

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



TUNCELİ'DE YETİŞTİRİLEN ASSAF KOYUN IRKINDA BULUNAN BMP15 VE GDH9 DOĞURGANLIK GEN POLİMORFİZMLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

İlkay İnci YERLİKAYA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Altuğ KARAMAN**

TUNCELİ – 2025

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TUNCELİ'DE YETİŞTİRİLEN ASSAF KOYUN IRKINDA BULUNAN BMP15 VE GDH9
DOĞURGANLIK GEN POLİMORFİZMLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

İlkay İnci YERLİKAYA
(220220001)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr.Öğr. Üyesi Altuğ KARAMAN

TUNCELİ – 2025

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜEĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TUNCELİ'DE YETİŞTİRİLEN ASSAF KOYUN IRKINDA BULUNAN BMP15 VE GDH9 DOĞURGANLIK GEN POLİMORFİZMLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

İLKAY İNCİ YERLİKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 28/05/2025 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Altuğ
KARAMAN
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can
YAZDIÇ
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Gülüzar
ŞENGÜL
(Bingöl Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Nagihan KARAASLAN
AYHAN
Enstitü Müdürü

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

Proje No:YLMUB024-10

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.

28/05/2025

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

İlkay İnci YERLİKAYA

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Altuğ KARAMAN

TEŐEKKÖRLER

Tez çalıőmamda ilk günden son güne kadar bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, gerek motivasyon gerekse mesleki profesyonel görüşlerini benden esirgemeyen hep desteğini hissettiğim danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Altuğ Karaman'a, bu yolda birikimleriyle bize ıőık olan değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can Yazdı'a, bu süreçte dünyaya gelen canım oğlum Atlas Yerlikaya'ya ve benimle birlikte tüm çalıőmam boyunca emek veren kıymetli eőim Doęucan Yerlikaya'ya çok teőekkür ederim.

Tez çalıőmamda ki örneklerin temini için bana yardımcı olan Sinan Kıl ve projeme olanak sağlayan Munzur Üniversitesi'ne teőekkür ederim. Ayrıca çalıőmama maddi destek sağlayan Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine teőekkür ederim.

İlkay İnci YERLİKAYA

Tunceli-2025

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	I
TEŞEKKÜRLER.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLolar LİSTESİ.....	IV
RESİMLER LİSTESİ.....	V
SEMBOLLER LİSTESİ.....	VI
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.2. Koyunculüğün Önemi.....	1
1.3. Türkiye'deki Koyun Popülasyonları.....	2
1.4. Türkiye'deki Yaygın Koyun Irkları.....	4
1.5. Assaf Koyun Irkı.....	6
1.6. Koyunlarda Doğurganlık.....	9
1.7. Doğurganlığa Genetiğin Etkisi.....	11
1.8. Doğurganlıkla İlgili Genler.....	11
1.9. GDF9 Geni.....	13
1.10. BMP15 Geni.....	14
2. MATERYAL METOD.....	15
2.1. Kullanılan Kimyasallar.....	15
2.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler.....	15
2.3. Örneklerin Toplanması.....	15
2.4. DNA İzolasyonu Yöntemleri.....	16
2.4.1. Fenotipik verileri toplanması.....	17

2.4.2. Genotipleme.....	17
2.5. Veri ve İstatistik Analizi.....	18
2.6. Etik Kurul Onay Bilgileri.....	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	20
3.1. Kan Örneklerinin Genomik DNA İzolasyonu.....	20
3.2. BMP15 PCR Görüntüleri.....	20
3.3. GDF9 Exon 1 PCR Görüntüleri.....	22
3.4. GDF9 Exon 2 PCR Görüntüleri.....	24
3.5. PZR-RFLP Genotip Sonuçları.....	26
3.5.1. BMP15-Exon 1 genotip sonuçları.....	26
3.5.2. GDF9-Exon 1 genotip sonuçları.....	28
3.5.3. GDF-Exon 2 genotip sonuçları.....	30
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
5. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	43

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.1 Dünyada ki koyun popülasyonları.....	2
Tablo 1.2 Türkiyede ki hayvan sayıları ve değişim oranları.....	3
Tablo 1.3 Türkiyede ki hayvan sayıları istatistikleri.....	4
Tablo 1.4 Kuzu sayısını etkileyebilecek fizyolojik yollar	10
Tablo 1.5 Döl verimiyle ilgili bazı aday genler.....	12
Tablo 2.1 Çalışmada kullanılan primer listesi.....	18
Tablo 3.1. Assaf koyunlarında BMP15, GDF9 E1 ve GDF9 E2 gen bölgelerinin genotip ve alel frekansları	30
Tablo 3.2. Assaf koyunlarında BMP15, GDF9 E1 ve GDF9 E2 gen bölgelerinin Hardy-Weinberg Denge analiz sonuçları.....	31
Tablo 3.3. Assaf koyunlarındaki BMP15, GDF9 E1 ve GDF9 E2 genlerinin farklı genotiplerinin doğum ağırlığı, yavru sayısı ve cinsiyeti, süt verimi ve 7 farklı kalite özellikleri arasındaki ilişkiler.....	31

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1 Assafkoyunlarından kan alınma süreci.....	16
Resim 3.1 BMP15 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	20
Resim 3.2 BMP15 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	21
Resim 3.3 BMP15 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	21
Resim 3.4 GDF9 EXON 1 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	22
Resim 3.5 GDF9 EXON 1 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	22
Resim 3.6 GDF9 EXON 1 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	23
Resim 3.7 GDF9 EXON 1 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	23
Resim 3.8 GDF9 EXON 2 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	24
Resim 3.9 GDF9 EXON 2 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	24
Resim 3.10 GDF9 EXON 2 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	25
Resim 3.11 GDF9 EXON 2 PCR görüntüleri kandan elde edilen DNA örneklerinin agoroz jel görüntüsü.....	25
Resim 3.12. BMP15- Exon 1 AluI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	26
Resim 3.13. BMP15- Exon 1 HinFI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	26
Resim 3.14. BMP15- Exon 1 Sml RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	27
Resim 3.15. BMP15- Exon 1 RsaI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	27
Resim 3.16. GDF- Exon 1 AluI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	28
Resim 3.17. GDF9- Exon 1- PstI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	28
Resim 3.18. GDF9 Exon 1 – SmaI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	29
Resim 3.19. GDF9 Exon 2 – AluI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	29
Resim 3.20. GDF9 Exon 2- DraI RE ile genotiplendirme (M=100 bç).....	30

SEMBOLLER LİSTESİ

μl	: Mikrolitre
°C	: Santigrad Derece
Bç	: Baz Çifti
CAST	: Kalpastatin
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilandiamiktetraasetik Asit
L	: Litre
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Nm	: Nanometre
pH	: Potentian of Hydrogen
Pmol	: Pikomol
PZR	: Polimer Zincir Reaksiyonları
RFLP	: Restriction Fragment LenghtPolimophizm
RNA	: Ribonükleik Asit
RT-PCR	: Revers – Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SNP	: Single-NukleotidePolymorphism
TGFβ	: Dönüştürücü büyüme faktörü

ÖZET

Koyun(Ovisaries) dünya genelinde yaygın olarak kullanılan çiftlik hayvanıdır. Süt,et, yün gibi yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilirliğini kolaylaştıran ürünlere kaynak oluşturmaktadır. Assaf koyunları ivesi ve doğu friz koyunlarının melezlemesi bir ırk olarak f-Filistinde ortaya çıkmıştır. Bu çalışmanın amacı Assaf ırkında BMP15 (FecXG ve FecXI-bone morphogenetic protein 15) ve GDF9 (G1 ve G4-growth differentiationfactor9)genlerinin polimorfizmini ve genotipler ile yavru sayısı arasındaki ilişkiyi incelemektir. Toplam 100 koyundan kan örnekleri alındı. Genomik DNA tam kandan elde edildi. Araştırılan genlerin polimorfizmlerini belirlemek için PCR-RFLP tekniği kullanıldı. Bu çalışmada doğurganlık genleri olan GDF9 ve BMP15 genlerinin Tunceli’de yayılış gösteren Assaf koyunlarında genotip araştırılmıştır. Buna karşılık BMP15 ve GDF9 E1’de belirlenen BB-AA genotipleri diğer genotiplere göre doğurganlıkla ilişkili olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (P<0.05). GDF9 E2 de ise doğurganlıkla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.Tunceli bölgesinde yetiştirilen Assaf koyunlarında belirlenen BMP15 veGDF9 belirlenen genetik farklılıkların koyunlarda doğurganlıkla ilişkili olabileceği elde edilen sonuçlarla belirlenmiştir. Koyun ıslah çalışmalarında BMP15 ve GDF9 genlerinde belirlenen bu farklılıkların yerel koyun ırklarının genetik ilerlemeleri için potansiyeli bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: RFLP, Assaf, Gen polimorfizmi, BMP15, GDF9

ABSTRACT

Molecular Characterization of BMP15 and GDF9 Fertility Gene Polymorphism in Assaf Breed Raised in Tunceli

Sheep (*Ovis aries*) are widely used farm animals around the world. They provide resources for products that facilitate the sustainability of vital activities such as milk, meat and wool. Assaf sheep emerged as a breed in Palestine by crossbreeding Awassi and East Frisian sheep. The aim of this study was to investigate the polymorphism of BMP15 (FecXG and FecXI-bone morphogenetic protein 15) and GDF9 (G1 and G4-growth differentiation factor 9) genes in Assaf breed and the relationship between genotypes and number of offspring. Blood samples were taken from a total of 100 sheep. Genomic DNA was obtained from whole blood. PCR-RFLP technique was used to determine the polymorphisms of the investigated genes. In this study, genotypes of fertility genes GDF9 and BMP15 were investigated in Assaf sheep distributed in Tunceli. On the other hand, BB-AA genotypes determined in BMP15 and GDF9 E1 were found to be associated with fertility compared to other genotypes and were found to be statistically significant ($P < 0.05$). However, no statistically significant association was found with fertility in GDF9 E2. The results show that genetic differences determined in BMP15 and GDF9 in Assaf sheep raised in the Tunceli region may be related to fertility in sheep. These differences determined in BMP15 and GDF9 genes in sheep breeding studies have the potential for genetic improvements in local sheep breeds.

KeyWords: RFLP, Assaf, Gene polymorphism, BMP15, GDF9

1.GİRİŞ

Koyun(Ovisaries) dünya genelinde yaygın olarak kullanılan çiftlik hayvanıdır. Süt,et, yün gibi yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilirliğini kolaylaştıran ürünlere kaynak oluşturmaktadır. Kırsal kesimlerde ekonominin büyük kısmı küçükbaş hayvancılıkla devam etmektedir. Küçükbaş hayvanların evcilleştirilmesi ve yetiştirilmesi neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi koyunculuk faaliyetleri de yönetim kolaylığı, bakım kolaylığı, meraların verimli kullanılması, hastalıklara karşı dayanıklılık ve zorlu iklim koşulları nedeniyle üreticiler için cazip hale gelmektedir. Dünya çapında yaklaşık 1314 koyun ırkı bulunmaktadır (Galal, 2005).

1.2.Koyunculüğün Önemi

Koyun yetiştiriciliği, ülkenin kurak, yarı kurak ve dağlık bölgelerinde daha yüksek yoğunlukla neredeyse tüm bölgelerinde kırsal ekonominin omurgasını oluşturur. Koyun yetiştiriciliğine getirilen dezavantajlar arasında, koyun yetiştiriciliğinin genetiğinin uygun bilimsel anlayışına ilişkin yetersiz bilgi önemli bir faktördür (Gowane ve ark. 2013).

Koyun yetiştiriciliği son yıllarda birçok değişiklik gördü. Önceleri koyunlar yün özellikleriyle tanınıyordu. Ancak, son zamanlarda yapağı pazarının düzensiz yapısı ve düşük fiyatlı sentetik elyafın bulunması nedeniyle üretim sisteminde bir değişiklik oldu. Çiftçiler yünden çok koyun eti üretimiyle ilgileniyor. Büyüme özellikleri için bireyin genetiği en önemli faktördür. Seçkin dişilerle çiftleştirilen seçkin koçlar piyasa fiyatı için en iyi bahsi garanti eder. Üretimi iyileştirmek için optimum üreme stratejileri formüle etmek amacıyla büyüme özellikleri için genetik parametreler hakkında bilgi sahibi olmak önemlidir (Gowane ve ark. 2013).

Tablo 1.1.Dünyadaki koyun popülasyonları

ÜLKE	KOYUN POPÜLASYONU	KÜRESEL TOPLAMIN %'Sİ
Çin	194M	14.69%
Hindistan	75,3 milyon	%5,7
Avustralya	70,2 milyon	5.32%
İran	55,6 milyon	4.21%
Nijerya	50,3 milyon	3.81%
Çad	45,1 milyon	3.41%
Türkiye	44,7 milyon	3.38%
Sudan	41,3 milyon	3.13%
Etiyopya	35,1 milyon	%2,66
Birleşik Krallık	33,1 milyon	%2,5
Moğolistan	32,7 milyon	2,48%
Pakistan	32M	2.42%
Cezayir	31,2 milyon	%2,36
Kenya	25,8 milyon	1.95%
Yeni Zelanda	25,3 milyon	1.92%

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

1.3.Türkiye'deki Koyun Popülasyonları

Türkiye'de, diğer Yakın Doğu ülkelerinde olduğu gibi koyun eti, koyun sütü ve koyun sütü ürünleri değerli ve genellikle tercih edilen ürünlerdir. Keçi eti ve keçi sütü, dağlık bölgelerdeki sakinler için hayvansal proteinin ana kaynaklarıdır. Öte yandan, ülkenin insan nüfusu yıllık %2,8 oranında artmaktadır. Bu hızlı nüfus artışı ve yükselen yaşam standartları, özellikle koyun ve kuzu olmak üzere hayvansal ürünlere olan talebi artıracaktır. Ayrıca, bölgenin yüksek gelirli ülkelerinde şu anda koyun etine ve dünya

pazarında tiftik talebine iyi bir talep bulunmaktadır. Bu nedenle, ülkenin doğal kaynakları daha iyi değerlendirildiği ve gelişmiş yönetim uygulamaları kullanıldığı takdirde, Türkiye'de koyun ve keçi yetiştiriciliğinin gelecekte de önemini koruması muhtemeldir (Yalçın,1986).

Yerli koyun ırkları, benzersiz özelliklerine ve zorlu çevre koşullarına uyum sağlama yeteneklerine rağmen sayıca azaldı ve bu azalma onları üretimin düşük karlılığı nedeniyle yok olma tehlikesine maruz bırakıyor. Bu kader Polonya'da 5 yerel koyun ırkının başına geldi ve koyun çiftçiliğindeki yıllar süren kriz bu durumu daha da kötüleştirdi. Bugün, yerli ırkların önemi, geliştikleri bölgelerin kalkınma tarihindeki rolleri nedeniyle artıyor. Yerli ırklar, önemli doğal, peyzaj ve sosyal ve kültürel işlevleri yerine getirerek yerel toplulukların geleneklerine ve maddi kültürüne tanıklık ediyor (Animals, 2022).

