

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TÜRKİYE’DE YETİŞTİRİLEN YERLİ SIĞIR VE SİYAH ALACA SIĞIR
IRKLARINDA BRACHYSPINA SENDROMU VE KOLESTEROL
EKSİKLİĞİ GENETİK KUSURLARININ BELİRLENMESİ**

Kübra BEDİR DİBİÇ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞUBAT 2021

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TÜRKİYE’DE YETİŞTİRİLEN YERLİ SIĞIR VE SİYAH ALACA SIĞIR
IRKLARINDA BRACHYSPINA SENDROMU VE KOLESTEROL EKSİKLİĞİ
GENETİK KUSURLARININ BELİRLENMESİ**

Kübra BEDİR DİBİÇ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞUBAT 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE’DE YETİŞTİRİLEN YERLİ SIĞIR VE SİYAH ALACA SIĞIR
IRKLARINDA BRACHYSPINA SENDROMU VE KOLESTEROL EKSİKLİĞİ
GENETİK KUSURLARININ BELİRLENMESİ

Kübra BEDİR DİBİÇ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 12/02/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hasan MEYDAN

Doç. Dr. Abdullah Nuri ÖZSOY

Doç. Dr. Taki KARSLI

ÖZET

TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN YERLİ SIĞIR VE SİYAH ALACA SIĞIR IRKLARINDA BRACHYSPINA SENDROMU VE KOLESTEROL EKSİKLİĞİ GENETİK KUSURLARININ BELİRLENMESİ

Kübra BEDİR DİBİÇ

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hasan MEYDAN

Şubat 2021; 55 sayfa

Siyah Alaca sığır ırkı ve yerli sığır ırkları Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan süt ve et üretiminde önemli bir yerde bulunmaktadır. Bu yüzden sığır populasyonlarında görülen kalıtsal kusurların belirlenmesi döl verimi ile birlikte süt ve et üretimi bakımından zorunluluk göstermektedir. Bu tezde, Türkiye’deki yerli sığır ırklarının ve Siyah Alaca sığırlarının, CD ve BS genetik kusurları bakımından tanımlanması amaçlanmıştır. Hayvan ölümlerine sebebiyet vererek önemli ekonomik kayıplara neden olan genetik kusurlardan Brachyspina sendromu (BS; Brachyspina Syndrome) ve Kolesterol eksikliği (CD; Cholesterol Deficiency) hastalıkları otozomal resesif kalıtım gösterip, son birkaç yılda tanımlanmışlardır. Bu çalışmada, Siyah Alaca (n=250), Zavot (n=20), Boz Irk (n=20), Güney Anadolu Kırmızısı (n=20), Doğu Anadolu Kırmızısı (n=20), Yerli Güney Sarısı (n=20) ve Yerli Kara (n=20) olmak üzere toplam 370 baş sığır materyal olarak kullanılmıştır. CD ve BS genotipleri belirlenen primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Çalışılan sığırların bu genetik kusurlar bakımından da genotipleri %2’lik agaroz jel elektroforezi ile belirlendikten sonra bu hastalıkların gen ve genotip frekansları hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda, çalışılan yerli sığır ırklarında BS ve CD genetik kusuruna neden olan mutant allele rastlanılmamış olup tüm sığırların normal genotipte yani sağlıklı olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan (250 baş) Siyah Alaca sığır ırkında ise CD bakımından 4 baş sığırın ve BS bakımından 1 baş sığırın taşıyıcı genotipte olduğu ortaya çıkmıştır. Çalışma sonucunda ise; Türkiye’deki yetiştiriciliği yapılan yerli sığır ırklarının ve Siyah Alaca sığırlarında bu genetik kusurların düşük frekansta da olsa var olduğu ilk kez tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Brachyspina sendromu, Kalıtsal kusur, Kolesterol eksikliği, PCR

JÜRİ: Doç. Dr. Hasan MEYDAN

Doç. Dr. Abdullah Nuri ÖZSOY

Doç. Dr. Taki KARSLI

ABSTRACT

DETERMINATION OF BRACHYSPINA SYNDROME AND CHOLESTEROL DEFICIENCY AS A GENETIC DISORDERS IN CATTLE POPULATIONS REARED IN TURKEY

Kübra BEDİR DİBİÇ

MSc Thesis in Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hasan MEYDAN

February 2021; 55 Page

The native cattle breeds, Holstein, and Simental cattles have very important role in meat and dairy production in Turkey. Therefore, identification of genetic disorders in this breeds are a necessary for meat and dairy production and especially for reproduction. The genetic disorders of Brachyspina syndrome (BS) and Cholesterol deficiency (CD) have been identified in the recently years, are genetic disorders that cause significant economic losses by causing animal deaths in cattle breeding with autosomal recessive inheritance. In this study, we aimed to determine the native cattle breeds and Holstein population with regard to BS and CD genetic disorders. In this study, Holstein (n = 250), Turkish Black (n =20), Turkish Gray (n =20), Eastern Anatolian Red (n =20), South Anatolian Red (n =20), South Native Yellow (n =20) and Zavot (n =20) were sampled. All genotypes identified by PCR. Products were analyzed by 2% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide. After gel electrophoresis, BS and CD genotypes were identified using PCR method by analyzing the band profiles Gene and genotype frequencies of these diseases in cattle populations reared in Turkey were estimated. According to results, mutant allele causing BS and CD genetic disorders was not found in native cattle and Simental cattle sampled and all native and Simmental cattle were found as a normal genotype in respect of BS and CD genetic disorders. However, in Holstein cattle reared in Turkey, one and four cattle were found as heterozygote genotype for the BS and CD genetic disorders, respectively. As a conclusion, first time the presence of BS and CD genetic disorders were identified in Holstein cattle reared in Turkey but low frequency. The bulls used for artificial insemination should be controlled with regard to genetic disorders including BS and CD disorders.

