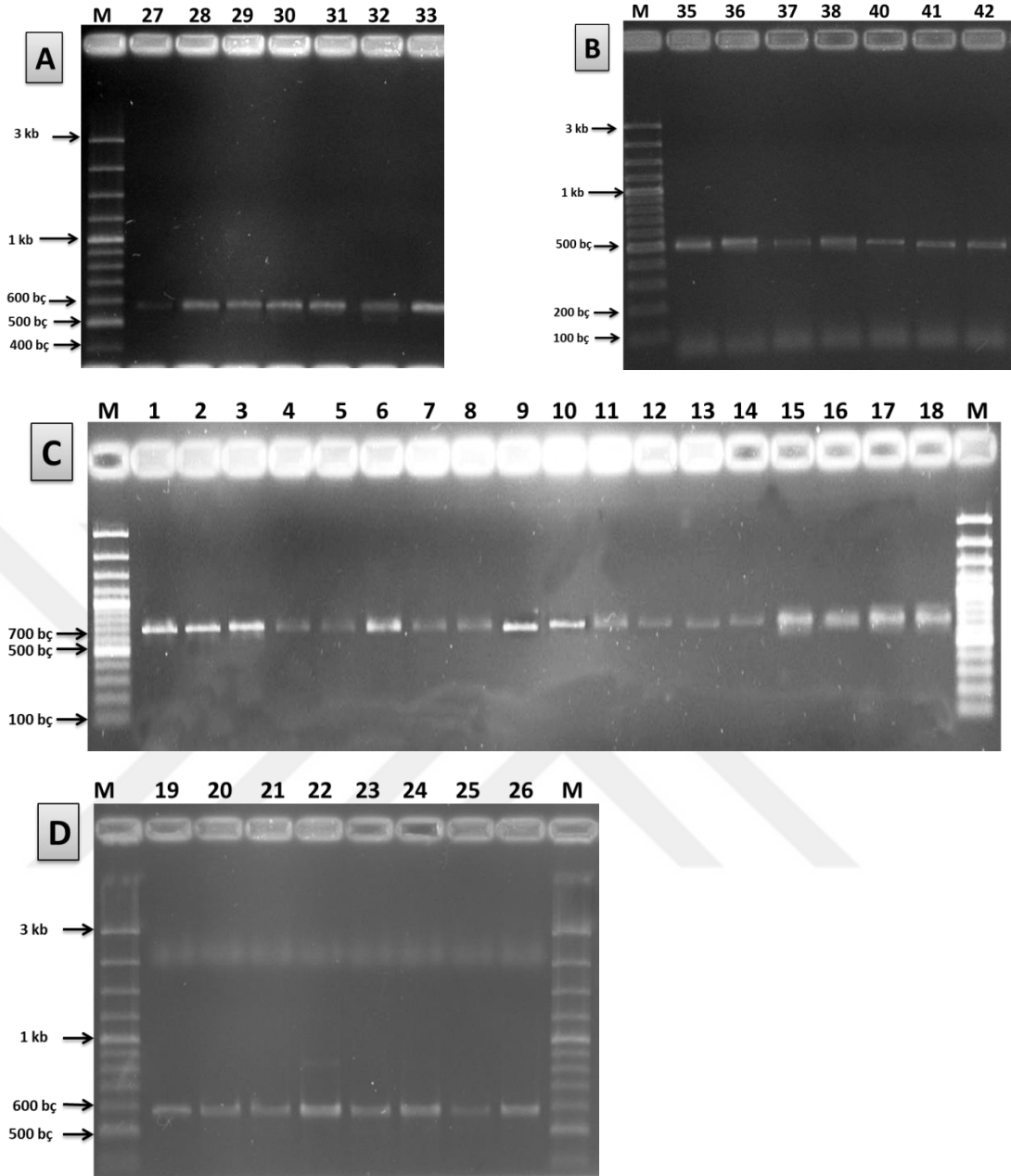
D	1	65 °C
	2	63.8 °C
	3	61.9°C
	4	59.2°C
	5	55.8°C
	6	52.8°C
	7	51°C
	8	50 °C

Resim 3.5. SIRT1 gen promotor bölgesinin gradient PZR jel görüntüsü (A-B), gradiyent PZR sıcaklıkları (C: A'daki Jel için kullanılan sıcaklıklar-D: B'deki Jel için kullanılan sıcaklıklar) (M: 100 bp DNA standardı).

Gerek resim 3.4 gerekse resim 3.5 incelendiğinde, Şavak akkaraman DNA örnekleri için kullanılacak PZR amplifikasyonunda LAP3 Intron-12 bölgesi için bölgesi için 1 nolu yapışma sıcaklığın (55 °C) yaklaşık uzunluğu 560 bp olan hedef bölge için ideal olduğu görülmüştür (Şekil 4.4 A). Diğer bölgeler LAP3 Exon 13 bölgesi için 3 nolu yapışma sıcaklığın (51,9 °C) yaklaşık uzunluğu 506 bp (Resim 3.4 C), MASP2 Exon 2&3 ve MASP2 Exon 11 için 1 nolu yapışma sıcaklığın (55°C) yaklaşık uzunluğu 689 bp (resim3.4 C), uygun olabileceği belirlenmiştir.

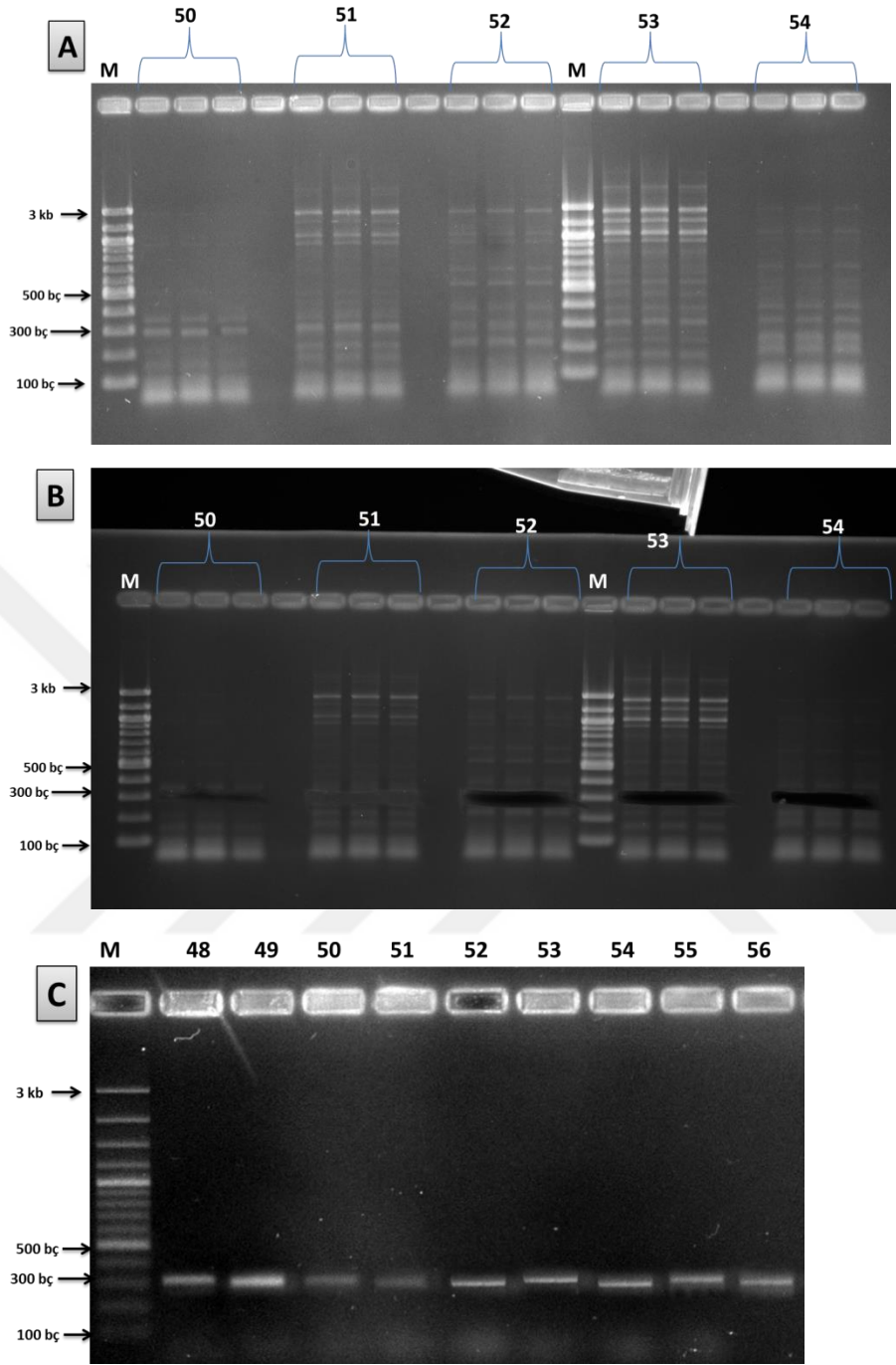
3.3. LAP3, MASP2 ve SIRT1 Gen Bölgelerinin PZR Amplifikasyon Sonucu

Koyunlardan elde edilen DNA örneklerindeki LAP3-Intron-12, LAP3-Exon-13, MASP2-Exon-11, MASP2-Exon 2&3 ve SIRT1 Promotor gen bölgeleri için 2.5.1.'de bahsedilen şekilde alınan primerler kullanılarak (Tablo 3.1) PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonu, 3.5.1.'de detaylandırılan PZR şartları kullanılarak yapılmış ve çoğaltılan bölgeler %1,5'luk agaroz jelde görüntülenmiştir (Resim 3.6.).



Resim 3.6. LAP3-Intron-12 (A), LAP3-Exon-13 (B), MASP2-Exon-11 (C) ve MASP2-Exon 2&3 (D) Gen bölgeleri PCR sonucu (M=100 bp).

PZR reaksiyonları içerisinde SIRT1 promotor bölgesi birden fazla bant vermiştir. Bu durum göz önünde bulundurularak, agaroz jelden izolasyon gerçekleştirilmiştir. Resim 4.6’ anlatıldığı gibi %1’lik agaroz jele yüklenen (Resim 3.7 A) tüm PZR ürünleri jelden izole edilmiştir (Resim 3.7 B). İzolasyon sonrası başarılı bir şekilde hedef bölge agaroz jelde görüntülenmiştir (Resim 3.7 C).



Resim 3.7. SIRT1 promotor Gen bölgesi PCR sonucu (A), jelden izolasyonu (B-C) (M=100 bç).

3.4. PZR-RFLP Genotip Sonuçları

Gerek daha önceki çalışmalarda gerekse bu çalışmada kullanılan resktriksiyon endonükleazlar tablo 3.1 özetlenmiştir.

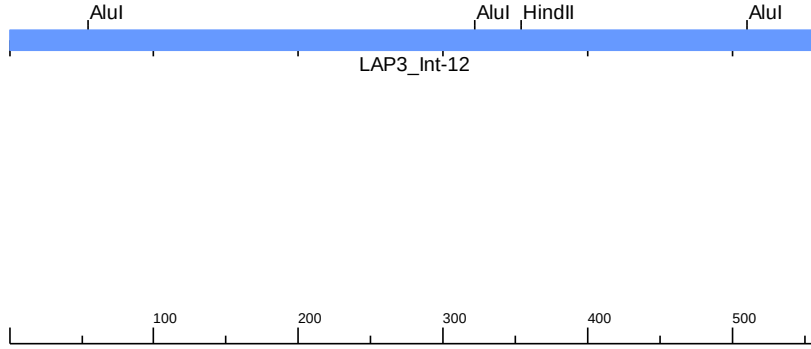
Tablo 3.1 Genotiplendirme için kullanılan restriksiyon endonükleazlar

Gen Bölgesi	Uzunluk	Resktriksiyon Endonükleazlar			
LAP3_Intron-12	560 bç	HindII (HincII)	AluI	SmaI	MroNI (NgomIV)
		1 NK*	3 NK	-	-
LAP3_Exon-13	506 bç	TaqI	PstI	AluI	
		1 NK	-	2 NK	
MASP2_Exon-11	689 bç	RsaI	MroNI (NgomIV)	AluI	
		2 NK	-	3 NK	
MASP2_Exon-2&3	583 bç	BstUI (Bsh1236I)	BsrI (BseNI)	AluI	
		-	2 NK	3 NK	
SIRT1_Promoter	273 bç	SmaI	BstU	AluI	
		-	2 NK	-	

*Kesim sayısı (NK: Noktadan kesim), -:Herhangi bir kesim olmayan, gri ile gösterilen enzimler daha önceki çalışmalarda kullanılmıştır.