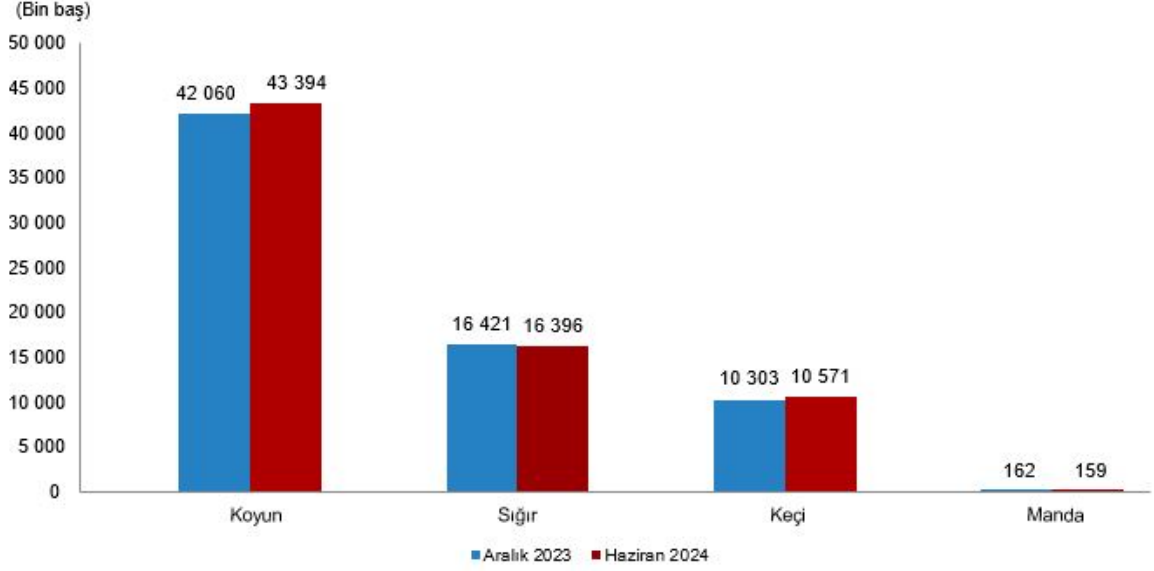
Tablo1.2. Türkiye’de ki hayvan sayıları ve değişim oranları

Hayvan sayıları ve değişim oranları, Aralık 2023-Haziran 2024

	Aralık 2023 (Baş)	Haziran 2024 (Baş)	Değişim (%)
Büyükbaş	16 583 005	16 554 682	-0,2
Sığır	16 421 256	16 396 168	-0,2
Manda	161 749	158 514	-2,0
Küçükbaş	52 363 410	53 965 006	3,1
Koyun	42 060 470	43 393 709	3,2
Keçi	10 302 940	10 571 297	2,6

Tablo 1.3. Türkiye’de ki hayvan sayıları istatistikleri

Hayvan sayıları, Aralık 2023-Haziran 2024



<https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvancilik-Istatistikleri-Haziran-2024-53811>

1.4. Türkiye’deki Yaygın Koyun Irkları

Koyun, insan tarafından evcilleştirilen ilk hayvanlardan biriydi (Yılmaz, 1995) ve eski Türkiye, evcilleştirme sürecinde önemli bir rol oynadı (Zeder, 2008). Koyun, Neolitik'ten günümüze kadar yaklaşık 10.000 yıldır Türkiye'nin hanehalkı ve ulusal ekonomilerinde önemli bir unsur olmuştur (Arbuckle ve ark., 2009). 2010 yılında, ülke 21,8 milyon koyun nüfusuna sahipti ve bu sayının 1980'lerin başındaki koyun nüfusunun yarısından daha az olmasına rağmen dünyanın en önemli koyun üreticilerinden biridir (Turkstat, 2011). Binlerce yıl boyunca birçok ırk farklılaştırılmıştır, ancak morfolojik olarak Türk ırkları açıkça iki gruba ayrılmıştır, biri şişman kuyruklu, diğeri ince kuyrukludur (Anon., 1987). Genetik uzaklık tahminlerine dayalı son filo genetik analizler, Akkaraman, Morkaraman ve Tuj ırkları (hepsi yağlı kuyrukludur) arasında yakın ilişkiler ve yağlı kuyruklu grup ile ince kuyruklu gruba ait olanlar arasında net bir ayrım olduğunu göstermiştir (Uzun ve ark., 2006).

Evcil koyunlar 13 çeşitten oluşur, ancak hiçbiri ayrı ayrı tanımlanmamıştır (MARA/FAO, 2001). Türk biyolojik çeşitliliği üzerine daha önceki bir yayın, 14 tür ve

birkaç alt tür koyunu tanımlamış ve adlandırmıştır (Anon., 1987). Yetkili bir kaynağın (Mason, 1996) aranması, toplamda 27 tür sağlamak için birkaç veya daha fazla koyun ırkı ve türünü ortaya çıkarmaktadır. Gıda ve Tarım Örgütü'nün Evcil Hayvan Çeşitliliği Bilgi Sistemi'nde 35 koyun türü listeleniyor ancak bunlardan 15'inin nesli tükenmiş olarak belirtiliyor (DAD-IS, 2010).

Beyaz Karaman (Türkçe = Akkaraman) Orta Anadolu'nun oldukça küçük bir cinsidir ve aynı zamanda az miktarda kaba yün üreten çift amaçlı bir et ve süt türüdür. Kangal, Karakaş ciddi risk altında olarak sınıflandırılmıştır (Sönmez, 1978) ve Güney bu türün çeşitleridir (Mason, 1996). Benzer cinsler Suriye'deki Barazi ve İran'daki Makui'dir. Doğu Anadolu'nun baskın cinsi, Beyaz çeşidinden biraz daha büyük olan ve aynı zamanda et ve süt üreten Kırmızı Karaman'dır.

Diyarbakır İli'nin Karacadağı Kızıl Karaman'ın yerel bir çeşididir (Mason, 1996). Türkiye'de, İvesi esas olarak ülkenin güneydoğu kesiminde bulunur ancak bu hayvan, Arap Orta Doğu ve İsrail'in yanı sıra Türkiye'de de bulunan yaygın ve önemli bir cinsin parçasıdır (Mason, 1996).

Kangal Karaman Orta Anadolu'nun Sivas ve Malatya illerinde lokalizedir (Mason, 1996), ancak bir tuhaflık da erkeklerin sadece küçük bir kısmının boynuzlu olmasıdır (Anon., 2009).

Tehlike altında olan ancak son derece yerel bir tür olan Norduz, sadece Doğu Türkiye'deki Van ilinin küçük bir bölgesinde bulunur. Orta büyüklükteki koyunların iyi büyüme oranları vardır, iyi miktarda süt üretir ve dişilerin %50'sinin boynuzlu olması nedeniyle sıra dışıdır. 11 çiftçiden oluşan bir grup, koruma amaçlı 200 koyun besler (Anon., 2009; Ertugrul ve ark, 2009).

Ak Karaman'ın sıklıkla renkli bir çeşidi, adından da anlaşılacağı gibi Güney Anadolu illerinde bulunan orta büyüklükteki Güney Karaman'dır (Mason, 1996). Çoğunlukla zayıf süt üretimine sahip bir et türüdür ancak orta derecede kaba yün verir.

Batı Anadolu'nun Dagle'i ciddi şekilde risk altındadır. Bu orta büyüklükteki kaba yün ve et türü Orta-Batı Anadolu'da dağılım açısından sınırlıdır (Mason, 1996; Anon., 2009).

Tehlike altındaki dördüncü yağlı kuyruklu cins, Kuzey Anadolu'daki Herik'tir, Dağlıç'a benzer ancak gruptaki diğerlerinin çoğundan daha kısa bir kuyruğa sahiptir (Mason, 1996).

Afyon, Burdur, Isparta, Kütahya, Manisa ve Uşak İllerinin Pirlakları (Pirlack) bazı riskler altında kabul edilir (Ertuğrul ve ark., 2009). Bu orta büyüklükteki kaba yünlü koyun da et ve süt üretir ve tabanında biraz yağ bulunan uzun bir kuyruğa sahiptir (Anon., 2009). Ayrıca, Aydın, İzmir, Manisa, Uşak ve Denizli'nin Karyaları da tehlike altındadır (Ertuğrul ve ark., 2009). Bu küçük tür kaba yün, et ve süt üretir ve uzun ince bir kuyrukla sonlanır (Anon., 2009).

İnce kuyruklu türler arasında en kritik risk altında olanı Sakız'dır, İzmir civarında küçük bir alanla sınırlıdır ve aslen Sakız'dan yetiştirilmiştir (Mason, 1996). Kaba yün, süt ve et üreticisi olan bu cinsin, tabanında yağ bulunan uzun ve ince bir kuyruğu vardır. 2009 yılında hükümet tarafından MARI'de toplam 130 koyun (35 koç ve 95 dişi) ve 113 koyun İzmir ili Çeşme'de dört çiftçi tarafından yönetilen koruma sürülerindeydi (Ertuğrul ve ark., 2009)

1.5.Assaf Koyun Irkı

Koyun sütü, dünya toplam süt üretiminin %1,1 'ini temsil eder(FAO,1999) ve bu miktarın %35'i Avrupa da üretilir. Bazı çiftçiler daha üretken yabancı ırkları, safkanları veya yerel ırklarla melezlenmiş olanları tanıtmayı seçmiş ve kısa vadede verimi arttırmak amacıyla daha yoğunlaştırılmış hayvancılık sistemleri benimsenmiştir. Aslında, her üretim alanında kökeni, dağılımı ve önemi farklı olan yabancı ırklardan önemli bir süt koyunu popülasyonu vardır. Şu an, en çok ithal edilen ırklar Assaf, İvesi, Lacaune ve Doğu Frizdir (Ugarte ve ark. 2001).

Assaf süt koyunu ırkı, İvesi ve Doğu Friz ırklarından oluşan bir melezlemeden türetilmiştir ve 1950'lerde ve 1960'larda İsrail'de geliştirilmiştir. Assaf ırkı, ülkedeki ana süt ırkı olarak sadece geliştirilmiş İvesi'nin yerini almamış (Epstein, 1985; Gootwine ve Goot, 1996), aynı zamanda diğer ülkelerde de başarıyla yetiştirilmiştir (Ugarte ve ark., 2000).Assaf ilk kez doğrudan İsrail'den Leon'da bulunan bir çiftliğe getirildi.Bu süre zarfında popülasyon boyutunu arttırmak ve iyileştirmek için 320 dişi ve 77 erkek kullanıldı

ve bunların bir kısmı diğer çiftliklere satıldı. Beyaz bir yüz ve benek olmaması ana rakibi İvesi den açık bir şekilde farklılaşmayı amaçlayan hedeflerdi. Assafcinsi,Churra ve Castellana koyun popülasyonu üzerinde ve geleneksel hayvancılık sistemlerinin modifikasyonu üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmuştur (Ugarte ve ark. 2001). Genel olarak, Castilla-Leon koyun popülasyonunun %20'sinin Assaf olduğu düşünülür, ancak bunlar sağılan koyunların %49'unu temsil eder (Martinez ve diğerleri,1999b).

Assaf koyunları İsrail'de yoğun bir yönetim sistemi altında tutulmaktadır; burada koyunlar kuzulamadan sağılır ve kuzular doğumda yapay yetiştirme birimlerine transfer edilir. Ayrıca, Assaf koyunlarının üreme yönetimi hormonalöstrussenkronizasyonunu ve yıl boyunca birkaç çiftleşme dönemini içerir. Böyle bir yönetim sistemi, Assaf'ın hem kuzu hemde süt üretimi için tam biyolojik potansiyelini kullanmayı hedeflemektedir(Gootwine ve Pollot,2000). Bu hedefe ulaşmak için, hem üretim hem de üreme özelliklerini etkileyen çevresel kısıtlamaların bilgisi ilgi çekicidir. Benzer yoğun koşullarda tutulan geliştirilmiş İvesi ırkının süt ve kuzu üretimini etkileyen faktörler Gootwine ve Pollott (2000) tarafından tanımlanmıştır. Son çalışma, mevsimselliğin süt üretimi üzerindeki önemli etkisini vurgulamış ve ısı yükü, gün uzunluğu ve gün uzunluğundaki değişiklik gibi çevresel faktörlerin süt üretimi üzerindeki etkisini tahmin etmiştir. Ek olarak, yüksek süt üretiminin süt üretiminde önemli bir kısa vadeli değişiklikten sonra sağım döneminde üreme performansı ve gebe kalma üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur(PollottandGootwine, 2004).

Koyun yetiştiriciliğinde doğum oranı en önemli ekonomik özelliklerden biridir. Bu özellik ve genel olarak üreme özellikleri düşük kalıtım derecesine sahiptir ve eklemeli olmayan genetik etkilerden belirgin şekilde etkilenir (Davis,2004). Fenotipik verilere dayanan geleneksel ıslah yöntemlerinin uygulanması zaman alıcı bir süreçtir. Bu nedenle moleküler genetik ve işaretleyici destekli seçim (MAS), üreme etkinliğinin genetik olarak iyileştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Davis,2004). BMP15 ve GDF9 genlerindeki bazı mutasyonların yumurtlama oranını arttırdığı bildirilmektedir. Bazı çalışmalar, yumurtlama oranının ve yavru boyutunun, doğurganlık adı verilen bir dizi farklı gen tarafından genetik olarak düzenlenebileceğini göstermiştir (Davis, 2004).

Koyun etinin küresel tüketimi, insan nüfusunun artışına paralel olarak artmaktadır. 2029 yılında, kişi başına düşen ortalama koyun eti tüketiminin 4,2 kg'a ulaşması beklenmektedir (OECD, 2021).Koyun eti talebini karşılamak için ana odak noktası kuzu

sayısını ve verimini artırmaktır (Hossain ve ark., 2020). Bu nedenle, kuzu sayısını veya koyun başına ikiz oranını artırma ve canlı ağırlığı iyileştirme çalışmalarının gelecekte daha da önemli hale gelmesi muhtemeldir. İstenilen üretim seviyesine ulaşmak için, geleneksel üretim yöntemlerinin yanı sıra dünya çapında genetik iyileştirme çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Bu anlamda, belirli bir özelliğin genetik çeşitliliği hakkında bilgi sağlayan polimorfizm çalışmalarının bir başlangıç noktası olarak önemli olduğu söylenebilir. Bir hayvanın üreme ve gelişim performansı, genotiple yapısının ve çevresel etkilerin sonucudur (Gbangboche ve ark. 2006). Koyunlarda büyüme ve yavru sayısı, küçük etkileri olan birçok genin yanı sıra çevresel koşullardan da etkilense de, bu özellikler üzerinde önemli bir etkisi olan önemli genler vardır. Kalpastatin (CAST) ve Büyüme farklılaşma faktörü 9 (GDF9), koyunlarda büyüme hızı ve yavru sayısı özellikleri için en çok araştırılan genlerden bazılarıdır.