KEYWORDS: Brachyspina syndrome, Genetic disorder, Cholesterol deficiency, PCR

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Hasan MEYDAN

Assoc. Prof. Dr. Abdullah Nuri ÖZSOY

Assoc. Prof. Dr. TAKİ KARSLI

ÖNSÖZ

Her hayvancılık işletmesinde yetiştiricilerin temel amacı; hastalıklara dayanıklı, üreme kabiliyeti olan, verim özelliklerinin yüksek olmasına bağlı olarak ekonomik kayıplara yol açmayan ve tabii ki sağlıklı bir şekilde hayvanların yetiştirilmesini sağlamaktır.

Kalıtsal kusurlar bakımından taşıyıcı durumda olan hayvanlar, belli oranda bu genleri gelecek generasyonlara aktarabilmektedir. Bu kalıtsal kusurların meydana gelmesine neden olan gen, generasyonlar boyunca popülasyon içerisinde devam etmektedir. Dolayısıyla sığır popülasyonlarının kalıtsal kusurlar bakımından taranması ve gerekli önlemlerin alınması sığır yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara sebep olmamak ve popülasyonun sürekliliğini sağlamak adına büyük önem arz etmektedir.

Bu özgün konunun tez çalışması olarak belirlenmesinde, deneyim ve bilgileriyle her konuda destek veren, bu yolda gösterdiği hoşgörü, sabır ve özverisi için değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hasan MEYDAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Hem laboratuvar hem de tez çalışmalarımda destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Öğr. Gör. Onur VURAL'a çok teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimlerim için her zaman yanımda olan ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen çok sevgili aileme,

Bu süreçte her zaman destek veren, motive eden ve yol gösteren değerli arkadaşlarım ve çok kıymetli eşim Ahmet DİBİÇ'e en derin teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	11
1.1.1.Güney Anadolu Kırmızısı (GAK).....	13
1.1.2.Yerli Güney Sarısı (YGS).....	14
1.1.3.Yerli Kara (YK)	15
1.1.4.Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK)	16
1.1.5.Zavot	16
1.1.6.Boz Irk	17
1.2.Türkiye’de ki Kültür Irkları	18
1.2.1. Siyah Alaca	18
1.3.Sığırlarda Görülen Kalıtsal Kusurlar	19
2. KAYNAK TARAMASI.....	23
2.1. Kalıtsal Kusur	23
2.2. Zoolojik Sistemde Sığırın Yeri.....	24
2.3. Brachyspina Sendromu (BS)	24
2.4. Kolesterol Eksikliği (CD).....	26
2.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	29
3. MATERYAL VE METOT.....	31
3.1. Materyal.....	31
3.1.2.Araç ve gereçler	32
3.1.3.Tampon çözeltiler	33
3.2. Metot.....	34
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu.....	34
3.2.2. Gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması	35

3.2.3. Elektroforez.....	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. DNA İzolasyon Sonuçları.....	41
4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	41
4.2.1. Brachyspina Sendromu	41
4.2.2. Kolesterol Eksikliği	43
5. SONUÇLAR	47
6. KAYNAKLAR.....	49
7. EKLER	52
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Türkiye’de Yetiştirilen Yerli Sığır ve Siyah Alaca Sığır Irklarında Brachyspina Sendromu ve Kolesterol Eksikliği Genetik Kusurlarının Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

12/02/2021

Kübra BEDİR DİBİÇ

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

bç.	:Baz çifti
gr	:Gram
°C	:Santigrat derece
MgCl ₂	:Magnezyum klorür
M	:Molar
mM	:Mili molar
ml	:Mililitre
µl	:Mikrolitre
%	:Yüzde
rpm	:Rotate Per Minute
vd.	:Ve diğerleri