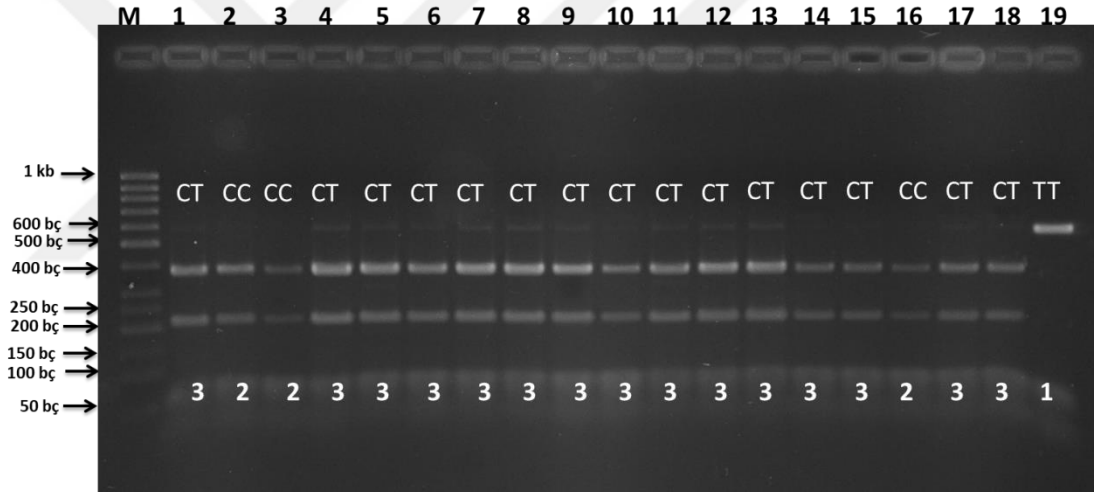
3.4. 1. LAP3 İtron 12 Genotip Sonuçları

LAP3 intron 12 bölgesi için yapılan PZR işleminde yaklaşık 560 bç uzunluğunda bir bölge elde edilmiştir (Şekil 3.1). Elde edilen PZR ürünleri sırasıyla *HindII*, *AluI*, *SmaI*, *MrDNI* restriksiyon enzimleri ile kesilmesinin ardından elektroforez işlemi yapılmıştır. LAP3 geni intron 12 bölgesi için *HindII* kullanılarak restriksiyon kesimi: C>T lokusu, Şavak akkaraman koyun popülasyonunda CC genotipi için 358 ve 202 bp, CT genotipi için 560, 358 ve 202 bp ve TT genotipi için 560 bp uzunluğunda üç genotipin polimorfik profilini ortaya çıkarmıştır (Resim 3.8). LAP3 intron 12 gen bölgesi yönünden ise *AluI* RE ile yapılan kesim sonucu normal şartlarda 4 farklı boylarda (49 bç, 56 bç, 188 bç ve 267 bç) bant elde edilirken Şavak akkaramanlarda bu sayı farklılık gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak bu bölgede farklı SNP olabileceği sonucuna varılmıştır (Resim 3.9). *SmaI*, *MrDNI* restriksiyon enzimleri ile yapılan kesme işleminde herhangi bir kesim noktasına rastlanmamıştır. Bu iki enzim yönünden koyun örnekleri homozigot olarak kabul edilmiştir.

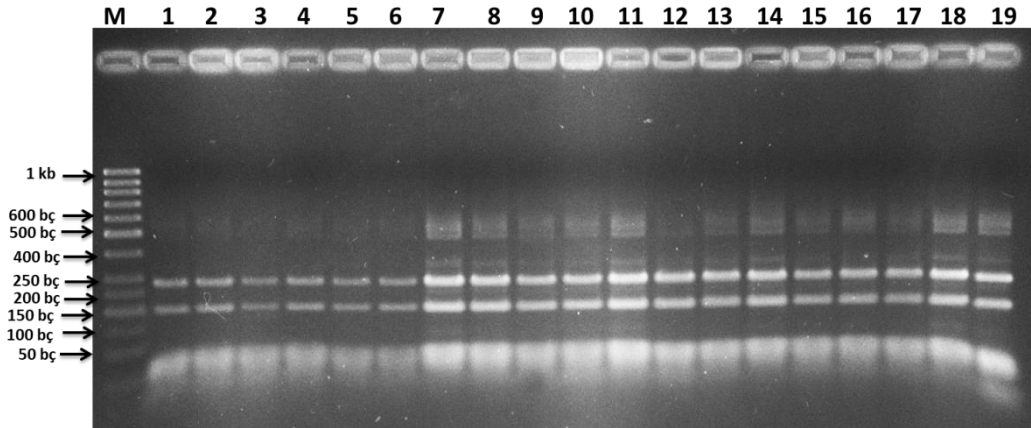


LAP3_Int-12 (560 bps)

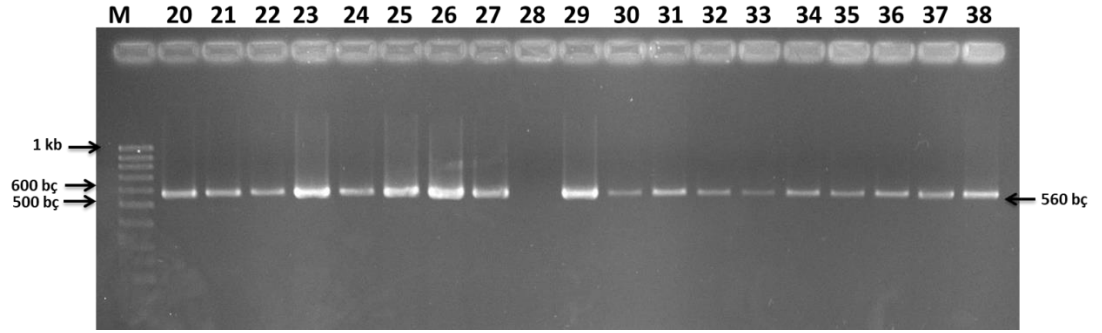
Şekil 3.1. LAP3_Int-12 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları



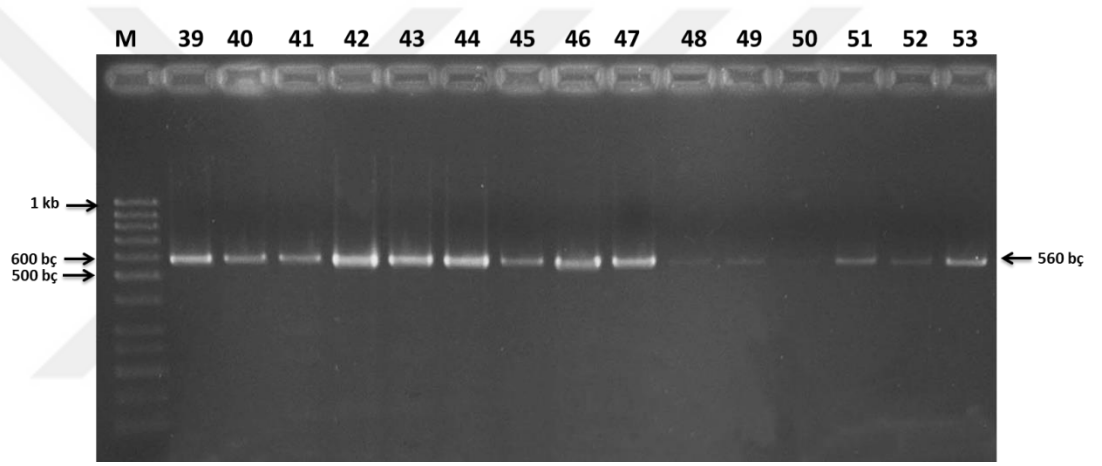
Resim 3.8. LAP3 intron 12, HindII (HincII) RE ile genotiplendirme (M=50 bç)



Resim 3.9. LAP3 intron 12, AluI RE ile genotiplendirme (M=50 bç),



Resim 3.10. LAP3 intron 12, SmaI RE ile genotiplendirme (M=50 bç),

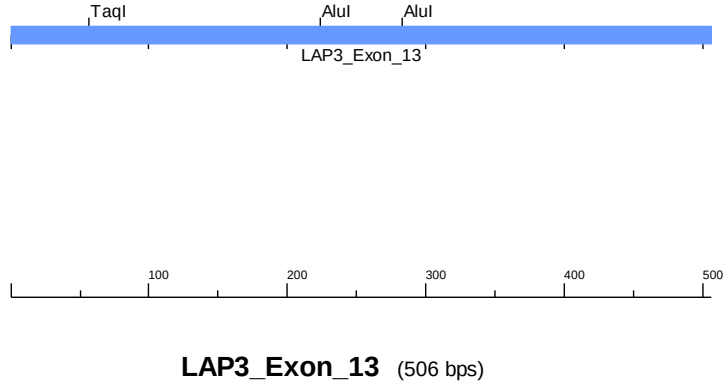


Resim 3.11. LAP3 intron 12, MrDNI RE ile genotiplendirme (M=50 bç),

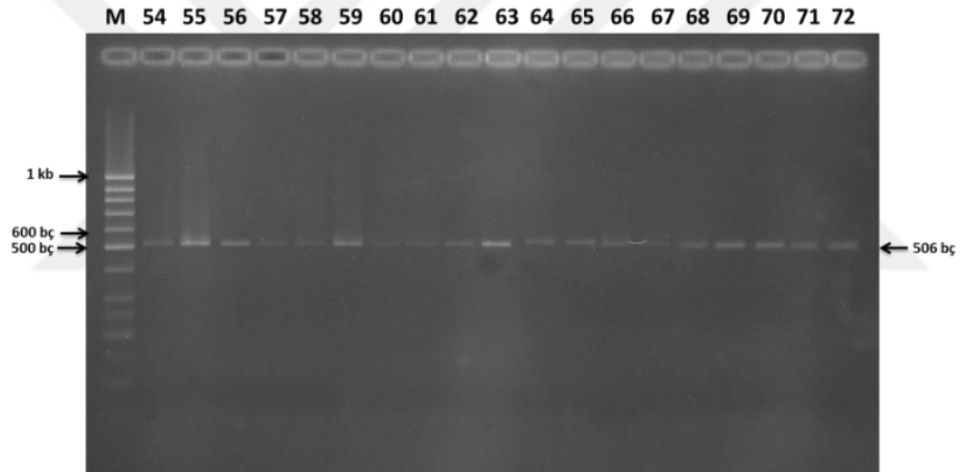
3.4. 2. LAP3 Ekzon 13 Genotip Sonuçları

LAP3 ekzon 13 bölgesi için yapılan PZR işleminde yaklaşık 506 bç uzunluğunda bir bölge elde edilmiştir (Şekil 3.2). Elde edilen PZR ürünleri sırasıyla *PstI*, *AluI* ve *TaqI* restriksiyon enzimleri ile kesilmesinin ardından elektroforez işlemi yapılmıştır (Resim 3.12, 3.13 ve 3.14). *LAP3* ekzon 13 bölgesi *PstI* RE herhangi bir kesim noktasının olmayışı bu yönden bu bölgenin homozigot olduğu belirlenmiştir. Hedef bölge daha önceki DNA dizi çalışmalarında belirlendiği gibi *AluI* RE yönünden iki noktada kesim gerçekleşmiştir (Resim 3.13). Bu gen bölgesinde dikkat çeken nokta *TaqI* enzimi ile yapılan RFLP analizi olmuştur. DNA dizi verilerine göre bir noktadan keserek 57 bç ve 449 bç iki bölgenin olması gerekirken, çalışılan tüm Şavak akkaraman örneklerinde *LAP3* ekzon 13 bölgesi için herhangi bir kesim görülmemiştir (Resim 3.14). Bu noktada SNP yönünden bir