Doğurganlık ve vücut ağırlığı, birçok genden oluşan ve çevresel faktörlerden etkilenen özelliklerdir. Bu kantitatif özelliklerin iyileştirilmesinin, ileri yaşta ortaya çıkan kalıtım örüntüleri, düşük kalıtım dereceleri ve zaman alıcı doğaları nedeniyle geleneksel yöntemlerle sınırlı olduğu iyi bilinmektedir (Calus ve ark., 2013). Geleneksel yetiştirme yöntemleriyle yavru büyüklüğü ve büyüme hızının genetik ilerlemesi, diğer birçok kantitatif özellikte olduğu gibi %1 ila %2 arasında değişmektedir (Bradford, 1986). Bir ırkın genetik iyileştirilmesine karar vermeden önce genetik çeşitliliği ortaya çıkarmak ve ekonomik açıdan önemli özelliklerde majör mutasyonları tespit etmek önemlidir (Kırıkçı, 2021).

İsrail'de Assaf ırkı, kuzuların doğumda süttten kesilmesi, yapay olarak yetiştirilmesi ve doğumdan sonra koyunların sağılması gibi yoğun bir üretim sistemi altında yönetilmektedir. Koyunların hormonal olarak senkronize edilmiş östrus sonrasında çiftleştirildiği yılda birkaç üreme dönemi vardır. Assaf sütünü ve üreme performansını etkileyen faktörleri araştırmak için 5 çiftlikten 18.976 laktasyonun kayıtları analiz edildi. Her laktasyonalaktasyon eğrileri uygulandı ve bir dizi parametre ve hesaplanan değer analiz edildi. Günlük süt verimi kayıtları da tipik bir Assaflaktasyonunu tanımlamak ve İvesi ırkınıninkilerle karşılaştırmak için analiz edildi. İlk kuzulama yaşını etkileyen faktörler de incelendi. Bu yoğun bakım rejimi altında tutulan ortalama bir Assaf koyununun 173 günlük bir laktasyon boyunca 334 L süt ürettiği bulundu. Ortalama yavrusayısı koyun başına 1,57 kuzu ve kuzulama aralığı 272 gündü. Süt üretimi yavru sayısından etkilendi,

ikiz ve üçüz doğuran koyunlar laktasyon başına tek doğuran koyunlardan yaklaşık 20 L daha fazla süt üretti. Gün uzunluğu süt verimini etkileyen en önemli çevresel değişkendi. Yaz ortası ve kış ortası gün uzunlukları arasındaki fark, yaz lehine günlük süt veriminde 0,44 L'lik bir farka neden oldu. Daha sonraki yaşlarda ilk kez çiftleştirilen koyun kuzuları, daha erken laktasyon özellikleri nedeniyle daha fazla kuzu ve daha fazla süt üretti. Bu sonuçlar, İvesi cinsi üzerinde yapılan daha önceki bir çalışmayla karşılaştırıldığında, Assaf'ın daha kısa bir laktasyon döneminde İvesi'den daha az süt ürettiği, ancak daha fazla yavru sayısının onu daha karlı bir cins haline getirdiği bulundu (Pollott ve Gootwine, 2004).

1.6. Koyunlarda Doğurganlık

Koyunlarda fetal gelişim sırasında büyük bir dinlenme halindeki ilkel folikül havuzu oluşur ve ilk foliküller gebeliğin yaklaşık 70. gününde oluşur (Mariana ve ark., 1991). Bu havuz yenilenemez ve hayvanın yaşamı boyunca foliküller yumurtlamadan önce birincil, ikincil ve üçüncül (antral) aşamalara gelişir. Çok az folikül yumurtlamaya ilerler ve çoğu gelişimin herhangi bir aşamasında atrezi nedeniyle ölür. Çok değişken olmakla birlikte, doğumda kuzularda yaklaşık 100.000-200.000 folikül olduğu (Land, 1970) ve herhangi bir zamanda yetişkin bir koyunun ovaryumlarında yaklaşık 50 antralfolikül olduğu tahmin edilmektedir (Cahill ve ark., 1979). Bir folikülün dinlenme aşamasından yumurtlama öncesi aşamaya gelişmesinin yaklaşık 6 ay, ilk antrum oluşumundan yumurtlama öncesi aşamaya ise yaklaşık 34-43 gün sürdüğü öne sürülmüştür (Turnbull ve ark., 1977).

Doğurganlık koyun üretkenliğinin en önemli parametrelerinden biridir, kuzulama başına elde edilen yavru sayısı iyi bir göstergedir ve bazı yazarlara göre (Petrović, 2000) kuzu kazanımından daha önemlidir. Bu, koyunların et, süt ve yün üretimi açısından biyolojik verimliliğinin doğurganlığa bağlı olduğu anlamına gelir (Notter ve diğerleri, 2000).

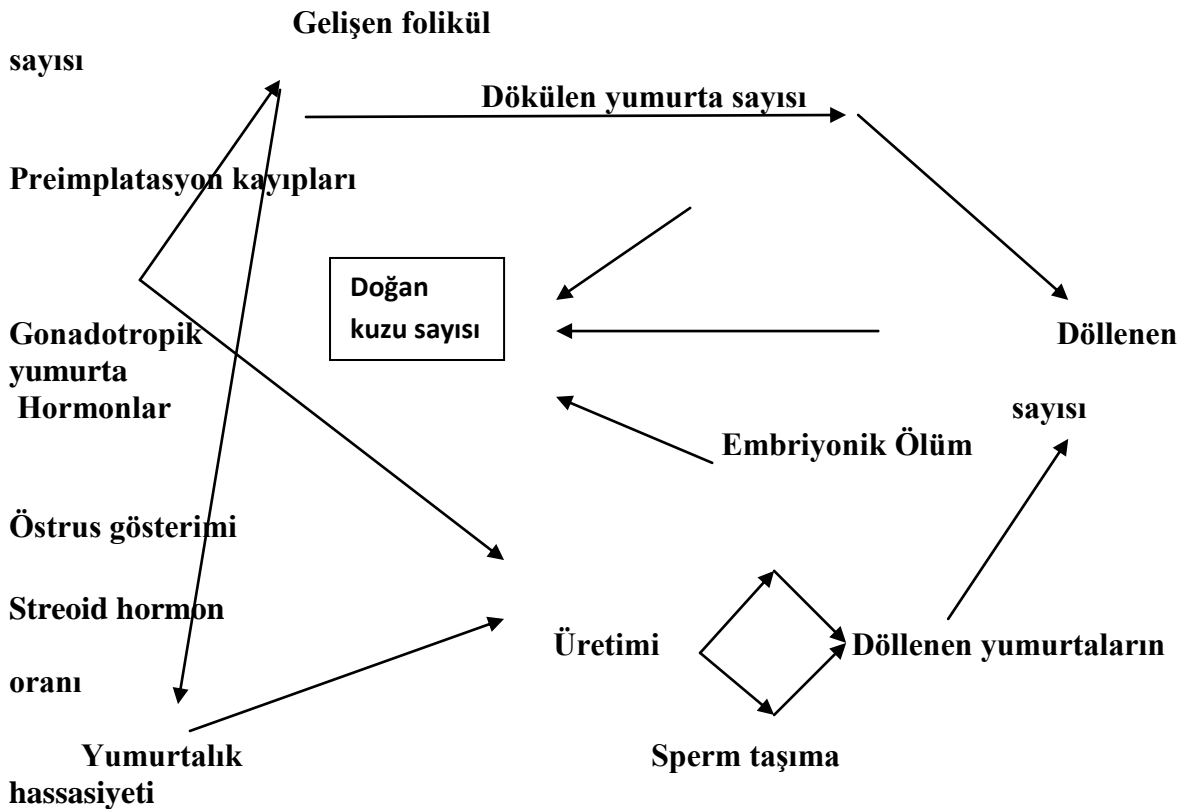
Koyunların doğurganlıklarına ilişkin seçiminde başarı büyük ölçüde üreme bileşenlerinin genetik çeşitliliğine bağlıdır (Petrović ve ark., 2001). Ergenliğin başlangıcı için kalıtım düşüktür ve 0,1 ila 0,26 aralığındadır (Petrović, 2000). Koyunlarda yumurtlama aralığı veya normu, daha fazla sayıda genin kontrolü altında olduğu genel olarak bilinmesine, yani polijenik karaktere rağmen, bilim için hala büyük bir zorluktur.

Bu özellikten sorumlu gen tanımlamasına yönelik faaliyetler devam etmektedir (Galloway ve ark., 2000).

Koyun doğurganlığının özellikleri açısından embriyonik ölüm oranı da büyük önem taşır. Bu oran özellikle gebeliğin ilk dört haftasında görülür. Bu dönemde döllenmiş yumurta hücrelerinin %20-30'u kaybedilebilir ve yumurtlama oranıyla negatif korelasyon gösterir (Perez ve ark., 1994).

Bir koyunun çiftleşmeye en iyi şekilde nasıl hazırlanacağı konusunda birçok tartışma vardır. Kızarma, çiftleşmeden önce besin takviyesi alan koyunların yumurtlama oranındaki hızlı artış olarak anlaşılır (Branca ve ark., 2000). Lassoued ve ark. (2004), genotip ve beslenme düzeyi arasında önemli etkileşimler olduğunu göstermiştir.

Tablo 1.4. Kuzu sayısını etkileyebilecek fizyolojik yollar



1.7.Doğurganlığa Genetiğin Etkisi

Yavru sayısı ve kuzunun büyümesi, vücut ağırlıkları ve büyümenin farklı evrelerindeki kazanç oranı ile gösterilir ve ekonomik açıdan en önemli ve kolayca ölçülebilen özellikler arasındadır (Petrovic ve ark 2012).

Genetik/kalıtım, çiftlik hayvanlarının doğurganlığını çeşitli şekillerde etkiler. Bazı hayvanlar genetik olarak kısır olabilir. Farklı cins ve koyun tipleri arasında genetik farklılıklar vardır. Romanov koyunlarının kuzulama yüzdeleri genellikle 250 iken Pramenka koyunlarının kuzulama yüzdeleri 110'a yakın olma eğilimindedir. Bazı koyunlardaki sırlığa neden olabilen genetik mutasyonlar meydana gelebilir. Ayrıca embriyolarda anormal gelişime yol açabilirler, öyle ki yavrular düzgün gelişemez ve fetal ölüme veya atrofiye neden olurlar. Bunlara ölümcül faktörler denir (Petrovic ve ark 2012).

1.8.Doğurganlıkla İlgili Genler

Bir hayvanın üreme ve gelişim performansı, genotiple yapısının ve çevresel etkilerin sonucudur (Gbangboche ve ark., 2006). Koyunlarda büyüme ve yavru sayısı, küçük etkileri olan birçok genin yanı sıra çevresel koşullardan da etkilense de, bu özellikler üzerinde önemli bir etkisi olan önemli genler vardır.

Yumurtlama oranı, bir batında doğan yavru sayısının çokluğu, toplam doğan kuzu sayısı, ilk kuzulama yaşı, ölü doğum ve erişkinlik yaşı gibi doğurganlığı etkileyen faktörler koyun endüstrisinde önemli etkiye sahiptirler. BMP15 geninin granüloza hücrelerini, teka hücrelerini ve oositi etkilediği (Saadi ve ark.,2017) , GDF9 geninin yumurtalık folikül gelişimini düzenlediği bildirilmiştir (Davis ve ark., 1982; McNatty ve ark., 2005). BMP15 geninin yumurtlama seviyesi ve yavrulama sayısını etkilediği, Cambridge ve Belcare ırkı koyunlarda BMP15 ve GDF9 birlikte folikül oluşumunda önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (Galloway, 2000; Hanrahan, 2004). BMP15 ve BMP-15 genleri, doğurgan bir Çin ırkı olan Küçük Kuyruklu Han koyunlarında doğurganlıkla yüksek

oranda ilişkili bulunmuştur (Chu ve ark.,2007). FecL lokusunun, Lacaune ırkı koyunlarda yumurtlama oranını etkilediği tespit edilmiştir (Drouilhet ve ark., 2009). Çin Moğol Yağ Kuyruklu, Alman Merinosu ve Afrikalı Beyaz Dorper koyun ırklarında oosit gelişimi ile ilişkili Cyclin B2 (CCNB2) ve Solute Carrier Family 8A3 (SLC8A3) genlerinde moleküler varyantlar bildirilmiştir (Wang ve ark., 2015).

Yumurtlama oranı ve yavru sayısı kalıtsal olarak küçük etkilere sahip birkaç gen ve bazen de büyük etkilere sahip tek genler tarafından kontrol edilir, bunlar doğurganlık (Fec) genleri olarak adlandırılır. Koyunlardaki yumurtlama oranının yakından bağlantılı bir gen grubundaki mutasyonlar tarafından önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Bu genler kemik morfogenetik protein reseptörü tipi 1B (BMPR-1B), kemik morfogenetik protein 15 (BMP15) ve büyüme farklılaşma faktörü 9'dur (GDF9), bunların hepsi yumurtalıktan türetilen dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF β) süper ailesinin bir parçasıdır.

Tablo 1.5. Döl verimiyle ilgili bazı aday genler

Genler	Özellikler	Koyun Irkları	Yazar(lar)
BMPR1B	YO	Lacaune koyunu	Bodin ve ark. (2007)
	D	Küçük Kuyruklu Han	Chu ve ark. (2007)
BMP15	D	Küçük Kuyruklu Han	Chu ve ark. (2007)
	FO	Cambridge, Belcare	Galloway (2000); Hanrahan (2004)
GDF9	FO	Cambridge, Belcare	Galloway (2000); Hanrahan (2004)
	FG	Booroola	Davis ve ark. (1982); McNatty ve ark. (2005)
PRLR	ÜP	Sakız, Akkaraman, İvesi	Özmen (2010)
FecL	YO	Lacaune	Drouilhet ve ark. (2009)
TMEM154	LE	Rambouillet, Polypay, Columbia	Heaton ve ark. (2012); White ve ark. (2012)

YS: Yumurta sayısı, D: Doğurganlık, FO: Folikül oluşumu, FG: Folikül gelişimi, ÜP: Üreme performansı, YO: Yumurtlama oranı, LE: Lentivirüs enfeksiyonu, OG: Oosit gelişimi.

1.9.GDF9 Geni

Koyun etinin küresel tüketimi, insan nüfusunun artışına paralel olarak artmaktadır. 2029 yılında, kişi başına düşen ortalama koyun eti tüketiminin 4,2 kg'a ulaşması beklenmektedir (OECD, 2021). Koyun eti talebini karşılamak için ana odak noktası kuzu sayısını ve verimini artırmaktır (Hossain ve ark., 2020). Bu nedenle, kuzu sayısını veya koyun başına ikiz oranını artırma ve canlı ağırlığı iyileştirme çalışmalarının gelecekte daha da önemli hale gelmesi muhtemeldir. İstenilen üretim seviyesine ulaşmak için, geleneksel üretim yöntemlerinin yanı sıra dünya çapında genetik iyileştirme çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Bu anlamda, belirli bir özelliğin genetik çeşitliliği hakkında bilgi sağlayan polimorfizm çalışmalarının bir başlangıç noktası olarak önemli olduğu söylenebilir(Kırıkçı,2021).