Kisaltmalar

BS	: Brachyspina Sendromu (Brachyspina Syndrome)
CD	: Kolesterol Eksikliği (Cholesterol Deficiency)
FANCI	: Fanconi Anemia Complementation
APOB	: Apolipoprotein B
GWAS	: Genome Wide Association Study
YK	: Yerli Kara
DAK	: Doğu Anadolu Kırmızısı
GAK	: Güney Anadolu Kırmızısı
YGS	: Yerli Güney Sarısı
ZVT	: Zavot
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
NaOH	: Sodyum Hidroksit
TBE	: Tris-Borate-EDTA
Taq	: Thermus Aquaticus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Türkiye'de ki Yerli Irkların Bölgelere Göre Dağılımı (Tagem 2009)	13
Şekil 1.2. Güney Anadolu Kırmızısı (Tagem 2009) şekillere de kaynak konuldu.	14
Şekil 1.3. Yerli Güney Sarısı (Tagem 2009).....	15
Şekil 1.4. Yerli Kara (Tagem 2009)	15
Şekil 1.5. Doğu Anadolu Kırmızısı (Tagem 2009).....	16
Şekil 1.6. Zavot (Tagem 2009)	17
Şekil 1.7. Boz Irk (Tagem 2009)	18
Şekil 1.8. Siyah Alaca (Anonymous 1).....	19
Şekil 1.9. BS genetik kusuruna sahip olan ölü doğmuş buzağı (Agerholm ve Peperkamp 2007).....	21
Şekil 1.10. Aynı yaştaki buzağılar a) Sağlıklı buzağı; b) CD genetik kusuruna sahip buzağı (Mock vd. 2016).....	22
Şekil 2.1. BS kalıtsal kusuruna sahip buzağıda spinal bölgesinde görülen vertebral bozukluğunun fotomikrografik görüntüsü (Agerholm ve Peperkamp 2007).....	21
Şekil 2.2. FANCI geni üzerinde BS'ye sebep olan delesyon (Charlier vd. 2012).....	25
Şekil 2.3. APOB geni üzerinde CD'ye sebep olan insersiyon (Schütz vd. 2016)	27
Şekil 2.4. PCR'ın üç aşamalı döngüsünü gösteren şekil (Anonim 1).....	30
Şekil 3.1. PCR ürünlerinin elektroforez cihazında yürütülmesi.....	40
Şekil 3.2. Elektroforez işleminden sonra ürünlerin görüntülenmesi.....	40
Şekil 4.1. Kan örneklerinin DNA izolasyon aşamaları.....	41
Şekil 4.2. BS ve CD için kullanılacak DNA örneklerinin %2'lik agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü.....	41

Şekil 4.3. BS Genotiplerinin %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemi BS genotiplerinin belirlenmesi. 4. Kuyucuk siyah alaca sığırlarda tespit edilen heterozigot genotip (269 ve 409 bç); 1, 2, ve 3. Kuyucuklar normal genotip (269 bç); M : 100 bç. DNA marker.....	41
Şekil 4.4. Yerli ırklarda BS genotiplerinin jeldeki görüntüleri.....	41
Şekil 4.5. CD genotiplerinin % 2' lik agaroz jel elektroforez yöntemi ile CD genotiplerinin tespiti. 2, 3, 4, 6, 7 ve 8. Kuyucuklar normal genotip (269 ve 409 bç) ; 1. Ve 5. Kuyucuklar siyah alacalarda tespit edilen genotipler (249 ve 436 bç) ; M: 100 bç. DNA marker	43
Şekil 4.6. Siyah alacalarda belirlenen diğer 2 heterozigot genotipinin jel görüntüsü.....	43
Şekil 4.7. Yerli ırklarda CD genotiplerinin jeldeki görüntüleri	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de yetiştirilen kültür, kültür melezi ve yerli ırkların sayıları	12
Çizelge 3.1. Çalışılan hayvan ırkları ve örnek sayıları	31
Çizelge 3.2. Ekipman listesi ve kullanım amaçları.....	32
Çizelge 3.3. Tampon çözeltilerin miktar ve içerikleri	33
Çizelge 3.4. Gen bölgelerine ait primerler	36
Çizelge 3.5. FANCI geni için PCR protokolü.....	35
Çizelge 3.6. APOB geni için PCR protokolü.....	38
Çizelge 3.7. FANCI geni için optimize edilen PCR programı	38
Çizelge 3.8. APOB geni için optimize edilen PCR programı.....	37
Çizelge 4.1. Siyah Alaca sığır ırkında BS ve CD bakımından gen ve genotip frekansları.....	45

1. GİRİŞ

İnsanların yaşamlarını sağlıklı bir şekilde devam ettirebilmeleri için önem arz eden gıdaların başında gelen süt ve et başta sığırlardan karşılandığı için sığırlar, insan hayatında önemli yer tutan hayvan türüdür. Sığırın evcilleştirilme süresi 10.000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. İnsanlar önceden, yüksek verim elde etmek ve fenotipik olarak üstün gözüken hayvanları yetiştirmek amacıyla, bu hayvanları birbirleriyle çiftleştirmişlerdir. Bu çiftleştirmeler, yetiştiricilerin çok eski zamandan bu yana kötü ya da iyi karakterlerinin ebeveyninden yavruya aktarıldığını bildiklerinin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Fakat başta ölümler olmak üzere meydana gelen olumsuzlukların kalıtsal bir nedene dayandığının anlaşılması ise yeni sayılabilir. Özellikle günümüzde moleküler genetik ve biyoteknoloji alanlarında yapılan ilerlemeler, kalıtsal kusurların varlığı ve sebeplerinin daha kolay bir şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır (Meydan vd. 2006).