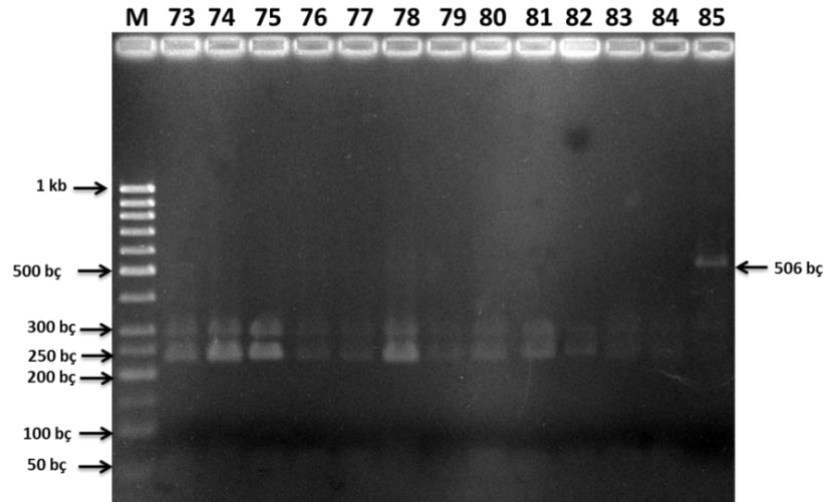
farklılığın olduğu belirlenmiştir. *LAP3* ekzon 13 bölgesi *PstI*, *AluI* ve *TaqI* RE'lar yönünden homozigot olarak kabul edilmiştir.



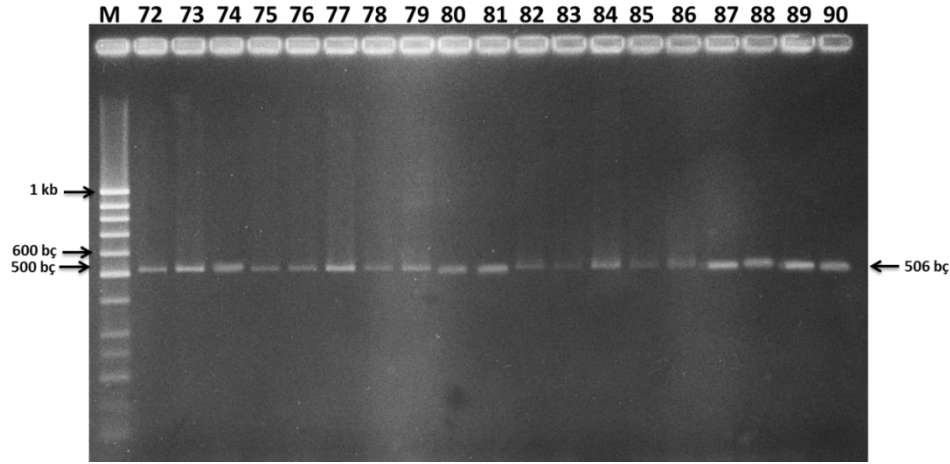
Şekil 3.2. LAP3_Ekzon-13 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları



Resim 3.12. LAP3 Ekzon 13 *PstI* RE ile genotiplendirme (M=50 bp),



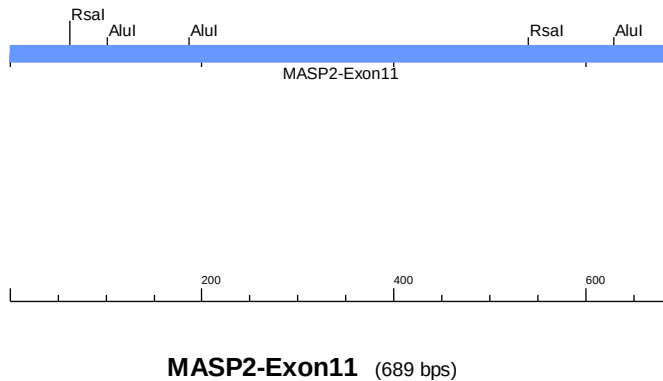
Resim 3.13. LAP3 Ekzon 13 AluI RE ile genotiplendirme (M=50 bç),



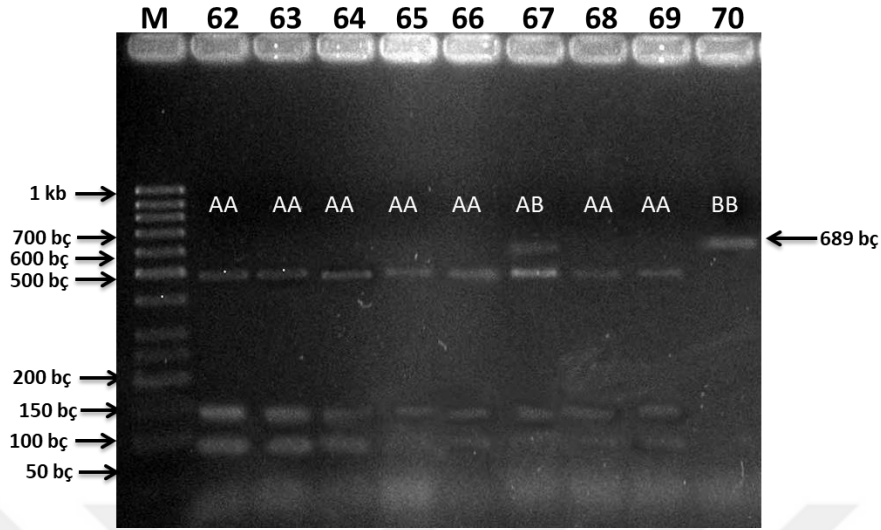
Resim 3.14. LAP3 Ekzon 13 TaqI RE ile genotiplendirme (M=50 bç),

3.4.3. MASP2 Ekzon-11 Genotip Sonuçları

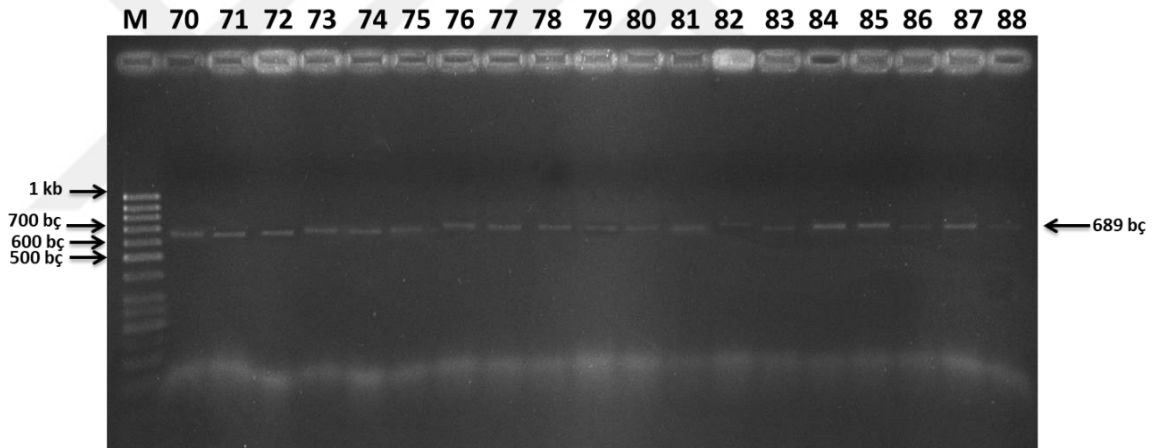
MAASP2 Ekzon-11 bölgesi için yapılan PZR işleminde yaklaşık 689 bç uzunluğunda bir bölge elde edilmiştir (Şekil 3.3). Elde edilen PZR ürünleri sırasıyla *RsaI*, *NgoMIV* ve *AluI* restiriksiyon enzimleri ile kesilmesinin ardından elektroforez işlemi yapılmıştır (Resim 3.15 ve 3.16). *MAASP2 Ekzon-11* bölgesi için *NgoMIV* ve *AluI* ile yapılan RFLP analizinde her iki enzim yönünden de homozigot olduğu kabul edilmiştir. *MAASP2 Ekzon-11* bölgesi *RsaI* RE DNA dizi verilerine göre iki noktadan kesim yaparak 64 bç, 148 bç ve 477 bç'lik üç bölgeye ayrılmaktadır. Benzer bir sonuç bizim çalışmamızda da elde edilmiştir (Resim 3.15). Şavak akkaraman koyun popülasyonunda AA genotipi için 64, 148 ve 477 bç, AB genotipi için 64, 148, 477 ve 689 bç ve BB genotipi için 689 bç uzunluğunda üç genotipin polimorfik profilini ortaya çıkarmıştır (Resim 3.15).



Şekil 3.3 MASP2_ Ekson11 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları



Resim 3.15. MASP2 Ekzon 11 RsaI RE ile genotiplendirme (M=50 bç),

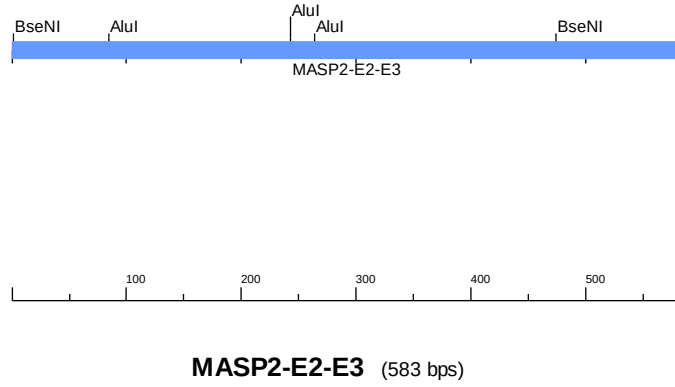


Resim 3.16. MASP2 Ekzon 11 NgoMIV RE ile genotiplendirme (M=50 bç),

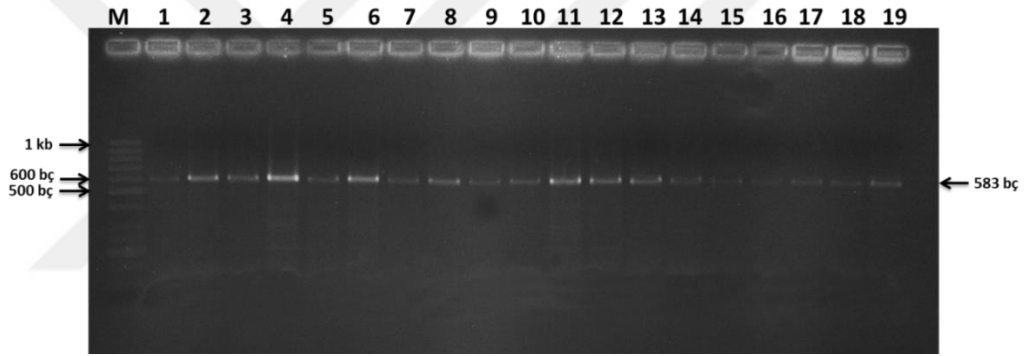
3.4.4. MASP2 Ekzon 2&3 Genotip Sonuçları