Doğurganlık ve vücut ağırlığı, birçok genden oluşan ve çevresel faktörlerden etkilenen özelliklerdir. Bu niceliksel özelliklerin iyileştirilmesinin, daha sonraki yaşamda ifade edilen kalıtım örüntüleri, düşük kalıtımsallıkları ve zaman alıcı doğaları nedeniyle geleneksel yöntemlerle sınırlı olduğu iyi bilinmektedir (Calus ve ark. 2013). Geleneksel yetiştirme yöntemleriyle yavru sayısının ve büyüme hızının genetik ilerlemesi, diğer birçok niceliksel özellikte olduğu gibi %1 ila %2 arasında değişmektedir (Bradford, 1986). Bir cinsin genetik iyileştirilmesine karar vermeden önce genetik çeşitliliği ortaya çıkarmak ve ekonomik açıdan önemli özelliklerde majör mutasyonları tespit etmek önemlidir (Bradford,1986).

Genetik çeşitlilik, çeşitli niceliksel özelliklerin sürdürülmesi ve iyileştirilmesi için önemlidir ve hem üreme programlarında hem de ilişkilendirme çalışmalarında mevcut olmalıdır (Hill, 2000).

Büyüme farklılaşma faktörü 9 (GDF9), koyunlarda büyüme hızı ve yavru sayısı özellikleri için en çok araştırılan genlerden birisidir. Koyunlarda, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF-B) ailesinin bir üyesi olan ve kromozom 5'te bulunan GDF9 geninin, ilkel folikül gelişimi ve granüloza hücre proliferasyonu üzerinde bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Abdoli ve ark., 2016). Bugüne kadar, Hanrahan ve ark. (2004) tarafından, beşi aminoasit dizisini değiştiren sekiz farklı mutasyon (G1 ila G8) bildirilmiştir. Birçok çalışma, GDF9 geninin heterozigotmutantalelini taşıyan koyunların, homozigot olanlara göre daha fazla yavru sayısına sahip olduğunu göstermiştir. GDF9 ekzon 1 260. nükleotidde G–A baz

değişimi sonucu oluşan G1 (FecG1) mutasyonu 87. aminoasidinde Arjinin'nin (R) Histamin (H) ile yer değiştirmesine neden olmaktadır (Hanrahan ve ark., 2004). Çalışmalar bu gen bakımından heterozigotgenotipe sahip koyunlarda ovulasyon oranlarının (1.88–1.78) homozigot olanlardan (1.22–1.16) yüksek olduğunu bildirmektedir (Moradband ve ark. 2011; Paz ve ark. 2015; Gorlov ve ark. 2018).

1.10.BMP15 Geni

Birçok çalışma koyunların üreme performansının genetik çeşitlilikten etkilendiğini göstermiştir. Genlerin polimorfizmini bulmak koyun üremesi için potansiyel moleküler genetik belirteçler sağlayabilir.

Geleneksel üreme programı tipik olarak, nüfusun gelişen talebini karşılamak için çiftlik hayvanlarının üretim performansını artırmaya odaklanır. Ancak, en basit şekilde üretim eğilimleri için seçim yapmak, korkunç genetik korelasyon nedeniyle birçok uygunluk eğiliminin azalmasına neden olacaktır (Mishra, 2014). Koyunlarda çoklu doğum oranı üzerine etkili olduğu kanıtlanan başlıca üç önemli aday gen bulunmaktadır. Bunlar bone morphogenic protein 15 (BMP15), bone morphogenetic protein receptor 1B (BMPRI1B) ve growthdifferentiationfactor 9 (GDF9) genleridir (Vage ve ark. 2013). Bu genler üzerinde yer alan mutasyonlar koyunlarda ovulasyon ve çoklu doğum oranlarında artış sağlama eğilimindedirler (Davis, 1991).

BMP15 geninin ifadesi koyun yumurtalığında RT-PCR ile doğrulandı. Yerinde hibridizasyon, koyun yumurtalığındaki BMP15 mRNA'sının yalnızca oositlerde ifade edildiğini ve kodlanmış ürününün oosit gelişiminde önemli bir rol oynadığını gösterdi (Galloway ve ark,2000). BMP15 geni koyunun X kromozomunda bulunur ve 1179 nükleotid tarafından kodlanan iki eksondan oluşur (Galloway ve ark.2000). Bu gen, 393 aminoasit kalıntısından oluşan bir prepropeptid kodlar (Davis, 1995). Aktif olgun BMP15 peptidinin uzunluğu 125 aminoasittir (Davis,1995). Şu anda, koyunlardaBMP15 geninin doğurganlığıyla ilişkili birden fazla mutasyon tanımlanmıştır (Davis, 2001). Mutant heterozigot bireylerin koyunları daha yüksek bir yumurtlama sayısına ulaşırken, homozigotmutant bireyler yumurtalıkta birincil foliküllerin olmaması nedeniyle tamamen kısırdır(Hanrahan ve ark,2004).

2.MATERYAL 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),PZRcihazı(BioRADThermalCycler),hassas terazi (Vibra), otomatik pipetler(Eppendorf veya Biohit), inkubator(nüve), spektrofotometri(J.P. selecta) , elektroforez tankı (TermoScientific–Gel HorizontalElectrophoresisSystem), NanoDrop(Thermofisher), DNA dizileme (3130x1 GeneticAnalyzers, AppliedBiosystems), jel görüntüleme (TJP) kullanılmıştır.

2.3. Örneklerin Toplanması

Araştırma materyali, Tunceli ilinin Ovacık ilçesinden toplam 100 Assaf koyunundan alınan kan örneklerinden oluşmaktadır. Alınan kan örnekleri kan tüplerine küpe numaraları ve çalışmada kullanılmak üzere Assaf (AS-1 vb.) şeklinde numaralandırılmıştır. Soğuk zincirle laboratuara taşınmış ve tüm işlemler boyunca -20 °C’ de muhafaza edilmiştir.



Resim 2.1. Assaf koyunlarından kan alınma süreci

2.5.DNA İzolasyonu

Kandan DNA izolasyonu Qiagen DNeasy Blood & Tissue DNA kiti kullanılmıştır, üretici firmanın protokolüne uyularak yapılmıştır. Sonuç alınamaması veya saflık ve konsantrasyonun 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 absorpsiyon 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.

2.5.1. Fenotipik verilerin toplanması

Kan kayıt verileri, Tunceli ilinde halk elinden yetiştirilmiş yaklaşık 100 Assaf ırkı koyunlarının kan verileri toplanmıştır.

2.5.2. Genotipleme

GDF9 ve BMP15 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 saniye ve uzama 72 °C'de 30 saniye) 30 döngü olarak planlanmış ve yapılmıştır. Her bir PZR reaksiyonunda 1 mM dNTP, DNA polimeraz (5 U μ l⁻¹) 1 x PCR solüsyonu, 20 pikomol ileri ve geri primeri kullanılarak toplam 50 μ l olarak yapılmıştır. PZR sonuçları ürün büyüklüklerine göre %1,5 agaroz jelde görüntülenmiştir. PZR'ı çalışan örneklerin genotiplendirilmesi için restriksiyon kesme enzimleri olan 'AluI, HinfI, PstI, DraI, RsaI, SmaI' kullanılmıştır.

RFLP analizi için her enzimin kendi sıcaklığında sıcak su banyosunda kesme işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 10 μ l PCR ürünü, toplam hacim 20 μ l olacak şekilde enzim reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bütün işlemler üretici firmaların protokollerine göre yapılmıştır. Reaksiyon karışımları, AluI, HinfI, PstI, DraI, RsaI, SmaI enzimlerinin protokolleri (Total vol: 20 μ l), 10 μ l PZR reaksiyon ürünü (~0,2 μ g of DNA), 5 μ l nükleaz içermeyen su, 4 μ l 10x buffer ve 1 μ l enzim olacak şekilde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı, hafifçe birkaç dakika 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.Çalışmada kullanılan primer listesi

Gen Adı	Bölge	PrimerSequence (5'-3')	Kesme Enzimi	Kaynak
BMP15	Exon 1	F:ACATGTTGCTGAACACCAAGC R:AGGCAATGTGAAGCCTGACA	AluI, HinfI,SmaI, RsaI	Çelikeloğlu ve ark.,2021
GDF9	Exon 1	F:GAATTGAACCTAGCCCACCCAC R:AGCCTACATCAACCCATGAGGC	AluI, PstI, SmaI	
	Exon 2	F:AGGAACCTTTCCATCAGTGGA R:TCCTCCCAAAGGCATAGACAGG	AluI, HinfI, DraI	

2.5.3 Veri ve istatistik analizleri

Gen bölgelerindeki SNP'leri yönünden popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıklarının belirlenmesi için de Kikare analizi yapılmıştır (OEGE 2008). GDIcall Online Calculator(<http://www.msrcall.com/Gdicall.aspx>, son erişim: 30 Kasım 2023) kullanılarak polimorfizm bilgi içeriği (PIC) hesaplanmıştır (Li ve ark., 2018). 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. 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.

2.5.4 Etik Kurul Onay Bilgileri

Etik kurul adı: Munzur Üniversitesi Hayvan Deneylei Yerele Etik Kurulu

Etik kurul tarihi:29.07.2024

Etik kurul toplantı sayısı:40

Etik kurul kararının sayısı:40-01

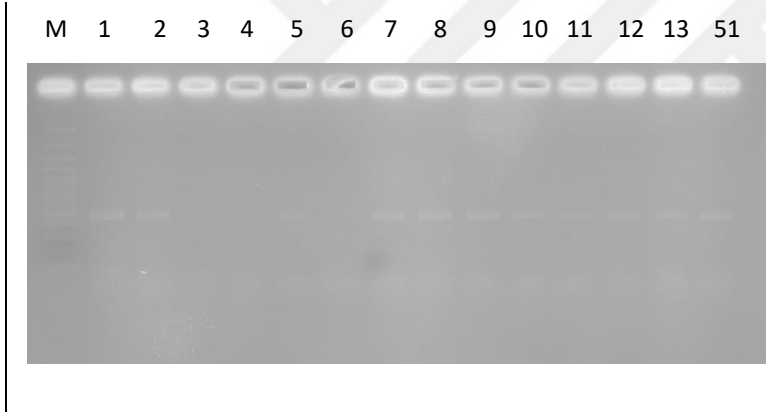


3.BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

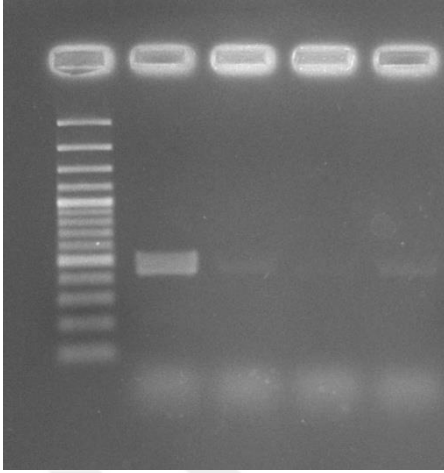
Assaf koyunlarından alınan kan örneklerinin laboratuvar ortamında PCR cihazları içerisinde DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA %1 veya %1,5'lük agaroz jel üzerinde elektroforez kullanılarak koşturulmuştur. Assaf koyunlarından alınan 100 kan örneğinin tümünden DNA izolasyonu yapılmış ve tümünde ki DNA varlığı pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bu işlemler doğrultusunda 11 veriye (Resim 3.1, 3.2,3.3...) ulaşılmıştır.

3.2. BMP15 PCR Görüntüleri



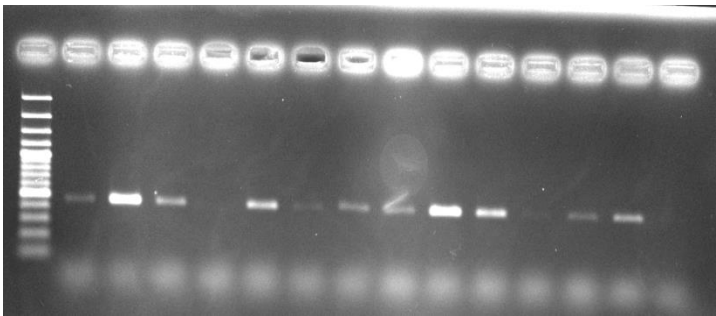
Resim 3.1. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

Elde edilen DNA örneği her bir kuyucukta etkin bir şekilde 1,2,7,8,9,10,11,12,13,51 örneklerinde gözlemlenmiştir. Agaroz jel elektroforezi sonucu kuyuların hepsinde net, parlak ve tek bir bant vardır. PCR ürünleri birbirine benzer büyüklüktedir. Bu PCR da BMP15 geni hedeflenmiş ve düzgün şekilde çoğaltılmıştır. Kontaminasyon ya da amplifikasyon eksikliği görünmemektedir.



Resim 3.2. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

Marker(M) bant büyüklüklerini karşılaştırmak için kullanılmaktadır. 33,34,35,36 ise her bir PCR örneğini temsil etmektedir. Her bir numaralı kuyucukta tek ve kalın bant gözükmekte, dağılma veya ek bant gözlenmemektedir. BuPCR'ın spesifik çalıştığını ve yüksek kaliteli DNA elde edildiğini göstermektedir.Hedef DNA dizisi doğru şekilde çoğaltılmıştır ve kontaminasyon belirtisi yoktur.

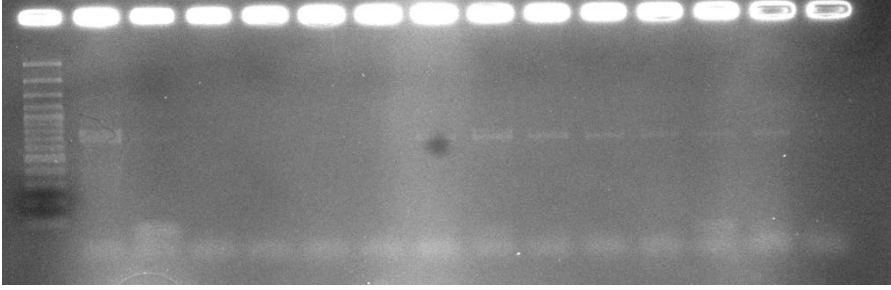


Resim 3.3Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

37,38,39,41,42,43,44,45,46,48,49 ise her bir PCR örneğini temsil etmektedir. PCR başarılıdır ve spesifik bir ürün çoğaltılmıştır. DNA kalitesi ve PCR koşulları iyi görünmektedir. Bantlar oldukça belirgin, birbirine paralel ve aynı seviyededir.