Hayvan yetiştiriciliğinde görülen genetik bozukluklar yetiştiriciler açısından büyük sorun teşkil etmektedir. Bu tarz genetik kusurlar hayvanlar üzerinde olumsuz etkiye sebebiyet verdiklerinden popülasyon içerisinde verim kaybına ve ekonomik kayıba neden olmaktadır. Sığırlarda bilinen kalıtsal kusurlar çoğunlukla otozomal resesif genlerdir. Otozomal resesif genlerin karakteristik özelliklerinin ortaya çıkabilmesi için her iki allelde de bulunması gerekmektedir. Heterozigot olan bireyler ise taşıyıcı durumda olup genlerini gelecek generasyonlara belli oranlarda aktarılabildiklerinden tespitlerinin yapılması önem arz etmektedir (Meydan vd. 2010).

Kalıtsal hastalıkların neden oldukları morfolojik ve fizyolojik bozukluklar, hayvanlarda verim kaybına neden olarak önemli ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir (Arthur vd. 2001). Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan sığır işletmelerinde de meydana gelen ekonomik kayıpların büyük bir kısmı, sığırların sağlık sorunlarından kaynaklanmaktadır. Bu sağlık sorunlarının bir bölümü ise direkt sığırların genetik yapıları ile ilişkilidir. Bu genetik kusurların popülasyona yayılmadan önüne geçilebilmesi için moleküler genetik alanında ki çalışmalar büyük önem arz etmektedir. BS ve CD gibi genetik kusurlar otozomal resesif etkiye sahip oldukları için, bu genetik kusurlar popülasyonda var oldukları heterozigot bireylerde ortaya çıkmaktadır. Moleküler doğası bilinen çoğu genetik kusurda ki heterozigot bireylerin bu şekilde doğumdan önce veya doğumdan sonra tespit edilebilmektedir (Citek vd. 2006; 2007).

Yapılan arkeolojik kalıntılara göre, sığırların evcilleştirme merkezlerinden bir tanesinin Anadolu olduğu görülmüştür. Anadolu’da keşfedilen evcilleştirme merkezi olan neolitik bölgei Çatal Höyük’ten elde edilen verilere göre tespit edilmiştir (Perkins 1969; Loftus vd. 1999). Yerli ırklardan elde edilen verimlilik düşük olmasına rağmen, bu ırklar olumsuz çevre koşullarına, kötü hava şartlarına ve yetersiz beslemeye karşı oldukça dirençlidir (Meydan vd. 2012).

2020 yılında alınan verilere göre, Haziran ayı sonu itibariyle büyükbaş hayvanlar arasında yer alan sığır sayısı bir önceki yılın Aralık ayına göre %4,2 artarak 18 milyona yaklaşmıştır (TÜİK 2020). Çizelge 1.1’de de görüldüğü üzere, kültür ırkı sayısının 8.559.855, kültür melezi ırk sayısının 7.554.625 ve yerli ırk sayısının 1.573.659 olduğu bilinmektedir (TÜİK 2019).

Ülkemiz, Cumhuriyetin ilk yıllarından beri sığır yetiştiriciliğine özel bir yer vererek hayvansal üretimin üzerine durmuş ve buna yönelik çalışmalar geliştirmiştir. Sığır üreticiliğini artırmak amacıyla yürütülen araştırmalar, melezleme yaparak Türkiye’de ki sığır popülasyonlarında kültür ırkı genotipinin payını artırmak ve sığır yetiştiriciliğini saf kültür ırkı olarak yaygınlaştırmak şeklinde ikiye ayrılabilir. Saf kültür ırkını yaygınlaştırma girişimleri 1925 yılına kadar gitse de bu alanda yapılan çalışmalar için farklı ırklardan sığırların ithal edilerek bu alandaki dönüm noktası 1958 yılı kabul edilmektedir (Kumlu ve Akman 1999).

Çizelge 1.1. Türkiye’de yetiştirilen kültür, kültür melezi ve yerli sığır ırklarının sayıları (TÜİK 2019)

	Sığır - Kültür (baş)	Sığır - Melez (baş)	Sığır - Yerli (baş)	Manda (baş)
1993	1 442 000	4 342 000	6 126 000	316 000
1994	1 512 000	4 543 000	5 846 000	305 000
1995	1 702 000	4 776 000	5 311 000	255 000
1996	1 795 000	4 909 000	5 182 000	235 000
1997	1 715 000	4 690 000	4 780 000	194 000
1998	1 733 000	4 695 000	4 603 000	176 000
1999	1 782 000	4 826 000	4 446 000	165 000
2000	1 806 000	4 738 000	4 217 000	146 000
2001	1 854 000	4 620 000	4 074 000	138 000
2002	1 859 786	4 357 549	3 586 163	121 077
2003	1 940 506	4 284 890	3 562 706	113 356
2004	2 109 393	4 395 090	3 564 863	103 900
2005	2 354 957	4 537 998	3 633 485	104 965
2006	2 771 818	4 694 197	3 405 349	100 516
2007	3 295 678	4 465 350	3 275 725	84 705
2008	3 554 585	4 454 647	2 850 710	86 297
2009	3 723 583	4 406 041	2 594 334	87 207
2010	4 197 890	4 707 188	2 464 722	84 726
2011	4 836 547	5 120 621	2 429 169	97 632
2012	5 679 484	5 776 028	2 459 400	107 435
2013	5 954 333	6 112 437	2 348 487	117 591
2014	6 178 757	6 060 937	1 983 415	122 114
2015	6 385 343	5 733 803	1 874 925	133 766
2016	6 588 527	5 758 336	1 733 292	142 073
2017	7 804 588	6 536 073	1 602 925	161 439
2018	8 419 204	7 030 297	1 593 005	178 397
2019	8 559 855	7 554 625	1 573 659	184 192