MASP2 Ekzon 2&3 bölgesi için yapılan PZR işleminde yaklaşık 583 bç uzunluğunda bir bölge elde edilmiştir (Şekil 3.4). Elde edilen PZR ürünleri sırasıyla *BstU1*, *BsrI*(*BseNI*) ve *AluI* restriksiyon enzimleri ile kesilmesinin ardından elektroforez işlemi yapılmıştır. *MASP2* Ekzon 2&3 bölgesi için *BstU1* ve *AluI* ile yapılan RFLP analizlerinin de, *AluI* RE sonuçlarında ufak farklılıklar gözlemlenmiş olsa da her iki enzim yönünden de homozigot olduğu kabul edilmiştir. *MASP2* geninin Ekzon 2&3 bölgesi *BsrI* restriksiyonu ile elde edilen RFLP sonuçlarına göre ise; üç bölge desenine sahip üç genotip

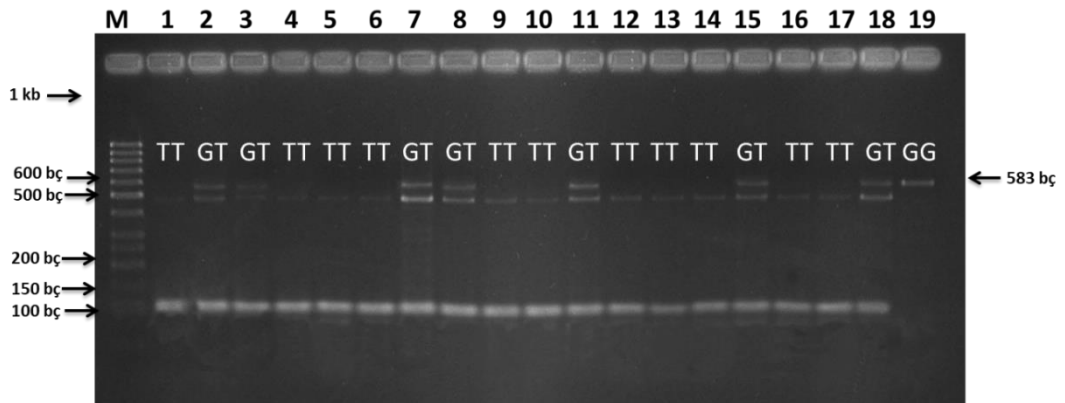
belirlenmiştir. Bu genotipler sırasıyla GG (583 bç), GT (583, 397, 104 ve 82 bç) ve TT (397, 104 ve 82 bç) (Resim 3.18).



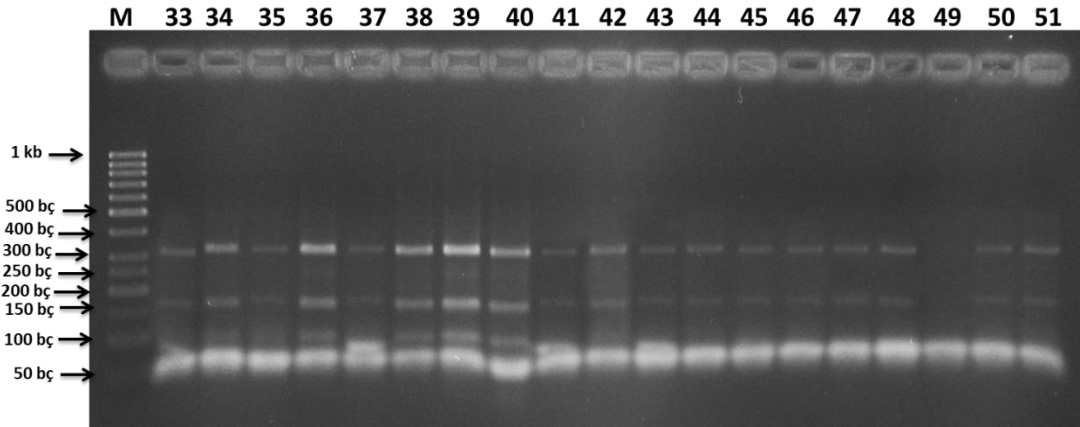
Şekil 3.4 MASP2_ Exon2&3 Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları



Resim 3.17. MASP2 Ekzon 2&3 BstU1 RE ile genotiplendirme (M=50 bç),



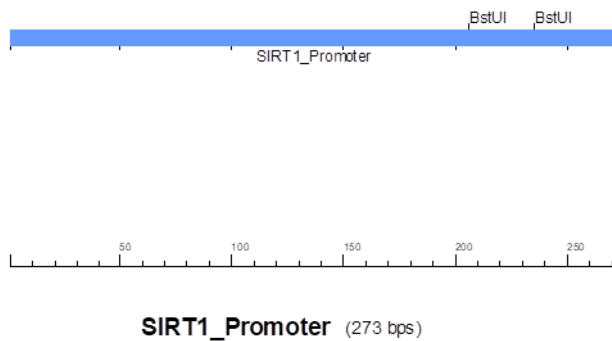
Resim 3.18. MASP2 Ekzon 2&3 BsrI(BseNI) RE ile genotiplendirme (M=50 bç),



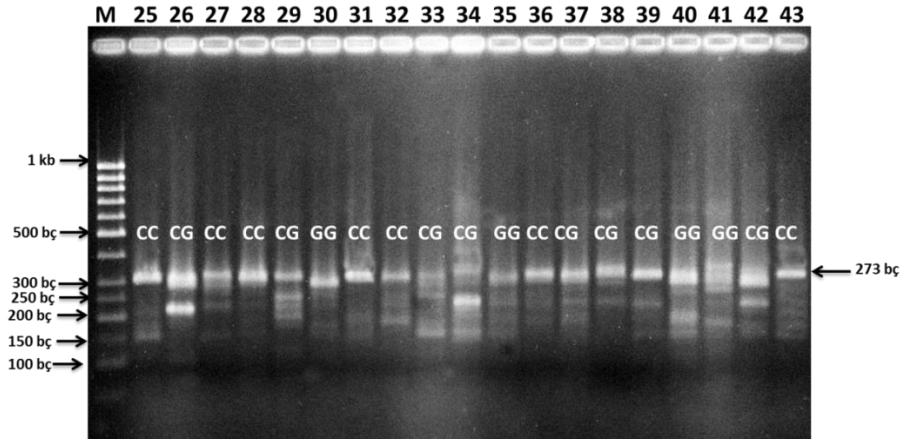
Resim 3.19. MASP2 Ekzon 2&3 AluI RE ile genotiplendirme (M=50 bç)

3.4.5. SIRT1 Promotor bölgesi Genotip Sonuçları

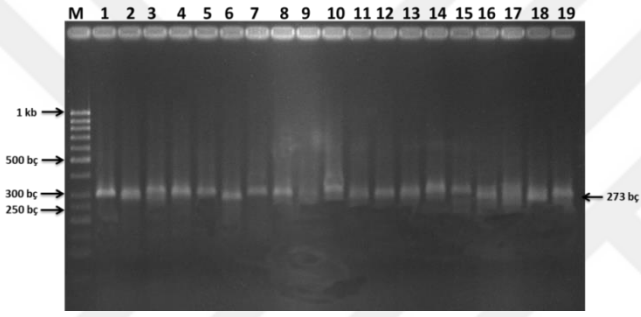
SIRT1 Promotor bölgesi için yapılan PZR işleminde yaklaşık 273 bç uzunluğunda bir bölge elde edilmiştir (Şekil 3.5). Elde edilen PZR ürünleri sırasıyla *SmaI*, *BstUI* ve *AluI* restriksiyon enzimleri ile kesilmesinin ardından elektroforez işlemi yapılmıştır. *SIRT1* Promotor bölgesi için *BstUI* ile yapılan RFLP analizinde kullanılan enzim yönünden de homozigot olduğu kabul edilmiştir. Yine aynı gen bölgesi normal DAN dizi verilerine göre hiçbir şekilde *AluI* ile kesilmezken, bizim çalışmamızda polimorfik bir bölge olarak karşımıza çıkmıştır (Resim 3.22). Çalışma kapsamından genotip analizi için en uygun RE olarak *SmaI* olarak bulunmuştur. *SIRT1* geninin promotör bölgesindeki; C>G SNP lokusu *SmaI* enzimi ile kesilmiş ve Şavak Akkaraman popülasyonunda monomorfik desenler ve CC (273 bp), CG (273, 235 ve 38 bp) ve GG (235 ve 38 bp) polimorfik desenleri ortaya çıkarmıştır (Resim 3.20).



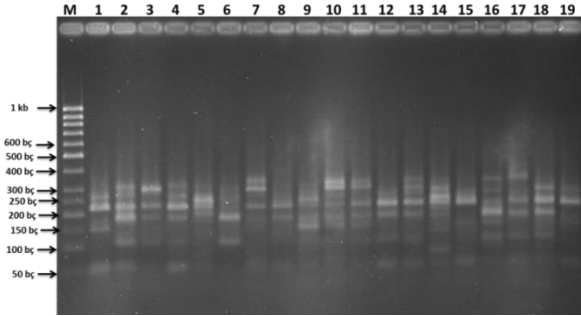
Şekil 3.5 SIRT1_Promoter Restriksiyon endonükleazların kesim noktaları



Resim 3.20. SIRT1 Promotor SmaI RE ile genotiplendirme (M=50 bç)



Resim 3.21. SIRT1 Promotor BstUI RE ile genotiplendirme (M=50 bç)

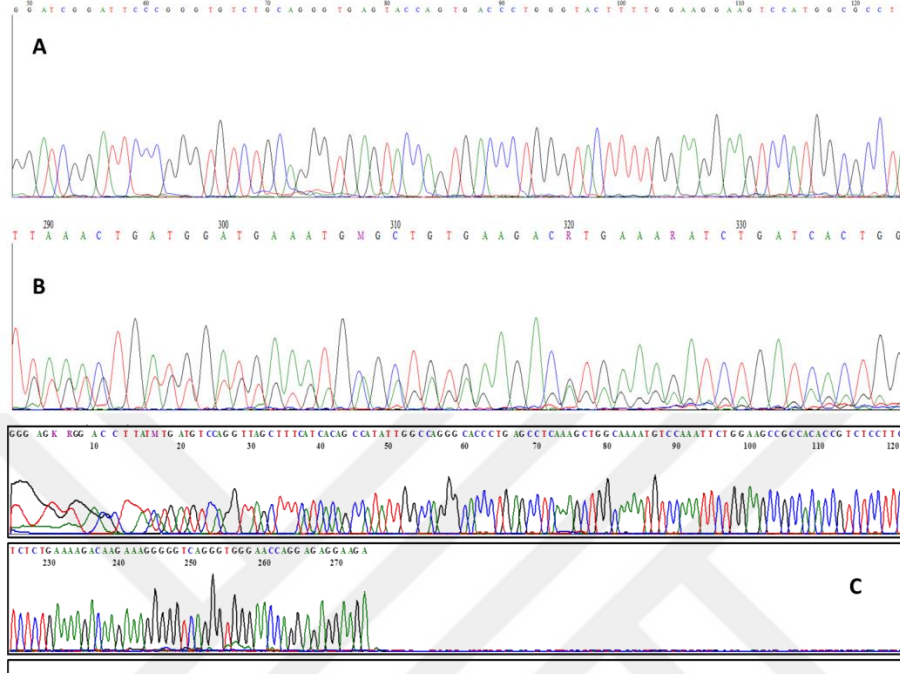


Resim 3.22. SIRT1 Promotor AluI RE ile genotiplendirme (M=50 bç)

3.5 LAP3, MASP2 ve SIRT1 Gen Bölgelerinin DNA dizi sonuçları

Elde Edilen PZR ürünleri LAP3-intron 12 (560 bç), LAP3 ekzon 13 (506 bç), MASP2 ekzon 11 (689 bç), MASP2 ekzon 2&3 (583 bç) ve SIRT1 promotor (273 bç) bölgelerinin her iki zincirinden ileri ve geri primerleri kullanılarak nükleotid dizisi belirlenmiştir. DNA dizilimi hizmet alımı şeklinde KSÜ bünyesinde bulunan Applied

Biosystems 3130xl sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler NCBI blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) kümele analizi yapılarak hedef bölgelerin doğruluğu kanıtlanmıştır.