3.3. GDF9 Exon 1 PCR Görüntüleri

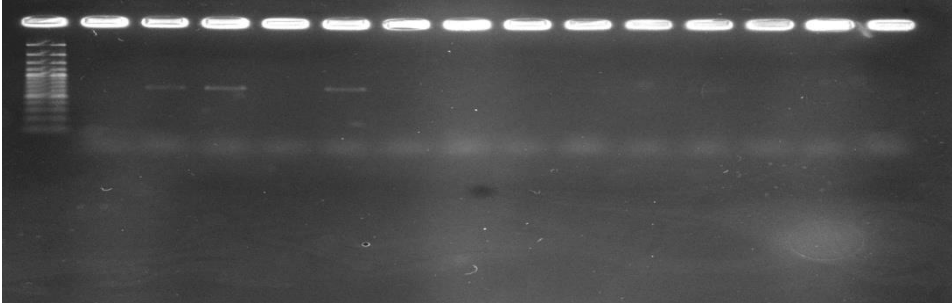
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Resim 3.4. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

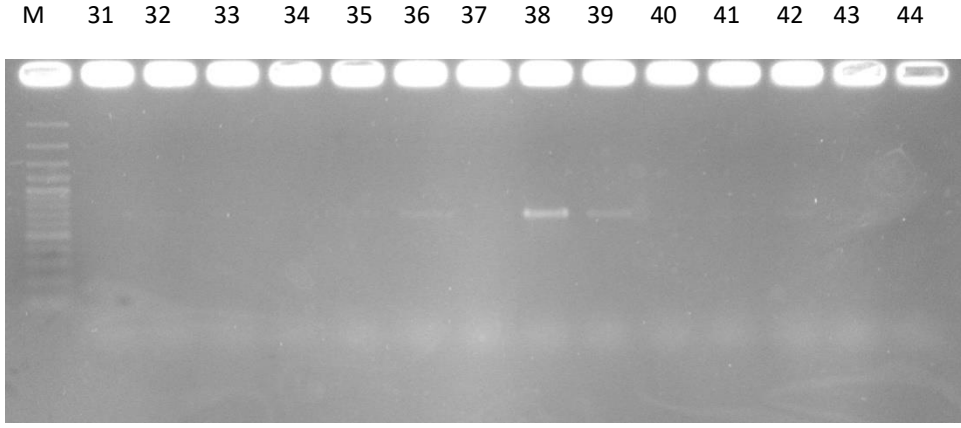
1,2,8,9,10,12,13 ve 14 numaralı kuyularda belirgin birer bant vardır. Bu, örneklerde PCR'in başarılı olduğunu göstermektedir. 3,4,5,6,7 ve 11 numaralı kuyularda ise ya çok zayıf bantlar vardır ya da hiç bant görünmemektedir. Bu örneklerde PCR başarısız olmuş veya DNA örneği yeterli olmamış olabilir. PCR örneğinde bulaşık görüntü fazla yoktur bu da özgül bir amplifikasyon olduğunu göstermektedir.

M 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29



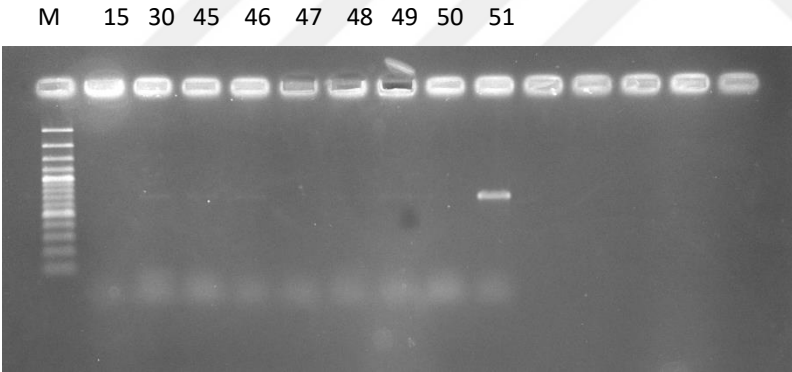
Resim 3.5. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

Kuyucuklarda 16,17,18 gibi numaralarda yoğun ve net bantlar görünmektedir. Bu örneklerde başarılı amplifikasyon olduğu görünmektedir. Özellikle orta ve son numaralara doğru bazı kuyucuklarda bantlar ya çok silik ya da hiç görünmemektedir. Bu örneklerde PCR verimi düşük veya hiç amplifikasyon olmamış olabilir.



Resim 3.6. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

32,33,39,41 ve 42 numaralı örneklerde DNA bantları gayet belirgin ve parlak şekilde gözlemlenmiştir. Diğer bantlarda ise DNA izole edilemediğini ya da çok düşük miktarda DNA bulunduğunu göstermektedir.

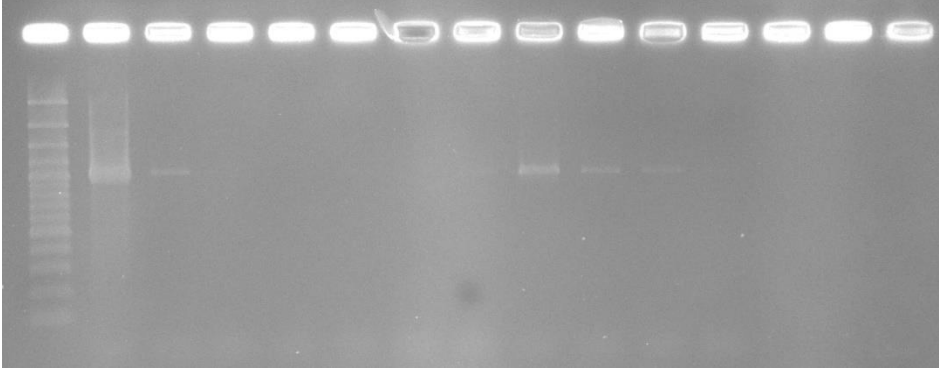


Resim 3.7Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

Agaroz jel elektroforezi sonucu çoğu örnekte başarılı bir PCR amplifikasyonu vardır. Marker düzgün çalışılmış, jel iyi koşulmuştur. 47-49 numaralı kuyucuklarda ise biraz bozulma gerçekleşmiş olabilir.

3.4. GDF9 Exon 2 PCR Görüntüleri

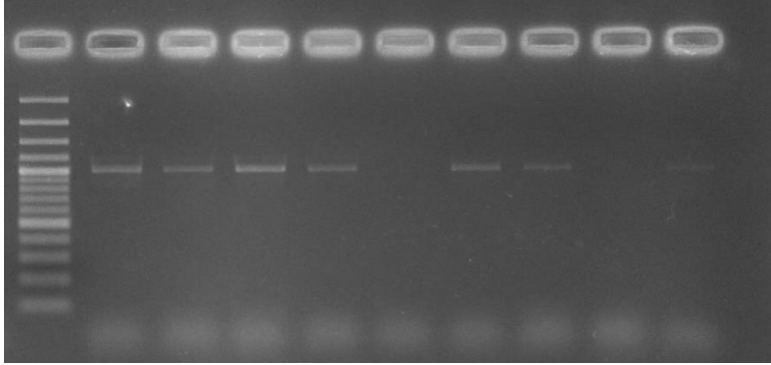
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11



Resim 3.8. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

PCR sonucu başarılı olmuştur. Neredeyse tüm örneklerde spesifik ve net bantlar gözükmemektedir. Kontaminasyon gözükmemektedir. Bantların hepsi aynı hizadadır, yani tüm örnekler aynı büyüklükte ürün taşımışlardır. Örneklerde GDF9 Exon 2 bölgesi başarılı bir şekilde çoğaltılmıştır.

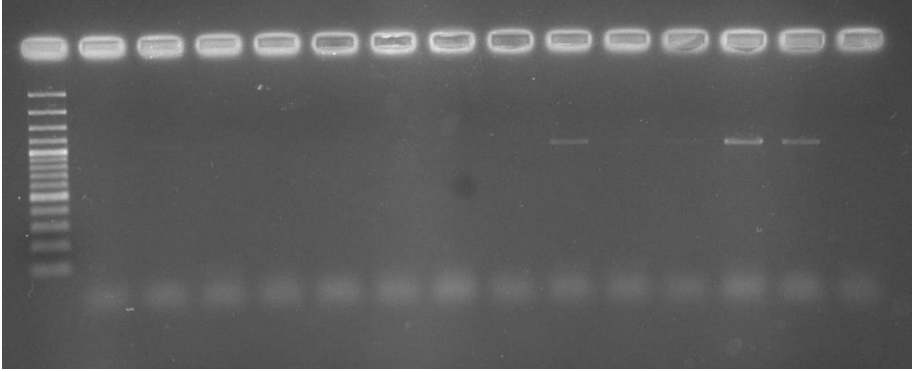
M 12 13 14 15 16 17 18 19 20



Resim 3.9. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

12-20 arası numaraları kuyularda örnekler vardır. Bantlar düzgün ve nettir, DNA'nın bozulmadığı ve PCR'in spesifik çalıştığını göstermektedir. Tüm örneklerdeki bantların yaklaşık aynı seviyede olması, ürün boyutlarının tutarlı olduğunu ve PCR'in tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Örneklerde hedef DNA düzgün bir şekilde çoğaltılmıştır.

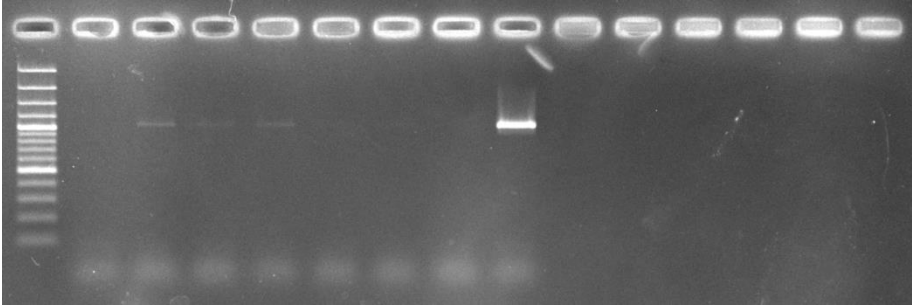
M 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34



Resim 3.10. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

Çoğu örnekte DNA izolasyonu başarılıdır. 21-31 arası DNA miktarı iyi ve nettir. 32, 33 ve 34 numaralı örneklerde bantlar biraz daha zayıf çıkmıştır. Bu, bu örneklerde DNA miktarının az olduğunu veya hafif bir bozulma olabileceğini gösterebilmektedir.

M 35 39 41 42 48 49 50 51



Resim 3.11. Kandan elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel üzerindeki görünümü

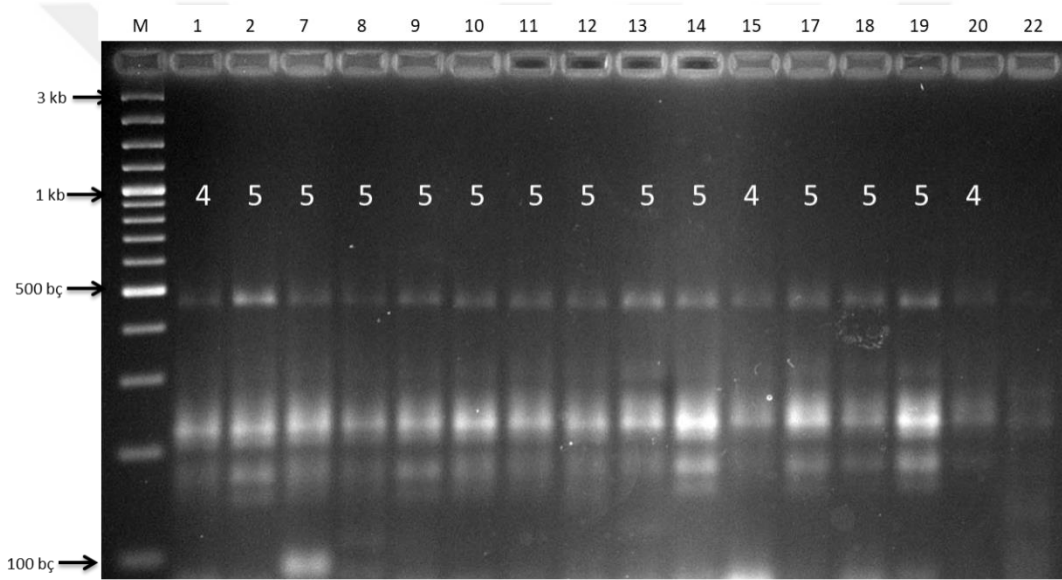
Bu agaroz jel elektroforezi sonucunda, 35, 39, 41, 42, 48, 49, 50 ve 51 numaralı örneklerde DNA bantları mevcuttur. Bantlar genelde üst kısımda ve oldukça yoğundur. 42 numaralı örneklerde daha belirgin ve keskin bir bant vardır. DNA ekstrasyonu başarılı olmuştur. Örneklerde genel olarak kaliteli ve miktarı yeterli DNA vardır.

3.5. PZR-RFLP Genotip Sonuçları

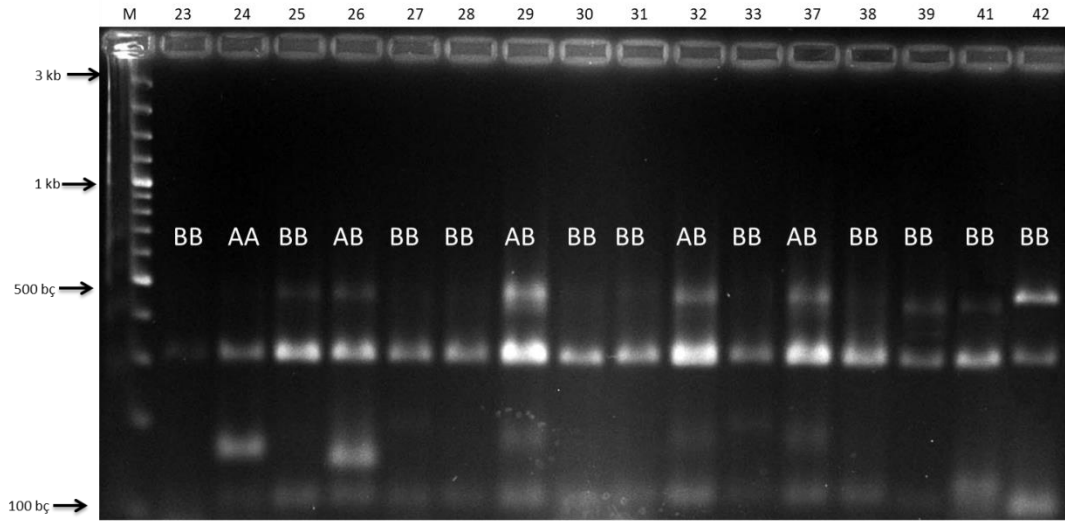
Çalışmada kullanılan restriksiyonendonükleazlar Materyal Metod kısmında özetlenmiştir.