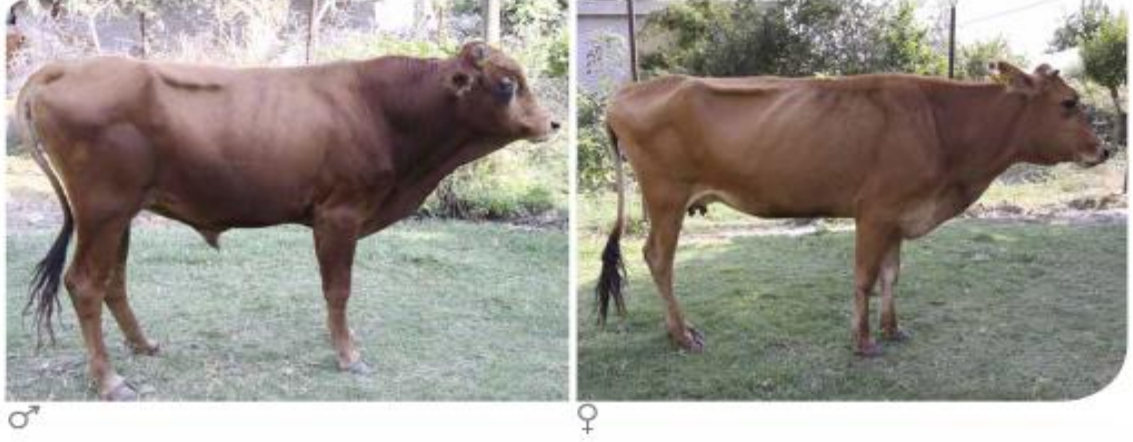
Şekil 1.1. Türkiye’de ki Yerli Irkların Bölgelere Göre Dağılımı (Tagem 2009)

1.1.1. Güney Anadolu Kırmızısı (GAK)

Merkezi Kilis olan GAK, Güney Anadolu Bölgesi’nde İçel’den Şanlıurfa’ya kadar yayılım göstermektedir. Et ve süt verimliliği olan bu ırkın başı dik, boynu kısa, cidagosu belirgin ve yüksek olma özellikleri ile asil ve zariftir. İleri ki yaşlarında gerdanında sarkık ve kıvrımlı bir deri yapısı görülür. Erkeklerde özellikle hörgüç benzeri bir oluşum ortaya çıkar. Göğüsleri dar, vücutları nispeten kısa ve dardır. Vücuda bağlantısı kuvvetli olan kuyruk bağlantı noktası, sağrıdan yüksektir. Bacakları çoğunlukla ince, narin ve oldukça uzunken arka bacakları nispeten daha incedir. Sallantılı yürüyüş göstermelerinin nedeni vücutlarında ki harmoni bozukluğundandır. Bu ırkta en fazla sarımsı kırmızı renk görülmektedir. Ek olarak kırmızıdan sarıya ve kahverengiye kadar değişik renklilerde görülmektedir. Karın altları, bacaklarının iç tarafları ve meme bölgeleri vücutlarından daha açık renkte iken vücutlarının ön kısmı arka kısma göre daha koyudur. Çoğunlukla burunlarının çevresinde vücutlarının renginden daha açık renkte bir halka bulunur. Kuyruk püskülleri siyah renktedir. Boynuzları dar, kısa, ince, iki yana ve yukarı doğru uzanır. Genel görünümüleri Şekil 1.2’de gösterilmiştir. Yan taraftan bakıldığında vücutları kare biçimindedir. Türkiye’nin en iri ve süt verimi en fazla olan bu yerli ırk Akdeniz ve Güney Anadolu’nun sıcak iklimine adapte olmuştur. Kan parazitleri ve kenelerin oluşturduğu hastalıklara karşı dirençlidir (Tagem 2009).

Beslenme ve bakımları iyi olmasa bile adaptasyon yetenekleri sayesinde az bir sorunla yetiştirilebilirler. Analık içgüdüleri geliştiğinden dolayı yavrularını görmedikleri takdirde sütlerini vermezler. Güçlü yapıları sayesinde uzun mesafeleri katedebilme

yetenekleri vardır. Meme başlarının minik olması ve davranışlar olarak problemlili olabildiklerinden makineli sağma işlemine uygun görülmezler.



Şekil 1.2. Güney Anadolu Kırmızısı (Tagem 2009)

İlkel besleme, barındırma ve bakım koşullarında yaygın olarak köy sürüleri halinde yetiştirilirler. Senenin dörtte üçünü kapsayan mera devresi bazı kesimlerde tamamını kapsar. Ahırlar, Gaziantep ve Şanlıurfa gibi kış ayları daha soğuk geçen illerde çoğunlukla taştan, Adana ve Hatay gibi kış ayları nispeten daha ılık geçen illerde genellikle kerpiçten ve sazdan yapılmıştır. Ahırlarda yemleme yalnızca kış aylarında yapılmaktadır (Tagem 2009).