Şekil 3.6. LAP3 ekzon 13 (506 bç) (A), MASP2 ekzon 11 (689 bç) (B) ve SIRT1 promotor (273 bç) (C) bölgelerinin nükleotid dizisine ait kromatogram görüntüsünün bir kısmı örnek olarak gösterilmiştir.

3.6. LAP3-intron-12, LAP3-Ekzon-13, MASP2-Ekzon-11, MASP2-Ekzon-2&3 ve SIRT1-Promotor Gen Bölgelerinin Alel ve Genotip Frekansları

Tablo 3.2 'da, LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor gen bölgeleri için popülasyon parametreleri, genotipler ve alellerin frekansları gösterilmektedir. LAP3-intron-12; bu bölge, iki alelin (C ve T) dengeli bir dağılımını gösteren en yüksek düzeyde heterozigotluk (%49,43) sergiler. Her iki alel de benzer frekanslara sahiptir (C: %55,33, T: %44,67), bu da her iki alelde de anlamlı bir baskınlık olmadığını düşündürmektedir. 0,50'lik polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri, bu bölgedeki orta derecede genetik çeşitliliğe sahip olduğunu bulduk. LAP3 ekzon 13 bölgesi tam homozigotluk gösterir (%100 AA genotipi), yani tüm bireyler aynı alele sahiptir. Bu bölgede hiçbir genetik varyasyon tespit edilmemiştir. MASP2-ekzon-11; örneklerin çoğunluğu (%68,89) AA genotipine sahiptir, bunu AB (%28,22) ve küçük bir

yüzdeyle de BB (%2,89) izlemektedir. 0,71'lik PIC değeri yüksek genetik çeşitliliği gösterir; A aleli B'ye (%17) kıyasla daha yaygındır (%83). MASP2-ekson-2&3; MASP2-ekson-11'e benzer şekilde, çoğunluk TT genotipine (%57,76) sahiptir, bunu GT (%36,48) ve az miktarda GG (%5,76) şeklinde gözlemlenmiştir. 0,63'lük PIC değeri orta derecede genetik çeşitliliği gösterir; T aleli (%76) G'den (%24) daha yaygındır. SIRT1 promotor bölgesi; orta düzeyde heterozigotluk (%48,72) gösterirken, CC genotipi en sık (%33,64) görülürken, bunu GC (%48,72) ve GG (%17,64) genotipleri izlemektedir. 0,51'lik PIC değeri, orta derecede genetik çeşitliliği gösterir; C aleli, G'ye (%42) kıyasla biraz daha yoğundur (%58).

Tablo 3.2 Şavak Akkaraman koyunlarında LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor gen bölgelerinin genotip ve allel frekansları

Gen Bölgesi	Gen (%)	Genotip	Frekans	Allel Frekansı (%)	Allel	Ne*	IC*
		C	T				
		C	T				
LAP3		4	1				
-intron 12	0.62	9.43	9.95	5.33	4.67	.50	.49
		AA			A		
LAP3		100					
ekzon 13				00		.00	.00
		A	B				
		A	B				
MAS		2	2				
P2 ekzon 11	8.89	8.22	.89	3	7	.71	.28
		G	G				
		T	T				
MAS		3	5				
P2 ekzon 2&3	7.76	6.48	.76	6	4	.63	.36
		G	G				
		C	C				
SIRT		4	1				
1 promotor	3.64	8.72	7.64	8	2	.51	.48

*Ho: homozigotluk; He: heterozigotluk; Ne: Etkin alel sayıları; PIC: polimorfizm bilgi içeriği.

3.7. LAP3-intron-12, LAP3-Ekzon-13, MASP2-Ekzon-11, MASP2-Ekzon-2&3 ve SIRT1-Promotor Gen Bölgelerinin Hardy-Weinberg Dengesi ve Ki-kare Testi

Tablo 3.3 Şavak Akkaraman koyunlarında Hardy-Weinberg Dengesi (HWD) için beş gen bölgesinin analiz sonuçlarını göstermektedir. HWD, popülasyon genetiğinde, evrimsel baskıların olmadığı ideal bir popülasyonda, alel ve genotip frekanslarının nesiller boyunca sabit kalacağını belirten bir ilkedir (Nagylaki, 2013). HWD'den sapmalar, seçim, sürüklenme veya rastgele olmayan çiftleşme gibi evrimsel güçlerin varlığına işaret edebilir (Templeton, 2021). LAP3-intron-12 için gözlenen genotip frekansları, her üç genotip için de HWD altında beklenenlerden önemli ölçüde saptmaktadır (p -değeri $< 0,05$). Bu durum, popülasyonun bu gen bölgesi için genetik dengede olmadığını göstermektedir. Rastgele olmayan çiftleşme veya genetik sürüklenmenin bu bölgeyi etkilemiş olabileceği şekilde yorumlanmıştır. MASP2-ekzon-11 için gözlemlenen genotip frekansları, hem heterozigot hem de homozigot resesif genotipler için HWD altında beklenenlerden önemli ölçüde saptmaktadır (p -değeri $< 0,05$). Bu durum popülasyonun bu gen bölgesi için de genetik dengede olmadığını göstermektedir. Gözlenen ve beklenen genotip frekanslarının eşleşmemesi nedeniyle MASP2-ekzon 11'de Hardy-Weinberg Dengesinden önemli bir sapma vardır. MASP2-ekzon-2&3 için gözlenen genotip frekansları, tüm genotipler için HWD altında beklenenlere çok yakındır (p -değeri > 0.05). Bu durum, popülasyonun bu gen bölgesi için genetik dengede olduğunu göstermektedir. SIRT1-promotor gen bölgesi de Hardy-Weinberg Dengesi içinde görünmektedir; gözlenen ve beklenen frekanslar makul bir uyum göstermektedir

Tablo 3.3 Şavak Akkaraman koyunlarında LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor gen bölgelerinin Hardy-Weinberg Denge analiz sonuçları

Hardy-Weinberg Dengesine göre							
Gen Bölgesi	Gözl emlenen	B eklenen	Gözl emlenen	B eklenen	Gözl emlenen	B eklenen	B
	CC		CT		TT		
LAP3-intron 12	24	4	118	7	8	2	
		5.93		4.15		9.93	
Ki-kare	10.47		25.93		16.07		
	AA						
LAP3			150	1			

ekzon 13		50	
	AA	AB	BB
MAASP2	116	17	17
ekzon 11	03.34	2.33	,34
Ki-kare	1,55	15,16	36,93
	TT	GT	GG
MAASP2	86	56	8
ekzon 2&3	6.64	4.72	,64
Ki-kare	0,00	0,03	0,05
	CC	GC	GG
SIRT1	56	62	32
promotor	0.46	3.08	6.46
Ki-kare	0,61	1,68	1,16

3.8. LAP3-intron-12, LAP3-ekzon-13, MASP2-ekzon-11, MASP2-ekzon-2&3 ve SIRT1-promotor Gen Polimorfizmleri ile Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler

Koyunlar ilk gebeliklerinin ardındaki ilk laktasyon verileri tablo 3.4 'da gösterilmiştir. Elde edilen dataların bir kısmı gösterilmiştir (Tablo 3.3). Diğer Değerler ortalama cinsiden hesaplanarak kullanılmış ve istatistiksel analizler bunun üzerinden yapılmıştır. Tez kapsamında kullanılan Şavak akkaraman 150 koyun örneğinin ortalama süt verimi 664,6 gramdır. Bu çalışmada, Şavak Akkaraman koyunlarında belirli genotipler ile süt verimi arasındaki potansiyel ilişkileri araştırmak için istatistiksel bir analiz olan korelasyon analizi gerçekleştirdik. Analizimiz, belirli genotipler ile süt verimi arasında kayda değer korelasyonlar olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, LAP3-intron-12 genotipi önemli bir pozitif korelasyon sergilemiştir ($r = 0.25$, $p < 0.05$), bu da CC genotipine sahip koyunların CT genotipine sahip olanlara kıyasla daha yüksek miktarda süt üretme eğiliminde olduğunu göstermektedir. LAP3-exon-13 genotipi ile süt verimi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($r = 0.08$, $p > 0.05$). Bu genotipteki varyasyon, süt üretiminde gözlenen farklılıklarla güçlü bir ilişki göstermemiştir. Ek olarak, MASP2-exon-11 genotipi önemli bir negatif korelasyon ($r = -0.20$, $p < 0.05$) göstermiştir; bu da BB genotipine sahip bireylerin AA veya AB genotipine sahip olanlara kıyasla daha düşük miktarda süt ürettiğini göstermektedir. MASP2-exon-2&3 genotipi ile süt verimi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($r = 0.12$, $p > 0.05$). Bu bölgedeki genetik

varyasyonlar süt üretimindeki farklılıklarla güçlü bir ilişki göstermemiştir. SIRT1-promotor- genotipi ile süt verimi arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir ($r = 0.05$, $p > 0.05$). SIRT1 geninin promotor bölgesindeki varyasyonların süt üretiminde gözlenen farklılıkları etkilemediği görülmüştür.

Tablo 3.4 Şavak akkaraman koyunlarına ait süt verim ve genotip verilerinin bir kısmı

	K	Sü	L	L	MA	MAS	SI
	oyun	t	AP3-	AP3-	SP2-ekzon-	P2-ekzon-	RT1-
	K.No	(gr)	intron-12	ekzon-13	11	2&3	promotor
A-1	0077	3 0	84	CT A	A	AA	TT CC
A-2	0668	1 0	86	C C	A A	AA	GT CG
A-3	0693	1 0	66	C C	A A	AA	GT CC
A-4	082	5 0	83	CT A	A	AA	TT CC
A-5	0061	3 0	77	CT A	A	AB	TT CG
A-6	0682	1 0	41	CT A	A	AA	TT GG
A-7	0037	3 0	70	CT A	A	AA	GT CC

Bu çalışmada Savak Akkaraman koyunlarında LAP3-intron-12, LAP3-ekson-13, MASP2-ekson-11, MASP2-ekson-2&3 ve SIRT1-promoter olmak üzere beş gen bölgesi kullanılarak genetik çeşitlilik ve süt verimi araştırılmıştır. Sonuçlar genetik çeşitlilikte önemli farklılıklar ortaya çıkarmıştır ve genotipler ile süt verimi arasındaki potansiyel ilişkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışılan genler arasında LAP3-intron-12, en yüksek düzeyde heterozigotluk (%49,43) ve orta derecede genetik çeşitlilik (PIC değeri 0,50)