3.5. 1. BMP15-Exon 1 genotip sonuçları

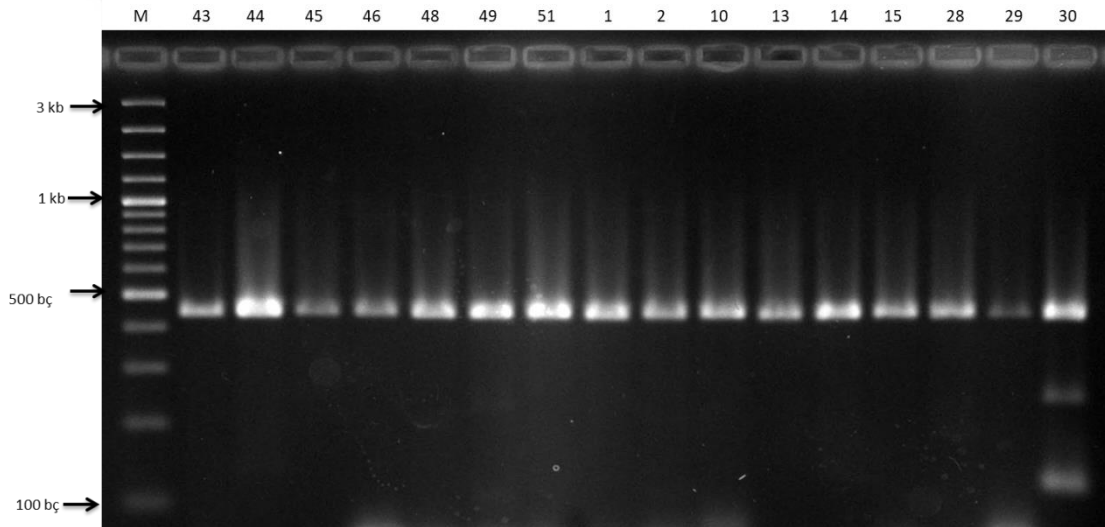
BMP15-Exon 1 bölgesi için yapılan PZR işleminde yaklaşık 462bç uzunluğunda bir bölge elde edilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri sırasıyla AluI, HinfI, SmaI, RsaI restriksiyon enzimleri ile kesilmesinin ardından elektroforez işlemi yapılmıştır.



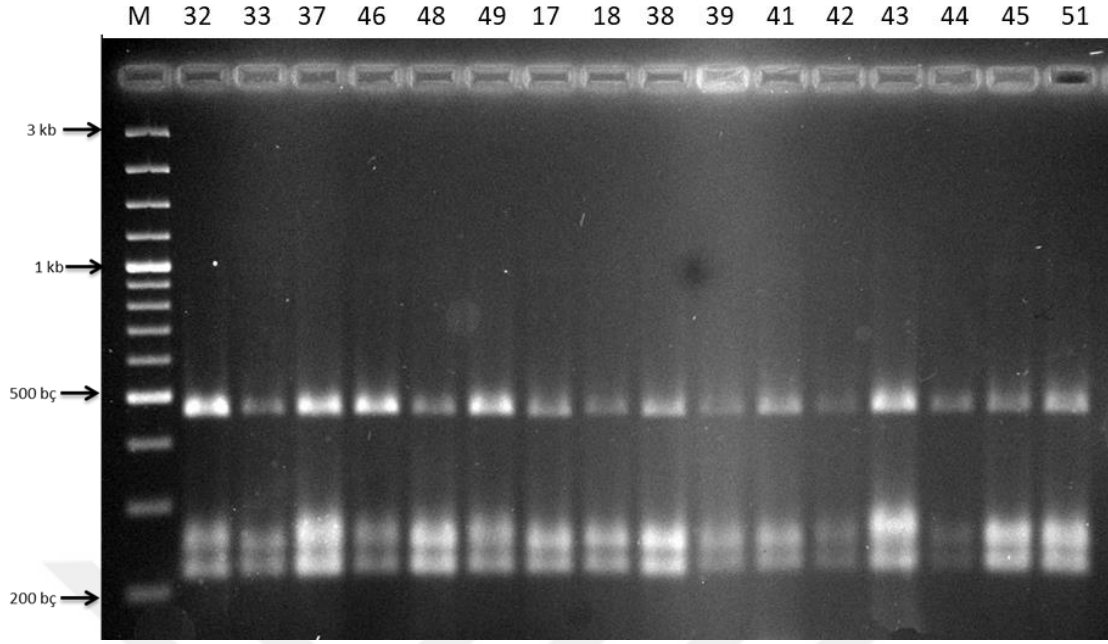
Resim 3.12.BMP15-Exon 1 AluI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)



Resim3.13. BMP15-Exon 1 HinfI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)

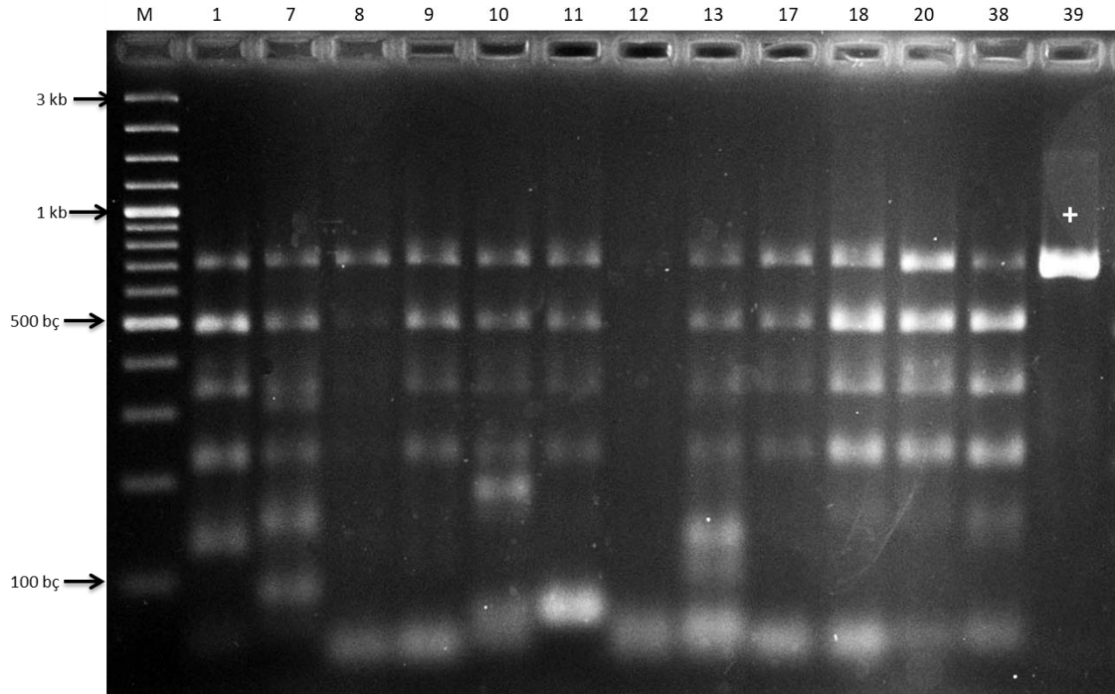


Resim3.14. BMP15-Exon 1 SmaI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)

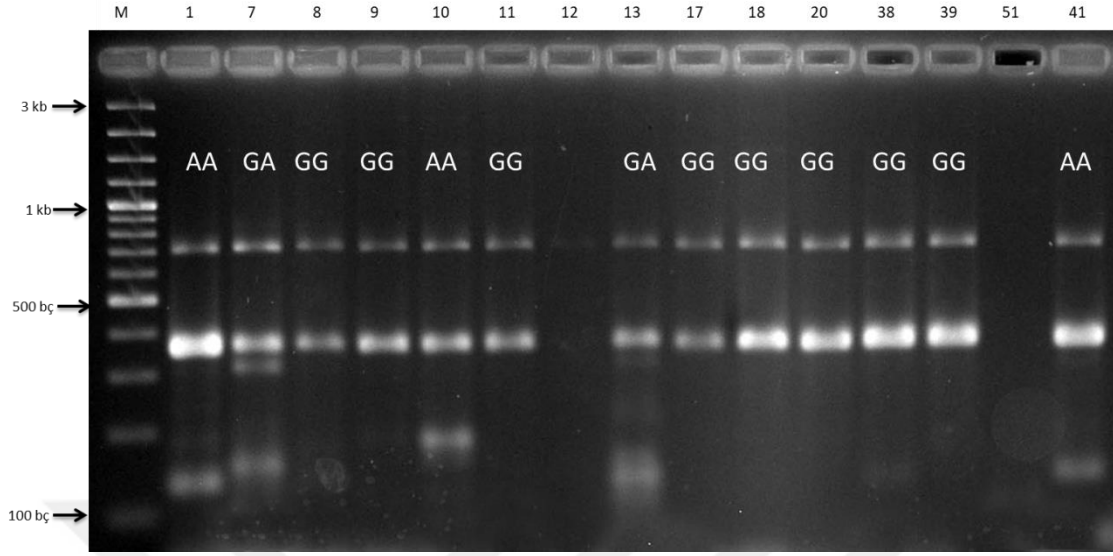


Resim 3.15. BMP15-Exon 1 RsaI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)

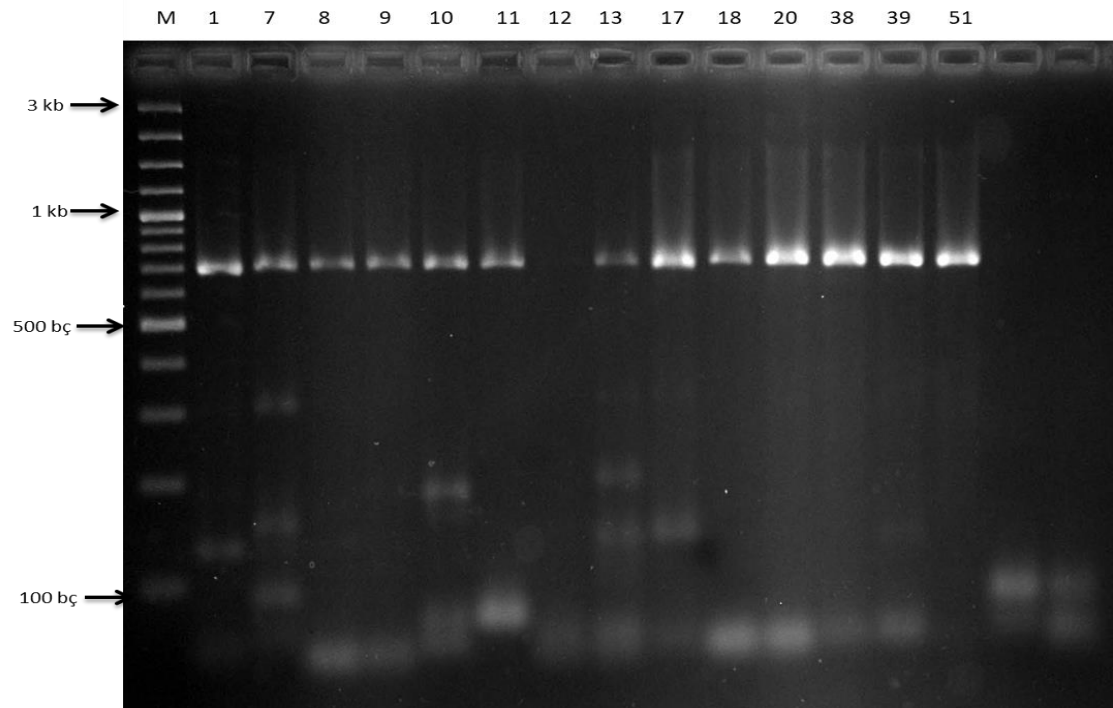
3.5. 2. GDF9 -Exon 1 genotip sonuçları



Resim 3.16.GDF9-Exon 1-AluIRE ile genotiplendirme (M=100 bç)

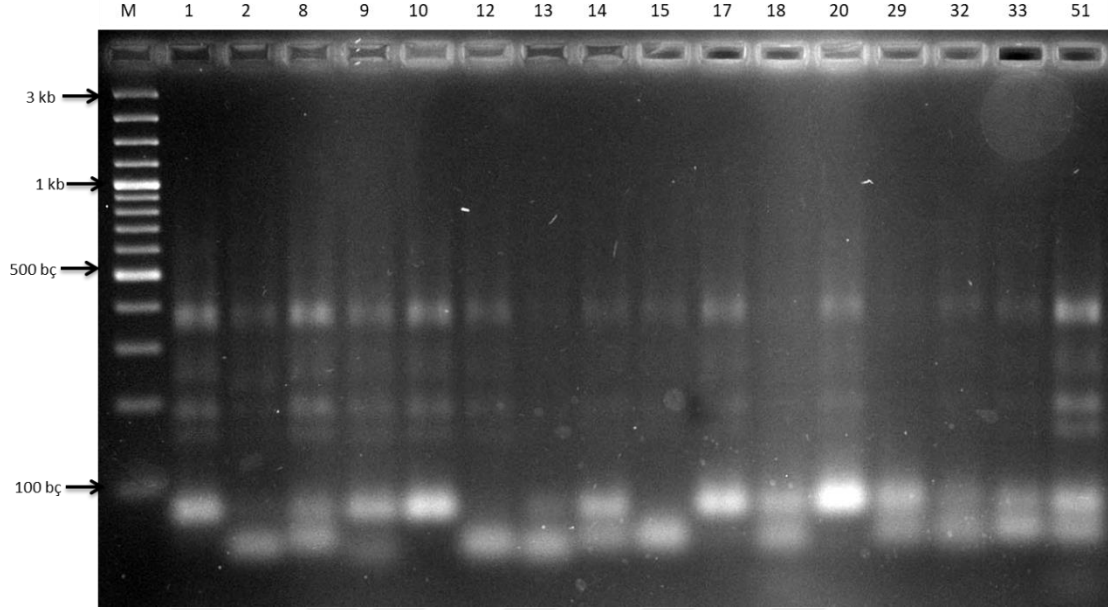


Resim 3.17. GDF9-Exon 1- PstIRE ile genotiplendirme (M=100 bç)

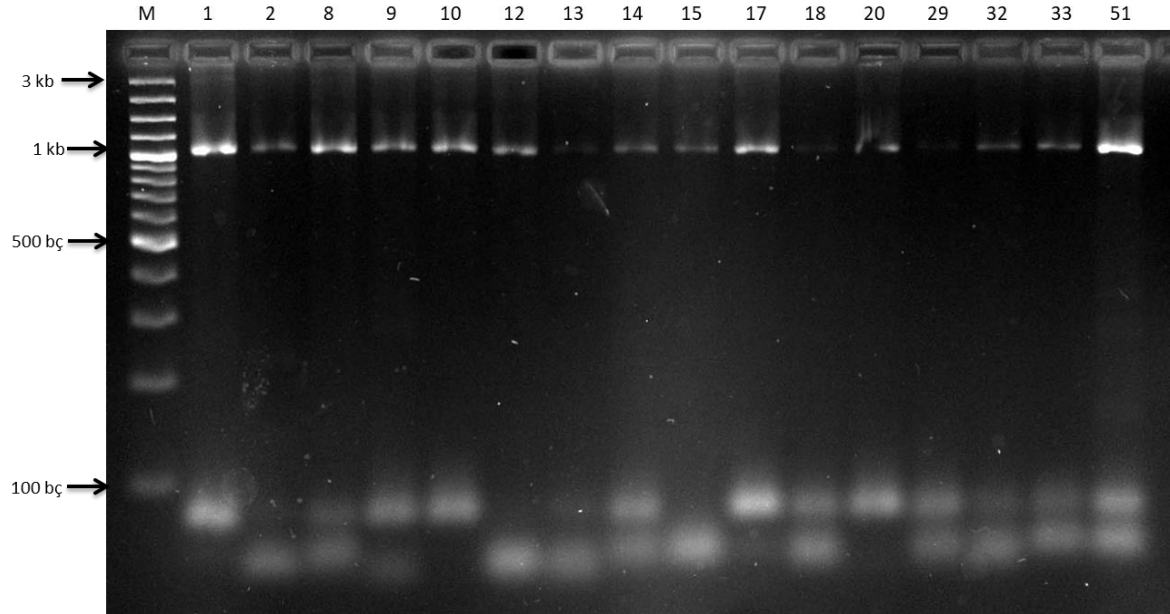


Resim 3.18. GDF9-Exon 1- SmaI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)

3.5.3. GDF9 -Exon 2 genotip sonuçları



Resim 3.19. GDF9-Exon 2- AluI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)



Resim 3.20.GDF9-Exon 2- DraI RE ile genotiplendirme (M=100 bç)

GDF9 geni, koyunlarda özellikle üreme performansı ile yakından ilişkili bir genidir. Bu genin polimorfizmleri, yumurtalık fonksiyonu, ovülasyon oranı ve dolayısıyla döl verimi

üzerinde önemli etkiler gösterebilir. İvesi koyunları gibi yerli ırklarda bu genin varyasyonlarının tespiti, seleksiyon programları açısından büyük öneme sahiptir.