1.1.2. Yerli Güney Sarısı (YGS)

Akdeniz arasında kalan bölgeler ve kısmen bu dağların kuzey ve doğusunda, başlıca Amanos ve Toros dağları ile Mersin’den başlayarak Şanlıurfa’ya ve Hatay’a kadar olan illere yayılan bu ırk et ve süt verimi olan kombine bir ırktır.

Sırt hattı düz, kısa boynuzlu ve küçük yapılı olan YGS’nin rengi kirli sarıdan tarçın ve kırmızı rengine kadar farklılık göstermektedir Göz çevresi, boyun, kürekler, yüzün yan kısımları, kuyruk ucu ve boynuzlarının rengi koyudur. Ağız ve burun çevresinde vücuda göre daha açık renkli ve bazılarında kirli beyaz halka bulunurken burun ucu siyaha kadar değişen koyu renktedir. Tırnak rengi siyah veya koyu gri, bacaklarının iç yüzeyi açık renklidir. Derisinin rengi siyaha yakın bir kahverengidir.

Hastalıklara dayanıklı, kötü çevre koşullarına dirençli olan bu ırk dağlara tırmanabilir. Dolayısıyla, dağlık bölgelere uyum sağlayarak engebeli arazilerde otlayabilmektedirler (Tagem 2009).

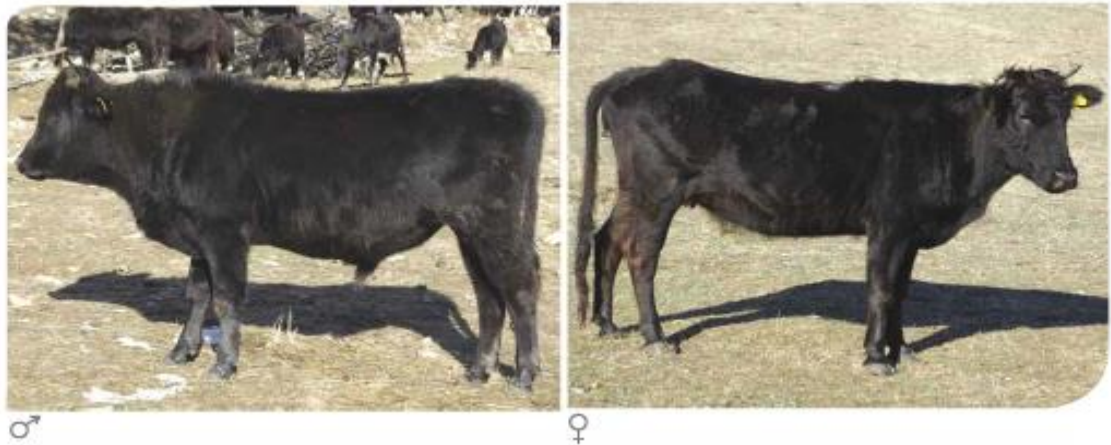


Şekil 1.3. Yerli Güney Sarısı (Tagem 2009)

İlkel besleme, barındırma ve bakım koşullarında yaygın olarak köy sürüleri halinde yetiştirilirler. Bu ırk, insanların yardımı olmadan nisan ve mayıs aylarında dağlarda otlar ve 6-7 ay sonra karın yağışıyla birlikte geri dönerler (Tagem 2009).

1.1.3. Yerli Kara (YK)

Et ve süt bakımından kombine olan bu ırk Orta Anadolu'da yayılım gösterir. Vücutları uzun, boynuzları kısa, ağırlık ve yükseklik bakımından küçük yapılı bir ırktır. Omuzları uzun ve dar olup sırt çizgileri düz görünmektedir. Arka kısımları daha yüksek ve geniştir. Göz çukurları belirgin ve baş kısımları burunlarına doğru inceler. Kulaklarının iç kısmı kalın ve sık kıllarla örtülüdür. Bacakları kısa, kemiklerinin yapısı ince, tırnakları sağlamdır. Deri rengi kuzguni siyahtır. Çoğunlukla derisi sert ve kalındır. Hem erkek hemde dişileri boynuzludur. Boynuzları çoğunlukla ay biçiminde ince yapılıdır. Zararlı ve hastalıklara karşı dayanıklı, yetersiz besleme ve bakım koşullarına dirençlidir (Tagem 2009).



Şekil 1.4. Yerli Kara (Tagem 2009)