sergiledi. İlginç bir şekilde, bu bölge Hardy-Weinberg Dengesinden (HWD) önemli ölçüde saptı; bu da rastgele olmayan çiftleşme veya genetik sürüklenmenin popülasyon dinamiklerini etkileyebileceği şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca, LAP3-intron-12 CC genotipi ile süt verimi arasında pozitif bir korelasyon ($r = 0.25$, $p < 0.05$) gözlenmiştir; bu, bu genotipe sahip koyunların CT genotipine sahip koyunlara kıyasla daha fazla süt ürettiğini göstermektedir. Bu bulgu, diğer ırklar üzerinde yapılan önceki çalışmalarla uyumludur ve LAP3-intron-12'nin koyunlarda süt üretimi seçimi için bir belirteç olma potansiyelini vurgulamaktadır (He ve diğerleri, 2011; Worku ve diğerleri, 2022). Buna karşılık, LAP3-ekzon-13 bölgesi tam homozigotluk (%100 AA genotipi) gösterdi; bu da herhangi bir genetik varyasyona ve süt verimiyle hiçbir ilişkisi olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Bu bulgu, seçim baskısının Savak Akkaraman popülasyonunda bu bölgeyi homojenleştirmiş olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde SIRT1-promoter bölgesi de orta düzeyde heterozigotluk (%48,72) sergilemiş ve HWD'de bulunmuştur ancak süt verimi ile anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, SIRT1 promotor bölgesinde genetik çeşitlilik mevcut olsa da, sığır ve yak üzerinde yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak bu koyun ırkında süt üretimiyle doğrudan bağlantılı olmayabileceğini göstermektedir (Linsheng ve ark., 2019; Gui ve ark., 2020). MASP2-ekson-11 ve MASP2-ekson-2&3 bölgeleri zıt modeller olarak ortaya çıkmıştır. MASP2-ekson-11, yüksek genetik çeşitlilik (PIC değeri 0,71) sergilemiştir; AA genotipi en sık görülenidir (%68,89). Ancak HWD'den sapmış ve potansiyel seçim baskılarına işaret etmiştir. İlginç bir şekilde, BB genotipi ile süt verimi arasında negatif bir korelasyon ($r = -0.20$, $p < 0.05$) gözlenmiştir; bu, bu genotipe sahip bireylerin AA veya AB genotiplerine kıyasla daha düşük süt ürettiğini göstermektedir. Bu bulgu, MASP2-ekson-11'in daha düşük süt üretim potansiyeline sahip koyunları tanımlamak için potansiyel bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Bunun tersine, MASP2-ekson-2&3 orta derecede genetik çeşitlilik sergilemiştir (PIC değeri 0,63). MASP2-ekson-2&3 HWD'de ve süt verimiyle anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır. Bu durum, bu bölgedeki genetik varyasyonların Savak Akkaraman koyunlarındaki süt üretimiyle doğrudan bağlantılı olmayabileceğini düşündürmektedir. Tez kapsamında çalışılan gen bölgeleri ile ilgili koyun ırkında yeterli verilerin olmamasından dolayı büyük başlardaki benzer gen bölgeleri ile açıklanmaya çalışılmıştır. LAP3 ve SIRT1 genlerindeki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) ile çeşitli süt üretim özellikleri için tahmini damızlık değerleri arasındaki ilişki analizi, Sahiwal ve Karan Fries sığırlarına odaklanılarak yürütüldüğü bir çalışmada (Worku ve

ark., 2022), özellikle, Sahiwal ineklerindeki SNP rs41255599: C>T, LMY, 305dMY, 305dFY, 305dSNFY ve LL dahil olmak üzere emzirme özellikleri için EBV'lerle önemli ilişkiler (p değeri = 0,0425–0,0001) gösterdi. Bu SNP'nin CT genotipi tüm özellikler arasında en yüksek süt verim özelliğini sergilemiştir; bu da T alelinin bu popülasyonda süt üretimi için üstün genetik değerle bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır. Bunun aksine, diğer iki SNP, Sahiwal ineklerinde süt verimi üzerinde anlamlı etkiler göstermedi (p değerleri >0,05). Karan Fries ineklerinde, aynı gen içindeki rs110932626: A>G ve rs43702363: C>T SNP'leri 305dMY özelliğini önemli ölçüde etkilemiştir (p = 0.0302), GG ve TT genotipleri AG ve CT genotiplerine kıyasla gelişmiş performansla ilişkilendirilmiştir. Zheng ve arkadaşlarının daha önceki çalışmaları. (2011) ve Ju ve ark. (2012), sığırlarda LAP3 geni SNP'leri ile protein ve yağ yüzdeleri arasındaki ilişkileri belirtmiştir. Ek olarak Ogorevc ve ark. (2009), Khatkar ve ark. (2004) ve Olsen ve ark. (2005), LAP3'ü kapsayan sığır kromozomu 6'da süt üretimi özellikleri için QTL'nin varlığını desteklemektedir. Özellikle LAP3'ün oksitosin hidrolizine katılımı, süt performansı özelliklerindeki önemine güven katıyor. Toplu olarak bu bulgular, LAP3'ün süt sığırlarında emzirme performansını etkileyen önemli bir gen olarak adaylığının altını çiziyor. Zheng ve ark., (2011), LAP3 geninin intron 12 ve ekson 13'ündeki beş SNP üzerinde çalışmış ve SNP g.25415T>C'nin protein yüzdesi ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca Ju ve ark. (2012), sığır PEPS (LAP3) geninin promotor bölgesinde, bu çalışmada tanımlanan SNP lokusu dışında iki yeni SNP bildirmiş ve bu SNP'lerin kombine analizinde, g. -534T>C ve g.-2545G>A, Çin Holştayn sığırlarında yağ yüzdesi ve SHS özellikleriyle belirgin şekilde anlamlı düzeyde ilişkiliydi. Tüm bunların ışığında, incelenen ırkların süt üretim özelliklerinin LAP3 geninin 6. kromozomundaki QTL etkilerinden etkilendiği düşünülmektedir. Ogorevc ve ark. (2009) ve Khatkar ve ark. (2004), BTA6'da süt üretim özellikleri için bir veya daha fazla QTL'nin varlığını göstermiştir. LAP3 genini de içeren altı süt üretimi aday genini içeren bir QTL, sığır kromozomu 6 üzerindeki 420 kb'lik bir bölgeye haritalandı (Olsen ve ark., 2005; Bongiorno ve ark., 2012) oksitosin hidrolizinde görev alan LAP3 geninin bu bölgede yer aldığı kromozom 6 üzerinde 37,8 ile 38,7 Mb arasında en güçlü sinyali tespit etmişlerdir. Başka bir kanıt, QTL'ye yakın olan LAP3 geninin süt performansı özelliklerinde önemli bir rol oynadığını iddia etmektedir (Cohen-Zinder ve ark., 2005; Sheely ve ark., 2009). Bu tür veriler, LAP3 geninin süt sığırlarında süt üretim özellikleri için önemli bir aday gen olabileceğini açıkça ortaya koymuştur. Mastitis direncinin koyunlarda az çalışan bir

konudur, özellikleri süt ineklerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Mastitis direnci çok saydaki doğuştan gelen bağışıklık genleri tarafından düzenlenir. Bunlar arasında lektin yolu önemli bir bileşendir. Birçok çalışma, kompleman genlerindeki lektin yolunun SNP'lerinin mastitis direncine farklı yanıtlarla ilişkisini göstermiştir. Örneğin, mannan bağlayıcı lektin 1, mannan bağlayıcı lektin 2 ve kompleman C4 genlerindeki mutasyonlar, Çin Holştayn sığırlarında mastitis direnci ile ilişkilendirilmiştir (Zhao ve ark., 2012). Ayrıca MASP2, lektin yolunun bir başka merkezi proteazıdır. Wu ve ark., (2015), MASP2'nin üçüncü ekzonunda (CUB1 alanı) SNP'yi (G553A) tespit etmiş ve Çin Holştayn sığırlarında bu SNP ile SHS (somatik hücre sayısı) arasındaki ilişkiyi analiz etmişlerdir. GG genotipine sahip ineklerin diğer genotiplere sahip ineklere göre önemli ölçüde daha düşük SHS'ye sahip olduğunu göstermişlerdir. Tez kapsamında belirlediğimiz gen mutasyonlarının mastitis gibi hastalıklar ile ilişkisini göstermemiz için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışma Şavak Akkaraman koyunlarında genetik çeşitlilikte önemli farklılıklar ve genotipler ile süt verimi arasındaki potansiyel ilişkileri tespit etmiştir. LAP3-intron-12, süt üretimi seçimi için umut verici bir belirteç olarak ortaya çıkarken, MASP2-exon-11, daha düşük süt üretim potansiyeline sahip koyunların belirlenmesinde faydalı olabilir. Bu bulguları daha büyük popülasyonlarda doğrulamak ve bu genlerin süt üretimi düzenlemesinde altta yatan işlevsel mekanizmalarını araştırmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ek olarak, diğer genlerin araştırılması ve çevresel faktörlerin dahil edilmesi, Şavak Akkaraman koyunlarında süt veriminin karmaşık genetik mimarisinin daha kapsamlı anlaşılmasını sağlayabilir.

5. KAYNAKLAR

- Aitken, S. L., Corl, C. M., Sordillo, L. M.,** 2011. Immunopathology of mastitis: Insights into disease recognition and resolution. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16, 291–304.
- Akter, S., Rahman, M. M., Sayeed, M. A., Islam, M. N., Hossain, D., Hoque, M. A., Koop, G.,** 2020. Prevalence, aetiology and risk factors of subclinical mastitis in goats in Bangladesh. *Small Ruminant Research*, 184, 106046.
- Al-Atiyat R.M., Aljumaah R.S., Alshaikh M.A., Abudabos A.M.,** 2018. Microsatellite-Based Genetic Structure and Diversity of Local Arabian Sheep Breeds. *Frontiers in Genetics*, 9:408. doi: 10.3389/fgene.2018.00408.
- Anonim,** 2024. <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/sheep-population-by-country>.
- Banos, G., Bramis, G., Bush, S. J., Clark, E. L., McCulloch, M. E., Smith, J., Psifidi, A.,** 2017. The genomic architecture of mastitis resistance in dairy sheep. *BMC genomics*, 18: 1-18.
- Banos, G., Bramis, G., Bush, S. J., Clark, E. L., McCulloch, M. E. B., Smith, J., Psifidi, A.,** 2017. The genomic architecture of mastitis resistance in dairy sheep. *BMC genomics*, 18(1), 1-18.
- Barillet F.,** 2007. Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 2007;70(1):60–75.
- Beninga, J., Rock, K.L., Goldberg, A.L.,** 1998. Interferon- γ can stimulate post-proteasomal trimming of the N-terminus of an antigenic peptide by inducing leucine aminopeptidase. *Journal of Biological Chemistry (JBC)* 273, 18734–18742
- Bergonier, D., De Cr  moux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X.,** 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary research*, 34(5), 689-716.
- Bergonier, D.; Berthelot, X.,** 2003 New Advances in Epizootiology and Control of Ewe Mastitis. *Livestock production science*; 79, 1–16.
- Bergonier, Dominique, Ren  e De Cr  moux, Rachel Rupp, Gilles Lagriffoul, Xavier Berthelot,** 2003. "Mastitis of dairy small ruminants." *Veterinary research* 34, no. 5 : 689-716. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003030>
- Berthelot X, Lagriffoul G, Concordet D, Barillet F, Bergonier D.,** 2006. Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. *Small ruminant research*. Mar 1; 62(1-2):27-31. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.047>
- Bibert, S., Piret, J., Quinodoz, M., Collinet, E., Zoete, V., Michielin, O., ... Bochud, P. Y.,** 2019. Herpes simplex encephalitis in adult patients with MASP-2 deficiency. *PLoS pathogens*, 15(12), e1008168.
- Boldt, A. B. W., Beltrame, M. H., Catarino, S. J., Meissner, C. G., Tizzot, R., Messias-Reason, I. J.,** 2016. A dual role for Mannan-binding lectin-associated serine protease 2 (MASP-2) in HIV infection. *Molecular Immunology*, 78, 48-56.