Tablo 3.1. Assaf koyunlarında BMP15, GDF9 E1 ve GDF9 E2 gen bölgelerinin genotip ve allel frekansları

Gen Bölgesi	Genotip Frekansı (%)			Allel Frekansı (%)		Ho*	He*	Ne*	PIC*
	AA			A					
BMP15_AluI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00
	AA	AB	BB	A	B				
BMP15_HinfI	23	23	54	34.5	65.5	0.54	0.45	1.824	0.349
	AA			A					
BMP15_SmaI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00
	AA			A					
BMP15_RsaI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00
	AA			A					
GDF9_E1_AluI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00
	AA	AG	GG	A	G				
GDF9_E1_PstI	30	18	52	39	61	0.52	0.47	1.907	0.362
	AA			A					
GDF9_E1_SmaI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00
	AA			A					
GDF9_E2_AluI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00
	AA	AB	BB	A	B				
GDF9_E2_HinfI	31	1	68	31.5	68.50	0.56	0.43	1.759	0.338
	A			A					
GDF9_E2_DraI	100			100		0,00	0,00	0,00	0,00

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

Tablo 3.2. Assaf koyunlarında BMP15, GDF9 E1 ve GDF9 E2 gen bölgelerinin Hardy-Weinberg Denge analiz sonuçları

Gen Bölgesi	Hardy-Weinberg Dengesine göre					
	Gözlemlenen	Beklenen	Gözlemlenen	Beklenen	Gözlemlenen	Beklenen
	AA		AB		BB	
BMP15_HinfI	23	11,9	23	45,2	54	42,9
Ki-kare	24,11					
	AA		AA		AA	
BMP15_SmaI	100		100		100	
	AA		GA		GG	
GDF9_E1_PstI	30	15,2	18	47,6	52	37,2

Ki-kare		38,64				
	AA	AB		BB		
GDF9_E2_HinfI	31	9,9	1	43,2	68	46,9
Ki-kare		95,41				

Tablo 3.3. Assafkoyunlarındaki BMP15, GDF9 E1 ve GDF9 E2 genlerinin farklı genotiplerinin doğum ağırlığı, yavru sayısı ve cinsiyeti, süt verimi ve 7 farklı kalite özellikleri arasındaki ilişkiler

Gene	SNPs	Genotypes (N)	Doğurganlık
BMP15_HinfI		AA (23)	0.217±0.42 ^b
		AB (23)	0.826±0.71 ^{ab}
		BB (54)	1.68±0.80 ^a
		P value	0.010**
GDF9_E1_PstI		AA (30)	1.80±0.55 ^a
		GA (18)	0.22±0.64 ^b
		GG (52)	1.092±0.63 ^{ab}
		P value	0.00**
GDF9_E2_HinfI		AA (31)	0.37±0.79
		AB (1)	0.00
		BB (68)	1.15±0.808
		P value	0.69

Not: P<0.05**

BMP15 ve GDF9 E1’de belirlenen BB-AA genotipleri diğer genotiplere göre doğurganlıkla ilişkili olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. (P<0.05). GDF9 E2 de ise doğurganlıkla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Bir çalışmada GDF9 geni ile ilgili Kiraz ve ark (2024) İvesi koyunlarında GDF9/E2 bölgesinde dört yeni SNP keşfetmişlerdir. Gen dizisi bilgisine dayanarak, tüm SNP'lerin (SNP1; g.42114766 G>A, SNP2; g.42114509 G>A, SNP3; g.42114493 G>A ve SNP4; g.42114447T>C) yapısal geçiş mutasyonlarına sahip olduğunu görmüşlerdir. SNP1, SNP2 ve SNP3 (A/G) polimorfizm gösterirken, SNP4 (T/C) polimorfik bir yapıya sahipti. Daha spesifik olarak, SNP1, 2 ve 3 purin-purin ikameleri (A↔G) sergilerken, SNP4 nokta mutasyonları şeklinde pirimidin-pirimidin değişiklikleri (T↔C) göstermişlerdir. Popülasyon genetik parametreleri açısından SNP1, 2 ve 3'ün en yüksek alel frekansları A aleli için sırasıyla 0,91, 0,96 ve 0,95, en düşük alel frekansları ise G aleli için sırasıyla 0,09, 0,04 ve 0,05 olarak hesaplanmıştır. Buna karşılık SNP4 için T ve C alellerinin frekansları sırasıyla 0,94 ve 0,06 olarak hesaplanmıştır. Son olarak, tüm SNP

genotip frekansları için İvesi popülasyonunun HWE dengesinde olmadığı bulunmuştur. H ve PIC değerlerinin de düşük olduğu bulunmuştur ($P < 0,05$).

Başka bir çalışmada ise GDF9 geni ile ilgili Khuzaive ark (2019) İvesi koyun örneklerinde GDF9'un Ekson-1'i için genotip sayısı ve yüzdesi, genotipler arasında yüksek anlamlı farklılıklar olduğunu göstermişlerdir ($P < 0,01$), homozigot (vahşi) GG yüzdesi %80 iken, heterozigot GA yüzdesi %18 ve genotip (mutant) AA yüzdesi %2 idi, bu Bahramive diğerleri, (2014), Kolosovve diğerleri, (2015) tarafından bildirilenlerle uyumludur. GDF9 geninin Ekson-1'i üzerine yaptıkları çalışmada vahşi genotip GG yüzdesinin daha büyük olduğunu, ardından heterozigot GA'nın geldiğini, mutant AA'nın ise olmadığını bulmuşlardır. Toplam süt üretiminde GDF9'un Ekson-1 genotipleri arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiş ve koyunların laktasyon dönemi, GDF9 gen ifadesinden oluşan proteinlerin süt üretimi ve laktasyon dönemini etkilemediği, hayvanlardaki diğer özelliklerden etkilenebileceği anlamına gelmiştir. Heterozigot GA ile oluşturulan İvesi koyunlarının doğurganlığında genotipler arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermişlerdir ve yaklaşık $1,33 = 0,08$ kuzu/koyun olarak bulmuşlardır. GDF9 geninin etkisi yumurtalık foliküllerinin büyümesinde çok spesifik olduğu belirtilmiştir (Tang ve ark., 2013). Bu, heterozigottan elde edilen ürün proteininin geninin yumurtalık foliküllerinin büyümesinde ve ardından yumurtlama oranında artışta ve ardından yavru sayısında artışta, kuzu sayısında artışta, koyunlarda ikizlenme yüzdesinde vahşi genotip GG'den daha fazla artışta daha olumlu etkisi vardır ve bu, GDF9 geni üzerinde yapılan tüm çalışmalarla kabul edilmektedir ki bu genin çoğu mutasyonu için heterozigot olan koyunlar, bu mutasyonlarda diğer genotiplerdeki koyunlardan daha fazla doğurganlığa sahiptir (Hanrahan ve ark., 2004).

Başka bir çalışmada da BMP15 geni ile ilgili Gedik, (2021) mevcut çalışmada, Inverdale mutasyonu içeren 154 bp DNA parçaları başarıyla çoğaltılmıştır. Bu PCR ürünleri daha sonra kısıtlama enzimi XbaI ile sindirilmiş ve %2 jel elektroforezinde ayrılmıştır. Mutasyon bir XbaI tanıma bölgesi oluşturduğundan, heterozigot taşıyıcı hayvanların ampliconları 124 ve 30 bp'ye kesilmiştir. XbaI tanıma bölgesinden yoksun taşıyıcı olmayan hayvanlar 154 bp'lik tek bir bant vermiştir. XbaI ile sindirimden sonra herhangi bir kısıtlama tespit edilmemiş; tüm örnekler 154 bp'de tek bir bant vermiş ve FecXI mutasyonu için negatif sonuç göstermiştir. FecXI mutasyonunun bu çalışmada kullanılan Türk İvesi koyunlarının üremesinde hiçbir etkisi yoktur. FecXI mutasyonunun

olmamasına rağmen, BMP15 geninin diğer lokusları ve doğurganlık için önemli bir gen, İvesi koyunlarının çoklu doğum özelliklerinin genetik açıklamasını sağlayabilir. Yavru sayısını belirleyen ana genlerin belirlenmesi, ekonomik açıdan çok önemlidir. Sonuç olarak, Türk koyun ırklarına mutant aleller sokmak için iyi düşünülmüş bir girişim, daha büyük yavru sayılarına yol açabilir ve bu da yetiştirici gelirini artırabilir.

Başka bir çalışmada ise BMP15 geninde Ağyar ve ark.(2022) İncelenen İvesi koyunlarının monomorfik bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Başka bir deyişle, çalışmadaki tüm bireyler FecXI mutasyonunu taşıymıyormuş. Bu bulgu, aynı cinste mutasyonu araştıran Gedik'in (2021) sonuçlarına benziyormuş. Çeşitli araştırmacılar tarafından yürütülen önceki çalışmalar da bu çalışmayla aynı sonucu İvesi ırkı için bildirmiştir (Karlı ve ark., 2010; Gürsel ve ark., 2011; Karlı ve ark., 2012). Özetlemek gerekirse, bu mutasyon yalnızca İvesi ırkında değil, aynı zamanda Türkiye'deki üretken Sakız ırkında ve diğer koyun ırklarında da kaydedilmemiştir. Dahası, BMP15 FecXI mutasyonu 13 farklı ulustan 21 yüksek üretken koyun ırkında ve suşunda da bildirilmemiştir (Davis ve ark., 2006). Günümüzde, koyunlarda çoklu doğumlarla ilişkili gen bölgelerini belirleme çabaları dünya çapında artmaktadır. Abdoli ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, İran Lori ırkında üç aday gende hiçbir mutasyon keşfedilmemiştir. Ancak, aynı araştırmacılar GWAS gibi kapsamlı yaklaşımlar kullanarak çalışmayı yürüttüklerinde, birkaç gen bölgesinin çoklu doğumlarla ilişkili olduğunu keşfetmişlerdir (Abdoli ve ark, 2018). Bilgiye göre, Türkiye'de İvesi koyunlarının BMP15, GDF9 ve BMP1B genleri için kapsamlı bir şekilde test edildiğini iddia etmek zordur. İvesi ırkında, Gootwine ve ark. (2008) tarafından 1986'da karlılığı artırmak için İvesi koyunlarına FecB (Booroola) gen B alelini tanıtma amacıyla bir introgresyon çalışması yürütülmüştür.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tunceli bölgesinde yetiştirilen Assaf koyunlarında belirlenen BMP15 ve GDF9 belirlenen genetik farklılıkların koyunlarda doğurganlıkla ilişkili olabileceği elde edilen sonuçlarla belirlenmiştir. Koyun ıslah çalışmalarında BMP15 ve GDF9 genlerinde belirlenen bu farklılıkların yerel koyun ırklarının genetik ilerlemeleri için potansiyeli bulunmaktadır. Bu açıdan tez çalışması kapsamında elde edilen veriler ileriki çalışmalar için temel oluşturabilmektedir.



5.KAYNAKLAR

- Abdoli, R., Mirhoseini, S. Z., GhaviHossein-Zadeh, N., Zamani, P., Gondro, C.,** 2018. Genome-wide association study to identify genomic regions affecting prolificacy in Lori-Bakhtiarisheep. *Animal Genetics*, 49(5), 488-491.
- Abdoli, R., Zamani, P., Mirhoseini, S. Z., GhaviHossein-Zadeh, N., Nadri, S.,** 2016. A review on prolificacy genes in sheep. *Reproduction in domestic animals*, 51(5), 631-637.
- Ağyar, O., Kırıkçı, K.,** 2022. Investigation of FecX1 mutation by PCR-RFLP method in İvesisheep breed. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 11(2), 88-93.
- Al-Jubori, S. M., Al-Khazraji, W. J., Al-Ani, A. A.,** 2019. Relationship of GDF-9 gene polymorphism with reproductive performance in İvesisheep. *Biochem. Cell. Arch*, 19(1), 1117.
- Al-Khuzai, F. L. J., Ahmed, J. R.,** 2019 Polymorphism of GDF9 (exon-1) gene and its association with milk production and prolificacy of İvesisheep.
- AL-Saadi, B. Q., Al-Salihi, A. A., AL-Anbari, N. N.,** 2017. Relationship between Bone Morphogenetic Protein 15 gene (BMP15) polymorphism and some productive and reproductive traits in İvesisheep. In *Karbala Journal of Agricultural Sciences: Proceedings of the Third Scientific Conference on Veterinary Medicine*.
- Anon.,** 1987. Genetic resources in livestock breeding. In *Biological Diversity in Turkey*, pp. 37–61, Ankara, Environmental Problems Foundation of Turkey. [Google Scholar](#)
- Anon.,** 2009. Türkiye Ciftlik Hayvanları Genetik Kaynakları Katalogu. Tarım ve Köylüleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü: Ankara. (Catalogue of Turkish Farm Animal Genetic Resources. General Directorate of Agricultural Research, Ministry of Agriculture and Rural Affairs: Ankara). [Google Scholar](#)
- Arbuckle, B. S., Makarewicz, C. A.,** 2009. The early management of cattle (*Bos taurus*) in Neolithic central Anatolia. *Antiquity*, 83(321), 669-686.
- Bahrami, Y., Bahrami, S., Mohammadi, H. R., Chekani-Azar, V., Mousavizadeh, S. A.,** 2014, July. The polymorphism of GDF-9 gene in Hisar sheep. In *Biological Forum* (Vol. 6, No. 2, p. 46). Research Trend.
- Bradford, G. E., Quirke, J. F., Sitorus, P., Inonu, I., Tiesnamurti, B., Bell, F. L., ... Torell, D. T.,** 1986. Reproduction in Javanese sheep: evidence for a gene with large effect on ovulation rate and litter size. *Journal of Animal Science*, 63(2), 418-431.
- Branca, A., Molle, G., Sitzia, M., Decandia, M., Landau, S.,** 2000. Short-term dietary effects on reproductive wastage after induced ovulation and body weights and carcass yields in karayaka sheep. *Asian J Anim, Vet Adv*, 5, 120-127.