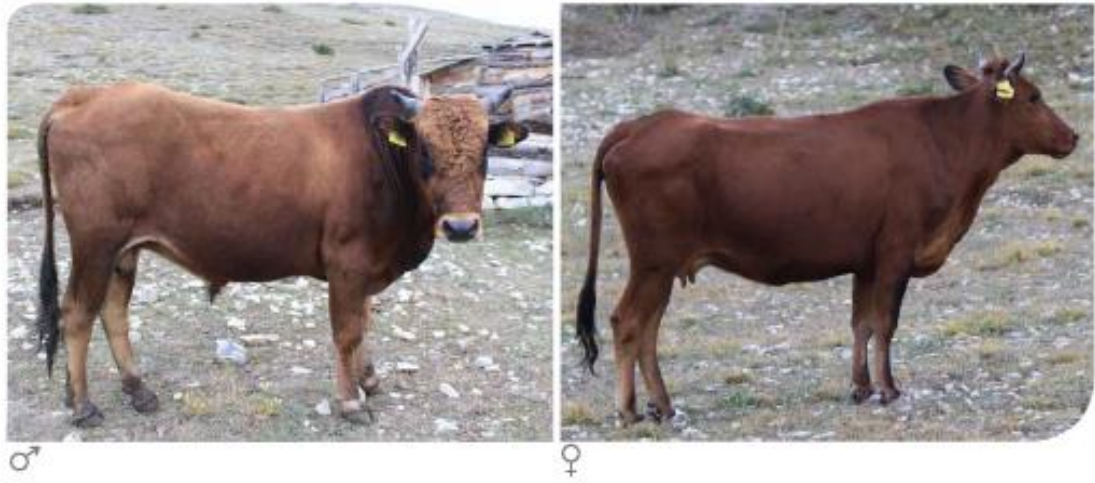
Ekstansif olarak karasal iklimde, ilkel besleme, bakım ve barındırma koşullarında yetiştirilirler.

1.1.4. Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK)

Doğu ve Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde başta, Kars, Erzurum ve Ardahan illeri olmak üzere yayılım gösteren kombine bir ırktır.

Derisi kalın, mizacı sert, kemikleri sağlam, göğsü dar ve küçük yapılıdır. Rengi kırmızı ve tonlarındadır. Kısa boynuzlu olan bu ırkın, boyun, göğüs, kulak kenarları, ön bacaklarının ön kısımları, tırnaklarının deri ile birleştiği yerler koyudur. Hem erkek hemde dişileri boynuzludur. Boynuzları hafif kıvrımlı koyu renktedir.

Olumsuz çevre koşullarına ve hastalıklara karşı küçük cüsselerine rağmen dayanıklıdır. Kalitesiz yemlerle ve engebeli alanlardaki otlaklarla yetiştirilebilir (Tagem 2009).



Şekil 1.5. Doğu Anadolu Kırmızısı (Tagem 2009)

Köy sürüleri şeklinde mera süresince ek yemleme yapılmadan yetiştirilir. Karasal iklimin olduğu, engebeli arazilerde ilkel besleme, barındırma ve bakım ile yetiştirilmektedir. Çoğunlukla yılın altı ayını merada geçiren bu ırk Mayıs ayından itibaren yayla ve meraya çıkarılır (Tagem 2009).

1.1.5. Zavot

Kars, Ardahan illeri ve çevresinde yayılım gösteren kombine ırktır. Sırt çizgisi düz, derisi elastik ve kemikleri sağlamdır. Vücutları orta büyüklükte olup sağlamdır. Çoğunlukla beyaz renktedirler fakat açık sarı renkte olanlarına da rastlanır. Hem dişileri hemde erkekleri boynuzludur. Zorlu iklim koşullarına ve hastalıklara karşı dirençlidir (Tagem 2009).



Şekil 1.6. Zavot (Tagem 2009)

Köy sürüleri şeklinde mera süresince ek yemleme yapılmadan yetiştirilir. Karasal iklimin olduğu, engebeli arazilerde ilkel besleme, barındırma ve bakım ile yetiştirilmektedir. Çoğunlukla yılın altı ayını merada geçiren bu ırk mayıs ayından itibaren yayla ve meraya çıkarılır (Tagem 2009).

1.1.6. Boz Irk

Batı Anadolu’da, Marmara, Trakya, Kuzey ve iç Ege bölgelerinde yayılım gösteren kombine ırktır. Üst kısımdan bakıldığında üçgen şekilde olan Boz ırk, vücut yapısı olarak sağlamdır. Erkek hayvanların vücutları önden arkaya doğru daralır. Deri rengi koyu külden açık gümüşkiye kadar değişkenlik gösterebilir. Erkeklerinin göz çevresinde koyu bir halka vardır. Kulaklarının iç yüzeyi siyah kıllarla örtülüdür. Dişiler erkeklere göre daha açık renkli gözüdürler. Çoğunlukla döş, boyun, omuzların alt kısımları, göğüs ve bacaklar vücutlarının diğer kısımlarına göre daha koyu renklidir. Tırnak rengi siyah, kıl rengi koyu gridir. Bu ırkın saflığı konusundaki işaretlerden biri anüs bölgelerinin siyah renkte olmasıdır. Buzağının rengi doğduklarında açık kahverengi iken, büyüdükçe renkleri griye döner. Hem erkek hemde dişiler boynuzludur. Boynuzlarının yapısı boğumsuz, dairesel kesitli ve hilal şeklindedir.

Kalitesiz yemlerle yaşamlarını sürdürebilmekle beraber ani yem değişikliklerine de dirençlidir. Hastalandıkları veya zarar gördüklerinde hızla iyileşebilirler. Olumsuz iklim ve doğa koşullarına ve yetersiz beslemeye karşı dayanıklıdır. Mizacı hırçın ve saldırgan olan bu ırk hem yavrularını hem de bulundukları sürüyü koruma içgüdüsüne sahiptirler (Tagem 2009).