- Brito LF, Clarke SM, McEwan JC, Miller SP, Pickering NK, Bain WE.,** 2017. Prediction of genomic breeding values for growth, carcass and meat quality traits in a multi-breed sheep population using a HD SNP chip. *bmc genetics impact factor*;18(1):7. pmid:28122512
- Castelo-Branco, C., Soveral, I.,** 2014. The immune system and aging: a review. *Gynecological Endocrinology*, 30(1), 16-22.
- Chaplin, D. D.,** 2010. Overview of the immune response. *Journal of allergy and clinical immunology*, 125(2), S3-S23.
- Chen, M., Liang, Y., Li, W., Wang, M., Hu, L., Abuaku, B. K., ... Wen, S. W.,** 2015. Impact of MBL and MASP-2 gene polymorphism and its interaction on susceptibility to tuberculosis. *BMC Infectious Diseases*, 15, 1-6.
- Chessa B., Pereira F., Arnaud F., Amorim A., Goyache F.,** 2009. Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science*, 324:532–536.
- Clark, E. L., Bush, S. J., McCulloch, M. E., Farquhar, I. L., Young, R., Lefevre, L., ... Hume, D. A.,** 2017. A high resolution atlas of gene expression in the domestic sheep (*Ovis aries*). *PLoS genetics*, 13(9), e1006997.
- Cohen, H. Y., Miller, C., Bitterman, K. J., Wall, N. R., Hekking, B., Kessler, B., ... Sinclair, D. A.,** 2004. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*, 305(5682), 390-392.
- Cohen, H. Y., Miller, C., Bitterman, K. J., Wall, N. R., Hekking, B., Kessler, B., Howitz, K. T., Gorospe, M., de Cabo, R., Sinclair, D. A.,** 2004. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *American Association for the Advancement of Science*, 305, 390–392.
- Contreras A., Sierra D., S´anchez A., Corrales JC., Marcoc JC., Paape MJ., Gonzalo C.,** 2007. Mastitis In Small Ruminants, *Small Rumin Res* 68:145–153.
- Contreras, A., Duque Sierra, Antonio Sánchez, Julio César Corrales, J. C., Marco, M. J., Paape, Clemente Gonzalo.,** 2007. "Mastitis in small ruminants." *Small Ruminant Research* 68, no. 1-2 (2007): 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.Smallrumres.2006.09.011>
- Croft A., Duffield T., Menzies P., Leslie K., Bagg R. and Dick P.,** 2000. The Effect Of Tilmicosin Administered To Ewes Prior To Lambing On Incidence of Clinical Mastitis And Subsequent Lamb Performance, *Can Vet J* 41:306–311.
- Crombé, P., Aluwé, K., Boudin, M., Snoeck, C., Messiaen, L., Teetaert, D.,** (2020). New evidence on the earliest domesticated animals and possible small-scale husbandry in Atlantic NW Europe. *Scientific reports*, 10 (1), 20083.
- Cruvinel, W. D. M., Mesquita Júnior, D., Araújo, J. A. P., Catelan, T. T. T., Souza, A. W. S. D., Silva, N. P. D., Andrade, L. E. C.,** (2010). Immune system: Part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. *Revista brasileira de reumatologia*, 50, 434-447.

- Deards, B., Leith, R., Mifsud, C., Murray, C., Martin, P., Gleeson, T., 2014.** *Live export trade assessment*. ABARES Report to Client Prepared for the Live Animal Exports Reform Taskforce of the Department of Agriculture.
- Deniskova T., Dotsev A., Lushihina E., Shakhin A., Kunz E., Medugorac I., Reyer H., Wimmers K., Khayatzadeh N., Sölkner J., Sermyagin A., Zhunushev A., Brem G. And Zinovieva N., 2019.** Population Structure and Genetic Diversity of Sheep Breeds in the Kyrgyzstan. *Frontiers in Genetics* 10:1311. doi: 10.3389/fgene.2019.01311
- Ertuğrul M., Dellal G., Elmaci C., Akin AO., Pehlivan E., Soysal MI., Arat., 2010.** Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının kullanılması ve sürdürülebilir kullanımı. *Türk Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, 11-15 Ocak 2010, 179-198 pp.
- Ertuğrul M., Dellal G., Soysal IM, Elmaci C., Akin O., Arat S., Baritci I., Pehlivan E., Yılmaz, O., 2009.** Türkiye yerli koyun ırklarının korunması. *Uludağ Univ Ziraat Fak Dergisi* 23, 97-119.
- Fang, L., Sahana, G., Su, G., Yu, Y., Zhang, S., Lund, M. S., Sørensen, P., 2017.** Integrating sequence-based GWAS and RNA-Seq provides novel insights into the genetic basis of mastitis and milk production in dairy cattle. *Scientific Reports*, 7, 45560
- Fariello M-I., Servin B., Tosser-Klopp G., Rupp R., Moreno C., International Sheep Genomics Consortium, 2014.** Selection Signatures in Worldwide Sheep Populations. *PLoS ONE* 9, e103813. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.010381>
- Fthenakis, G.C., Jones, J.E.T., 1990.** The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. *The British veterinary journal*. 146. 43-9. 10.1016/0007-1935(90)90075-E.
- Ghinishozumi, Y., Gonzálezgallardo, A., Gonzálezdávalos, L., Antaramian, A., Villarroya, F., Shimada, A., Varelaechavarria, A., Mora, O., 2011.** Bovine Sirtuins: Initial characterization and expression of Sirtuins 1 & 3 in liver, muscle & adipose tissue. *Journal of Animal Science*, 89, 2529.
- Giadinis, Nektarios, Arsenos, Georgios, Tsakos, P., Psychas, V., Dovas, Chrysostomos, Papadopoulos, Elias, Karatzias, H., Fthenakis, G., 2012.** “Milk-drop syndrome of ewes”: Investigation of the causes in dairy sheep in Greece. *Small Ruminant Research*. 106. 33-35. 10.1016/j.smallrumres.2012.04.018.
- Goeldner, I., Skare, T., Boldt, A. B., Nass, F. R., Messias-Reason, I. J., Utiyama, S. R., 2014.** Association of MASP-2 levels and MASP2 gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in patients and their relatives. *PLoS One*, 9 (3), e90979.
- Gonzalo C., Ariznabarreta A., Carriedo JA., San Primitivo F., 2002.** Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of dairy science* ;85(6):1460–7.
- Gouveia, J. J. D. S., Silva, M. V. G. B. D., Paiva, S. R., Oliveira, S. M. P. D., 2014.** Identification of selection signatures in livestock species. *Genetics and molecular biology*, 37, 330-342.

- Gui, L. S., Raza, S. H. A., Zhou, L., Garcia, M., Abd El-Aziz, A. H., Wei, D., ... Wang, Z.,** 2020. Association between single nucleotide polymorphisms in SIRT1 and SIRT2 loci and growth in Tibetan sheep. *Animals*, 10(8), 1362.
- Hayes BJ, Lewin HA, Goddard ME.,** 2013. The future of livestock breeding: genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptation. *Trends in Genetics*.29(4):206–14. doi.org/10.1016/j.tig.2012.11.009. pmid:23261029
- He, Y., Chu, Q., Ma, P., Wang, Y., Zhang, Q., Sun, D., ... Zhang, Y.,** 2011. Association of bovine CD4 and STAT5b single nucleotide polymorphisms with somatic cell scores and milk production traits in Chinese Holsteins. *Journal of dairy research*, 78(2), 242-249.
- Heringstad B, Rekaya R, Glanola D, Klemetsdal G, Welgel KA.,** 2003. Genetic change for clinical mastitis in Norwegian cattle: a threshold model analysis. *Journal of dairy science* ;86(1):369–75.
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., Janke, A.,** 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269(1494), 893-904.
- Jensen HE, Espinosa De Los Monteros A, Carrasco L.,** 1996. Caprine Mastitis Due To Aspergillosis And Zygomycosis: A Pathological And Immunohistochemical Study, *J Comp Pathol* 114:183–191.
- Ju, Z., Zheng, X.,Huang, J., Qi, C., Zhang, Y., Li, J., Zhong, J.,Wang, C.,** 2012. Functional characterization of genetic polymorphisms identified in the promoter region of the bovine PEPS gene. *DNA Cell Biology*, 31(6), 1038–1045.
- Kahinda, C. T. M.,** 2021. Mastitis in small ruminants. *London, UK: IntechOpen*.
- Kasanmoentalib, E. S., Valls Seron, M., Ferwerda, B., Tanck, M. W., Zwinderman, A. H., Baas, F., ... van de Beek, D.,** 2017. Mannose-binding lectin-associated serine protease 2 (MASP-2) contributes to poor disease outcome in humans and mice with pneumococcal meningitis. *Journal of neuroinflammation*, 14, 1-10.
- Kaymakçı M.,** 2008. Türkiye koyunculığında melezleme çalışmaları. *Hayvansal Üretim* 49, 43-51.
- Kijas J.W., Lenstra J.A., Hayes B., Boitard S., Porto Neto L.R., San Cristobal M., Servin B., McCulloch R., Whan V., Gietzen K., Paiva S., BarendseW., Ciani E., Raadsma H, McEwan J, Dalrymple B. and International Sheep Genomics Consortium,** 2012. Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. *PLoS Biology* 10, [https://doi: 10.1371/journal.pbio.1001258](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258).
- Kim, S. R., Lee, K. S., Park, S. J., Min, K. H., Choe, Y. H., Moon, H., ... Lee, Y. C.,** 2010. Involvement of sirtuin 1 in airway inflammation and hyperresponsiveness of allergic airway disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 449-460.
- Kiossis E, Brozos CN, Petridou E, Boscós C.,** 2007. Program for the control of subclinical mastitis in dairy Chios breed ewes during lactation. *Small Ruminant Research*. Nov 1: 73(1-3):194-199. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.01.021>

- Kloetzel, P.M., and Ossendorp, F.,** 2004. Proteasome and peptidase function in MHC-class-I-mediated antigen presentation. *Curr opin immunol impact factor* 16, 76–81
- Knuth, R. M., Stewart, W. C., Taylor, J. B., Yeoman, C. J., Bisha, B., Page, C. M., Rowley, C. M., Lindsey, B. C., Van Emon, M. L., Murphy, T. W.,** 2019. Subclinical mastitis in sheep: etiology and association with milk somatic cell count and ewe productivity in three research flocks in the Western United States. *Translational animal science*, 3(Suppl 1), 1739-1743. <https://doi.org/10.1093/tas/txz078>
- Koban E.,** 2004. Genetic diversity of native and crossbreed sheep breeds in Anatolia. *The Graduate School of Natural and Applied Sciences, PhD Thesis, Middle East Technical University.*
- Kristensen T.N., Hoffmann A.A., Pertoldi C. and Stronen A.V.,** 2015. What can livestock breeders learn from conservation genetics and vice versa? *Frontiers in Genetics* 6, 38. doi:10.3389/fgene.2015.00038.
- Lee JW, Bannerman DD., Paape MJ., Huang MK., Zhao X.,** 2006. Characterization of cytokine expression in milk somatic cells during intramammary infections with *Escherichia Coli* or *Staphylococcus Aureus* by real-time PCR. *Veterinary Research Communications* ;37(2):219–29.
- Li, Z., Wang, M., Zhong, H., Huang, X., Wu, X., Zhang, X., ... Tan, H.,** 2021. Impact of MASP2 gene polymorphism and gene-tea drinking interaction on susceptibility to tuberculosis. *Scientific Reports*, 11(1), 6544.
- Li, Z., Wang, M., Zhong, H., Huang, X., Wu, X., Zhang, X., ... Tan, H.,** 2021. Impact of MASP2 gene polymorphism and gene-tea drinking interaction on susceptibility to tuberculosis. *Scientific Reports*, 11(1), 6544.
- Libera, K., Konieczny, K., Grabska, J., Smulski, S., Szczerbal, I., Szumacher-Strabel, M., Pomorska-Mól, M.,** 2021. Potential novel biomarkers for mastitis diagnosis in sheep. *Animals*, 11(10), 2783.
- Linsheng, G. U. I., Yonggang, S. U. N., Yincang, H. A. N.,** 2019. SNPs Detected in the SIRT1 and H-FABP Genes and Their Association with Growth Traits in Yak. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(5).
- Liu, G., Bi, Y., Xue, L., Zhang, Y., Yang, H., Chen, X., ... Yang, R.,** 2015. Dendritic cell SIRT1–HIF1 α axis programs the differentiation of CD4⁺ T cells through IL-12 and TGF- β 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(9), E957-E965.
- Locke, R., O'Connor, J.,** 2017. Sheepmeat's unique global position. *Report for the Meat , Livestock Australia.* Report.
- Mackay, I. R., Rosen, F. S., Delves, P. J., Roitt, I. M.,** 2000. The immune system. *N engl j med impact factor* 343(1), 37-49.
- Mallard BA., Emam M., Paibomesai M., Thompson-Crispi K., WagterLesperance L.,** 2015. Genetic selection of cattle for improved immunity and health. *Japanese Journal of Veterinary Research* 63(1): 37-44.