- Cahill, L. P., Mariana, J. C., Mauleon, P., 1979.** Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *Reproduction*, 55(1), 27-36.
- Calus MPL., 2013.** Predicted accuracy of and response to genomic selection for new traits in dairy cattle. *Animal: an international journal of animal bioscience* 7(2):183-191. Hill W.G. 2000. Maintenance of quantitative genetic variation in animal breeding programmes. *Livestock Production Science* 63(2): 99-109
- Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., ... Wang, J. Y., 2007.** Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (Ovisaries). *Journal of Animal Science*, 85(3), 598-603.
- Çelikeloğlu, K., Tekerli, M., Erdoğan, M., Koçak, S., Hacan, Ö., Bozkurt, Z., 2021.** An investigation of the effects of BMPR1B, BMP15, and GDF9 genes on litter size in Ramlıçand Dağlıç sheep. *Archives Animal Breeding*, 64(1), 223-230.
- DAD-IS., 2010.** Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS). Food and Agriculture Organization of the United Nations (available at <http://www.fao.org/dadis/>). *Google Scholar*
- Davis, G. H., McEwan, J. C., Fennessy, P. F., Dodds, K. G Far quhar, P.A., 1991.** Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X chromosome of sheep. *BiolReprod*, 44, 620-624.
- Davis, G. H., McEwan, J. C., Fennessy, P. F., Dodds, K. G., 1995.** Discovery of the Inverdale gene (FecX).
- Davis, G.H., 2004.** Fecundity genes in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.001>.
- Davis, G.H., Balakrishnan, L., Ross, I.K., Wilson, T., Galloway, S.M., Lumsden, B.M., Notter, D.R., 2006.** Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecX I) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Anim. Reprod. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.001>.
- Davis, G.H., Montgomery, G.W., Allison, A.J., Kelly, R.W., Bray, A.R., 1982.** Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. *N. Z. J. Agric. Res.* <https://doi.org/10.1080/00288233.1982.10425216>.
- Davis, G.H.; Bruce, G.D.; Dodds, K.G.** Ovulation rate and litter size of prolific Inverdale (FecX I) and Hanna (FecX H) sheep. *Proc. Assoc. Adv. Anim. Breed Genet.* 2001, 14, 175–178. [[Google Scholar](#)]
- Drouilhet, L., Lecerf, F., Bodin, L., Fabre, S., Mulsant, P., 2009.** Fine mapping of the FecL locus influencing prolificacy in Lacaune sheep. *Animal Genetics*, 40(6), 804-812.
- Epstein, H., 1985.** The İvesi sheep with special reference to the improved dairy type. *Animal Production and Health Paper No. 57.* FAO, Rome.
- Ertugrul, M., Dellal, G., Soysal, I.M., Elmaci, C., Akin, O., Arat, S., Baritci, I., Pehlivan, E. Yilmaz, O., 2009.** Türkiye Yerli Koyun Irklarının Korunması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2): 97–119.

(Conservation of Turkish natives sheep breeds. Journal of the Agricultural Faculty of Uludag University, 23: 97–119.) [Google Scholar](#)

- FAO**, 1999. Recognizing Peste des Petitis Ruminants— A Field Manual. FAO Animal Health Manual No. 5. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 1–27.
- Galal, S., Gürsoy, O., Shaat, I.**, 2008. İvesi sheep as a genetic resource and efforts for their genetic improvement—A review. *Small Ruminant Research*, 79(2-3), 99-108.
- Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., ...Ritvos, O.**, 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature genetics*, 25(3), 279-283.
- Gbangboche, A. B., Adamou-Ndiaye, M., Youssao, A. K. I., Farnir, F., Dettleux, J., Abiola, F. A., Leroy, P. L.**, 2006. Non-genetic factors affecting the reproduction performance, lamb growth and productivity indices of Djallonké sheep. *Small Ruminant Research*, 64(1-2), 133-142.
- Gedik, Y.**, 2021. Screening for inverdale (FecXI) mutation in BMP15 gene in prolific Turkish İvesi Sheep. *Black Sea Journal of Agriculture*, 4(4), 130-132.
- Gootwine, E., Pollott, G.E.**, 2000. Factors affecting milk production in improved İvesi dairy ewes. *Animal Sci.* 71, 607–615.
- Gootwine, E., Pollott, G.E.**, 2000. Factors affecting milk production in improved İvesi dairy ewes. *Animal Sci.* 71, 607–615.
- Gootwine, E., Reicher, S. and Rosov, A.**, 2008. Prolificacy and lamb survival at birth in İvesi and Assaf sheep carrying the FecB (Booroola) mutation. *Anim. Reprod. Sci.*, 108: 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.09.009>
- Gorlov, I. F., Kolosov, Y. A., Shirokova, N. V., Getmantseva, L. V., Slozhenkina, M. I., Mosolova, N. I., ...Zlobina, E. Y.**, 2018. GDF9 gene polymorphism and its association with litter size in two Russian sheep breeds. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 29, 61-66.
- Gowane, G. R., Prakash, V., Chopra, A., Prince, L. L. L.**, 2013. Population structure and effect of inbreeding on lamb growth in Bharat Merino sheep. *Small Ruminant Research*, 114(1), 72-79.
- GURSEL, E., Akis, I., Durak, H., Mengi, A., Oztapak, K.**, 2011. Determination of BMP-15, BMPR-1B and GDF-9 gene mutations of the indigenous sheep breeds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(5).
- Hanrahan, J. P., Gregan, S. M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G. H., Powell, R., Galloway, S. M.**, 2004. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (Ovisaries). *Biology of reproduction*, 70(4), 900-909.

- Hill W.G.** 2000. Maintenance of quantitative genetic variation in animal breeding programmes. *Livestock Production Science* 63(2): 99-109.
- Hossain, M. I., Khan, M. K. I., Momin, M. M., Das, A.,** 2020. Effects of protein supplements on fertility and assessment of the fertility genes (GDF9 and BMP15) in indigenous sheep of Bangladesh. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 484-491.
- Karlı, T., Balcıoğlu, M. S.,** 2010. An investigation of presence of FecB allele on BMPR-IB (Booroola) gene raised in Turkey in six local sheep breeds using PCR-RFLP method.
- Karlı, T., Şahin, E., Karlı, B. A., Alkan, S., Balcıoğlu, M. S.,** 2012. An investigation of mutations (FecXG, FecXI, FecXH, FecXB) on BMP-15 gene in some local sheep breeds raised in Turkey. *Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture*, 25(1), 29-33.
- Kırıkçı, K.,** 2022. Polymorphism of the calpastatin (CAST) and growth differentiation factor 9 (GDF9) genes in Akkaraman Sheep Breed. *Hayvansal Üretim*, 63(1), 21-26.
- Kırıkçı, K., Cam, M.,** 2020. Türkiye yöresel yeni koyun tipi Of koyunlarında GDF9 (FecG1) gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 10(2), 98-102.
- Kırıkçı, K., Cam, M., Mercan, L.,** 2021. Investigation of the CAST gene polymorphism in Karayaka sheep. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 11(1), 89-93.
- Kiraz, S., Koncagul, S., Koyun, H.,** 2024. Relationships between growth characteristics and GDF9 gene polymorphisms in İvesi sheep. *Journal of Applied Animal Research*, 52(1), 2399511.
- Kona, S. S. R., Chakravarthi, V. P., Kumar, A. S., Srividya, D., Padmaja, K., Rao, V. H.,** 2016. Quantitative expression patterns of GDF9 and BMP15 genes in sheep ovarian follicles grown in vivo or cultured in vitro. *Theriogenology*, 85(2), 315-322.
- Land, R. B.,** 1970. Number of oocytes present at birth in the ovaries of pure and Finnish Landrace cross Blackface and Welsh sheep. *Reproduction*, 21(3), 517-521.
- Lassoued, N., Rekik, M., Mahouachi, M., Hamouda, M. B.,** 2004. The effect of nutrition prior to and during mating on ovulation rate, reproductive wastage, and lambing rate in three sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 52(1-2), 117-125.
- MARA/FAO,** 2001. Agriculture in Turkey. Guzelis Ltd: Ankara (ISBN 975-8153-00-5). [Google Scholar](#)
- Martinez, R.S., Ruiz, A., Chico, M.D., Anel, L., Alvarez, M.M., Arkate, Vitoria, Spain. Jurado, J.J., Diaz, C., Perez, J., Aparicio, N.,** 1999b. Antecedentes históricos y bases de un programa de mejora genética y selección de la raza Assafespanola. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, pp. 37.

- Mason, I.L.**, 1996. A World Dictionary of Livestock Breeds, Types and Varieties, 4th edition, Wallingford, UK, CAB International. [Google Scholar](#)
- McNatty, K. P., Galloway, S. M., Wilson, T., Smith, P., Hudson, N. L., O'Connell, A., ... Juengel, J. L.**, 2005. Physiological effects of major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection Evolution*, 37(Suppl. 1), S25-S38.
- Miller, J. E., Bahirathan, M., Lemarie, S. L., Hembry, F. G., Kearney, M. T., Barras, S. R.**, 1998. Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus* infection. *Veterinary parasitology*, 74(1), 55-74.
- Mishra, C.**, 2014. Genetic basis of prolificacy in sheep. *Int J Livest Res*, 4(1), 46-57.
- Mohamed, S. E. I., Ahmed, R. M., Jawasreh, K. I., Salih, M. A. M., Abdelhalim, D. M., Abdelgadir, A. W., ... Ahmed, M. K. A.**, 2020. Genetic polymorphisms of fecundity genes in Wati Sudanese desert sheep. *Veterinary world*, 13(4), 614.
- Montgomery, G. W., Galloway, S. M., Davis, G. H., McNatty, K. P.**, 2001. Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction-Cambridge*, 121(6), 843-852.
- Moradband, F., Rahimi, G., Gholizadeh, M.**, 2011. Association of polymorphisms in fecundity genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with litter size in Iranian Baluchi sheep. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 24(9), 1179-1183.
- Niu, Z. G., Qin, J., Jiang, Y., Ding, X. D., Ding, Y. G., Tang, S., Shi, H. C.**, 2021. The identification of mutation in BMP15 gene associated with litter size in Xinjiang Cele black sheep. *Animals*, 11(3), 668.
- Notter, R. H.**, 2000. *Lung surfactants: basic science and clinical applications*. CRC Press.
- OECD.** 2021. OECD-FAO Agricultural Outlook, <https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm> (October 2021).
- Paz, E., Quiñones, J., Bravo, S., Montaldo, H. H., Sepúlveda, N.**, 2015. Genotyping of BMP1B, BMP15 and GDF9 genes in Chilean sheep breeds and association with prolificacy. *Anim. Genet*, 46(1), 98-99.
- Petrović P.M.**, 2000: Genetics and Improvement of Sheep (monograph). Scientific Book, Belgrade, 365 pp
- Petrović P.M, Žujović M., D. Negovanovic, Strsoglavac, S., Ruzić D.**, 2001: The importance of new selection methods in modern system of sheep breeding. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 17, 159-167
- Petrović, M. P., Caro Petrović, V., Ružić-Muslić, D., Maksimović, N., Ilić, Z. Z., Milošević, B., Stojković, J.**, 2012. Some important factors affecting fertility in sheep. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28(3), 517-528.

- Pollot, GE and Gootwine, E.,** 2000. Factors affecting milk production in improved İvesidairyewes. *Animal Science* 71 (3), 607–616. [Google Scholar](#)
- Pollot, G. E., Gootwine, E.,** 2004. Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *Journal of dairy science*, 87(11), 3690-3703.
- Rumanta, M., Kunda, R. M., Volkandari, S. D., Munir, I. M.,** 2023. Impact of Environmental Geographical Point Mutations in Exon 1 of Growth Differentiation Factor (GDF9) Gene in Kosta and Lakor Goat Breeds. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(6), 4813-4819.
- Tang, K. Q., Yang, W. C., Li, S. J., Yang, L. G.,** 2013. Polymorphisms of the bovine growth differentiation factor 9 gene associated with superovulation performance in Chinese Holstein cows. *Genetics and Molecular Research*, 12(1), 390-399.
- Turkstat.** 2011. *Livestock Statistics*. Turkish Statistical Institute, Ankara (available at <http://www.turkstat.gov.tr>). [Google Scholar](#)
- Turnbull, K. E., Braden, A. W. H., Mattner, P. E.,** 1977. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Australian Journal of Biological Sciences*, 30(3), 229-242.
- Ugarte E, Serrano M, de la Fuente LF, Pérez-Guzmán MD, Alfonso L, Gutiérrez JP.,** 2002 [Current status of genetic improvement programs in sheep milk]. ITEA 98, 102-117 [in Spanish]
- Ugarte, E., Ruiz, R., Gabiña, D., De Heredia, I. B.,** 2001. Impact of high-yielding foreign breeds on the Spanish dairy sheep industry. *Livestock Production Science*, 71(1), 3-10.
- URL-1,** 2024. <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/sheep-population-by-country>
- Uzun, M., Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J. J., Primitivo, F. S., Saatci, M., Kaya, M., Bayón, Y.,** 2006. Genetic relationships among Turkish sheep. *Genetics Selection Evolution*, 38, 1-12.
- Våge, D. I., Husdal, M., Kent, M. P., Klemetsdal, G., Boman, I. A.,** 2013. A missense mutation in growth differentiation factor 9 (GDF9) is strongly associated with litter size in sheep. *BMC genetics*, 14, 1-8.
- Wang, H., Zhang, L., Cao, J., Wu, M., Ma, X., Liu, Z., ... Du, L.,** 2015. Genome-wide specific selection in three domestic sheep breeds. *PloSone*, 10(6), e0128688.
- Wang, J., Liu, Y., Guo, S., Di, R., Wang, X., He, X., Chu, M.,** 2024. Polymorphisms of the BMP1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes in four Chinese sheep breeds. *Archives Animal Breeding*, 67(1), 51-60.
- Wang, X., Yang, Q., Wang, K., Yan, H., Pan, C., Chen, H., ... Lan, X.,** 2019. Two strongly linked single nucleotide polymorphisms (Q320P and V397I) in GDF9 gene are associated with litter size in cashmere goats. *Theriogenology*, 125, 115-121.

Yalcin, B. C., 1986. *Sheep and goats in Turkey* (pp. xiii+-168pp). Rome, Italy:: FAO.

Yilmaz, O., Cengiz, F., Ertugrul, M., Wilson, R. T., 2013. The domestic livestock resources of Turkey: sheep breeds and cross-breeds and their conservation status. *Animal Genetic Resources/Recursos genéticos animales/Recursos genéticos animales*, 52, 147-163.

Zeder, M. A., 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(33), 11597-11604.