- Manzari Z., Mehrabani-Yeganeh H., Nejati-Javaremi A., Moradi MH and Gholizadeh M.,** 2019. Detecting selection signatures in three Iranian sheep breeds. *Animal Genetics* 50, 298- 302. doi: 10.1111/age.12772.
- MARA/FAO,** 2001. Agriculture in Turkey, Güzeliş Ltd. *Ankara*, 231. (ISBN 975-8153-00-5).
- Marino R, Atzori AS., D'Andrea M., Iovane G., Trabalza-Marinucci M., Rinaldi L.,** 2016. Climate change: Production performance, health issues, greenhouse gas emissions and mitigation strategies in sheep and goat farming. *Small Ruminant Research* ;135:50–9.
- Marogna, G., Rolesu, S., Lollai, S., Tola, S., Leori, G.,** 2010. Clinical Findings in Sheep Farms Affected by Recurrent Bacterial Mastitis. *Small Ruminant Research*, 88, 119–125.
- Marshall, J. S., Warrington, R., Watson, W., Kim, H., L.,** 2018. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 14(2), 1-10.
- Mason IL.,** 1996. A world dictionary of livestock breeds, types and varieties (4th Edition). *CAB International: Wallingford, UK*, 496 pp.
- Mason IL.,** 1996. A world dictionary of livestock breeds, types and varieties (4th Edition). *CAB International: Wallingford, UK*, 496 pp.
- Matsui, M., Fowler, J. H., Walling, L.L.,** 2006. Leucine aminopeptidases: Diversity in structure and function. *Biological Chemistry*, 387(12), 1535–1544.
- McRae K.M., McEwan J.C., Dodds K.G.,** 2014. Signatures of selection in sheep bred for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics* 15, 637 <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-637>.
- Meadows J. R., Li K., Kantanen J., Tapio M., Sipos W., Pardeshi V.,** 2005. Mitochondrial sequence reveals high levels of gene flow between breeds of domestic sheep from Asia and Europe. *Journal Heredity* 96, 494–501.
- Meadows, J. R. S., Hiendleder, S., Kijas, J. W.,** 2011. Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106(4), 700-706.
- Metchnikoff, E.,** 1887. Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1(321).
- Muthuchelvan, D., Rajak, K. K., Ramakrishnan, M. A., Choudhary, D., Bhadouriya, S., Saravanan, P., ... Singh, R. K.,** 2015. Peste-des-petits-ruminants: An Indian perspective. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3(8), 422-429.
- Mwangi J.G.,** 2013. Developing a vibrant livestock industry in East Africa through market driven research. *Journal of US-China Public Administration* 10, 608-617.
- Nagylaki, T.,** 2013. Introduction to theoretical population genetics (Vol. 21). *Springer Science and Business Media*.

- Ogorevc, J., Kunej, T., Razpet, A., Dovc, P.,** 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*, 40(6), 832–85
- Olechnowicz, J., Jaśkowski, J.M.,** 2014. Mastitis in Small Ruminants. *Medycyna Weterynaryjna*. 70, 67–72.
- O'Neill, L. A., Hardie, D. G.,** 2013. Metabolism of inflammation limited by AMPK and pseudo-starvation. *Nature*, 493(7432), 346–355.
- Paim, T. D. P., Ianella, P., Paiva, S. R., Caetano, A. R., Pimentel, C. M. M.,** 2018. Detection and evaluation of selection signatures in sheep. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53, 527–539.
- Parkin, J., Cohen, B.,** 2001. An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270), 1777–1789.
- Paul, S., El Bethel Hmar, H. K. S.,** 2020. Strengthening immunity with immunostimulants: a. *Current Trends in Pharmaceutical Research*, 7(1).
- Plummer PJ and Plummer C.,** 2011. Diseases of the Mammary Gland in Sheep And Goat Medicine 2nd Ed., Pugh-Baird Editors. *Elsevier*, August 2011.
- Pugh, D. G., Baird, N. N.,** 2011. *Sheep ... Goat medicine-E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Pulina, G., Milán, M.J., Lavín, M.P., Theodoridis, A., Morin, E., Capote, J., Thomas, D.L., Francesconi, A.H.D., Caja, G.,** 2018. Invited Review: Current Production Trends, Farm Structures, and Economics of the Dairy Sheep and Goat Sectors. *J. Dairy Sciences* 101, 6715–6729.
- Pulina, G., Milán, M.J., Lavín, M.P., Theodoridis, A., Morin, E., Capote, J., Thomas, D.L., Francesconi, A.H.D., Caja, G.,** 2018. Invited Review: Current Production Trends, Farm Structures, and Economics of the Dairy Sheep and Goat Sectors. *J. Dairy Sciences*. 101, 6715–6729.
- Rochus C. M., Jonas E., Johansson A.M.,** 2020. Population structure of five native sheep breeds of Sweden estimated with high density SNP genotypes. *BMC Genetics* 21, 27 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12863-020-0827-8>.
- Rodgers, J. T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M., Puigserver, P.,** 2005. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature*, 434(7029), 113–118.
- Ruegg, P.L.,** 2011. Mastitis in Small Ruminants. *AABP proceedings* . 44, 9.
- Ruiz-Larrañaga, O., Langa, J., Rendo, F., Manzano, C., Iriondo, M., Estonba, A.,** 2018. Genomic selection signatures in sheep from the Western Pyrenees. *Genetics Selection Evolution*, 50(1), 1–12.
- Rupp R., Boichard D.,** 2003. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research Communications* ;34(5):671–88.
- Sönmez R.,** 1975. Özel zootekni. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 141*, İzmir, 228 pp.

- Sönmez R.**, 1978. Koyunculuk ve yapağı. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 108*, İzmir, 388 pp.
- Sönmez R.**, 2009. Türkiye koyun ıslahı çalışmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergi* 23, 43-65.
- Stoltze, L., Schirle, M., Schwarz, G., Schroter, C., Thompson, M.W., Hersh, L.B., Kalbacher, H., Stevanovic, S., Rammensee, H.G., Schild, H.**, 2000. Two new proteases in the MHC class I processing pathway. *Nature immunology* 1, 413–418.
- Taberlet, P., Valentini, A., Rezaei, H. R., Naderi, S., Pompanon, F., Negrini, R., Ajmone-Marsan, P.**, 2008. Are cattle, sheep, and goats endangered species?. *Molecular ecology*, 17(1), 275-284.
- TAGEM**, 2009. Türkiye çiftlik hayvanları genetik kaynakları kataloğu. *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü*, Ankara, 96 p.
- Templeton, A. R.**, 2021. Population genetics and microevolutionary theory. *John wiley sons revenues statistics*.
- Thiel, S., Kolev, M., Degn, S., Steffensen, R., Hansen, A. G., Ruseva, M., Jensenius, J. C.**, 2009. Polymorphisms in mannan-binding lectin (MBL)-associated serine protease 2 affect stability, binding to MBL, and enzymatic activity. *The Journal of Immunology*, 182(5), 2939-2947.
- Tisdell, C.**, 2003. Socioeconomic causes of loss of animal genetic diversity: analysis and assessment. *Ecological Economics*, 45(3), 365-376.
- Towne, C.F., York, I.A., Neijssen, J., Karow, M.L., Murphy, A.J., Valenzuela, D.M., Yancopoulos, G.D., Neefjes, J.J., Rock, K.L.**, 2005. Leucine aminopeptidase is not essential for trimming peptides in the cytosol or generating epitopes for MHC class I antigen presentation. *Journal of Immunology Research*. 175, 6605–6614.
- TÜİK.**,2024, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-Haziran-2023-49680>
- Tulio, S., Faucz, F. R., Werneck, R. I., Olandoski, M., Alexandre, R. B., Boldt, A. B., ... de Messias-Reason, I. J.**, 2011. MASP2 gene polymorphism is associated with susceptibility to hepatitis C virus infection. *Human immunology*, 72(10), 912-915.
- Turvey, S. E., Broide, D. H.**, 2010. Innate immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S24-S32.
- TÜRKHAYGEN-I** , 2011. *TÜRKHAYGEN-I Projesi* (www.turkhaygen.gov.tr, accessed on 07.10.2011).
- Türkiye İstatistik Kurumu**, 2010. *Hayvancılık istatistikleri* (<http://www.turkstat.gov.tr>, accessed on 23.12.2010).
- Wang, J., Zhao, C., Kong, P., Sun, H., Sun, Z., Bian, G., ... Guo, L.**, 2016. Treatment with NAD⁺ inhibited experimental autoimmune encephalomyelitis by activating AMPK/SIRT1 signaling pathway and modulating Th1/Th17 immune responses in mice. *International immunopharmacology*, 39, 287-294.

- Wei, C., Wang, H., Liu, G., Wu, M., Cao, J., Liu, Z., ... Du, L.,** 2015. Genome-wide analysis reveals population structure and selection in Chinese indigenous sheep breeds. *BMC genomics*, 16(1), 1-12.
- Worku, D., Gowane, G. R., Mukherjee, A., Alex, R., Joshi, P., Verma, A.,** 2022. Associations between polymorphisms of LAP3 and SIRT1 genes with clinical mastitis and milk production traits in Sahiwal and Karan Fries dairy cattle. *Veterinary Medicine and Science*, 8(6), 2593-2604.
- Worku, D., Gowane, G., Alex, R., Joshi, P., Verma, A.,** 2022. Inputs for optimizing selection platform for milk production traits of dairy Sahiwal cattle. *Plos one*, 17(5), e0267800.
- Wu J, Bai J, Li L.,** 2015. Genetic polymorphisms of the BMAP-28 and MASP-2 genes and their correlation with the somatic cell score in Chinese Holstein cattle. *Genetics and Molecular Research*;14:1–8.
- Xu, H., Zhang, X., Zang, R., Cai, Y., Cao, X., Yang, J., ... Wu, J.,** 2019. Genetic variations in the sheep SIRT7 gene and their correlation with body size traits. *Archives Animal Breeding*, 62(1), 189-197.
- Xu, W. D., Liu, X. Y., Su, L. C., Huang, A. F.,** 2020. Association of MASP2 levels and MASP2 gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(18), 10432-10443.
- YAĞCI, S., Sinan, B. A. Ş., TATLIYER, A.,** 2018. Şavak Akkaraman kuzuların yetiştirici koşullarında büyüme ve yaşama gücü özellikleri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 58(2), 81-88.
- Yang, J. I., Li, W. R., Lv, F. H., He, S. G., Tian, S. L., Peng, W. F., ... Liu, M. J.,** 2016. Whole-genome sequencing of native sheep provides insights into rapid adaptations to extreme environments. *Molecular biology and evolution*, 33(10), 2576-2592.
- Yıldırım E.,** 2003. Çemişgezek ve Pertek Yörelerinde Yaşayan Şavak Türkmenlerinde Dini ve Sosyal Hayat, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Elazığ
- Yılmaz O.,** 1995. Some repeatability and heritability characters on Scottish Blackface sheep. *Faculty of Agriculture, MSc Thesis, Aberdeen University, UK.*
- YILMAZ, O., Wilson, R. T., Aşkın, K. O. R., ERTUĞRUL, M., CENGİZ, F.,** 2012. The farm animal genetic resources of Turkey: sheep—I-common and rare breeds. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 2(1), 1-5.
- Yu, Q., Dong, L., Li, Y., Liu, G.,** 2018. SIRT1 and HIF1 α signaling in metabolism and immune responses. *Cancer letters*, 418, 20-26.
- Yurchenko, A. A., Deniskova, T. E., Yudin, N. S., Dotsev, A. V., Khamiruev, T. N., Selionova, M. I., ... Larkin, D. M.,** 2019. High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. *BMC genomics*, 20, 1-19.
- Zeng, H., Chi, H.,** 2015. Metabolic control of regulatory T cell development and function. *Trends in immunology*, 36(1), 3-12.

Zhao Z, Wang C, Li Q., 2012. Novel SNPs of the mannan-binding lectin 2 gene and their association with production traits in Chinese Holsteins. *Genetics and Molecular Research*, 11:3744–3754.



ÖZGEÇMİŞ