Şekil 1.7. Boz Irk (Tagem 2009)

İnsan müdahalesine gerek kalmaksızın dağlık bölgelerde bulunan engebeli arazi ve orman içinde yaşamlarını devam ettirebilir, beslenebilir ve üreyebilirler (Tagem 2009).

1.2. Türkiye’de ki Kültür Irkları

Türkiye’de yetiştirilen sığırlar hem süt üretimi hemde et üretimi bakımından oldukça önemli bir canlılardır. Türkiye’de süt üretimini sağlamak amacıyla yetiştirilen başlıca ırk ise Siyah Alaca sığır ırkıdır. Siyah Alaca sığır ırkı, anavatanı Hollanda’nın Frizya bölgesidir ve sayısı 100 milyondan fazladır. Dolayısıyla yeryüzünde yayılma alanı en geniş olan ve en fazla kullanılan ırktır. Bu ırkın hem süt hem de et verimleri ön plandadır. Bu nedenle sadece süt üretmek için değil, aynı zamanda et üretim amacıyla da kullanılabilen bir ırktır. (Meydan 2007).

1.2.1. Siyah Alaca

Siyah Alaca sığır ırkının kökeni; Almanya, Hollanda ve Danimarka’ nın Kuzey Denizi kıyılarında ovalık kesimlerinde ki yetiştirilen sığırlardan gelmektedir. Türkiye’de bu yetiştiricilik ilk olarak 1958 senesinde Bursa’ya, Amerika Birleşik Devletleri’nden getirilmiş olan boğa ve inekler ile başlanmıştır. Siyah Alaca sığır ırkının en çok Marmara, Ege, Akdeniz Bölgeleri’nde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu sığırların süt verim ortalaması laktasyonda 7000-11000 kg arasında değişmektedir. Aynı zamanda canlı ağırlıkları 700-800 kg, sütündeki yağ oranları %4 ve protein oranları %3,3 arasındadır (Kumlu 1999).



Şekil 1.8. Siyah Alaca (Anonymous 1)

Siyah Alaca sığır ırkı için farklı ülkelerde değişik isimlendirilmektedir. Amerika ve Kanada’da Holstein-Friesian, İngiltere’de British-Friesian ve Almanya’da Alman-Friesian ismi kullanılmaktadır. Türkiye’de ise genellikle Siyah Alaca ismi kullanılmaktadır (Kumlu 2000; Çerçi 2006). En yaygın yetiştirilen ırk olan Siyah Alaca, Almanya, Hollanda ve Danimarka’nın Kuzey Denizi kıyılarındaki ovalık kesimlerinde yetiştirilir. Yaklaşık her dört sığırdan birinin bu durumdan ötürü, dünyada yetiştiriciliği yapılan Siyah Alaca veya Siyah Alaca melezi olduğu öne sürülmektedir. 1950’li yıllardan beri Kuzey Amerika ve Batı Avrupa’da yapılan ıslah çalışmalarının etkili ve daha sistemli hale getirilmesi ile Siyah Alacaların, başta süt verimi olmak üzere, et verimi gibi birçok verimi ve çok farklı iklim koşullarında yetişebilir olması diğer sığır ırklarından ayırıcı özelliğe sahip olmasını sağlamıştır (Akman ve Kumlu 1999; Evirgen 2009).

1.3. Sığırlarda Görülen Kalıtsal Kusurlar

Sığırlarda görülen kalıtsal kusurlar da diğer hastalıklar (bakteriyel ve viral hastalıklar) gibi ekonomik kayıba sebep olmaktadır. Bu sebeple bu kalıtsal kusurların belirlenmesi ve gerekli olan önlemlerin alınması gerekmektedir. Moleküler ve biyoteknolojik alanlarının da gelişmesiyle, genetik hastalıkların tespiti ve hastalığa neden olan genin sürüden elemine edilmesi daha kolay hale gelmektedir. Buzağılarda görülen hastalıklar ve buna bağlı olarak meydana gelen ölümler sığır yetiştiricilerinin önemli ekonomik kayıplara uğramasına neden olmaktadır. Bu sebeple sığır yetiştiricileri, yüksek verimli ineklere sahip olmayı ve bunlardan da her yıl sağlıklı bir buzağı alıp büyütmeyi amaçlarlar. Görülen hastalıklar genetik nedenli de olabilir. Bu yüzden buzağının soy kütüğünün (pedigrisinin) bilinmesi ileride ki yetiştirme yöntemleri açısından önemli bir yere sahiptir (Özcan ve Özbeyaz 2017).

Genlerin yapısı ve fonksiyonları hakkında elde edilen bilgiler, DNA çalışmalarında yeni metotlar geliştirilmesine katkı sağlamış ve bu da sığırlarda görülen genetik kusurların moleküler açıdan tespit edilmesi konusunda önemli gelişmelere olanak vermiştir. Kalıtsal kusurların tespit edilmesinde moleküler genetik teknikler yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. Böylece hayvanların genetik kusurlar açısından heterozigot (taşıyıcı) olup olmadıkları belirlenerek elemine edilmekte ve bu şekilde ekonomik kayıp vermeden popülasyonun devamı sağlanmış olmaktadır. Son 50 seneden beri genotipin iyileştirilmesine dayalı uygulanan ıslah programları, genel olarak et ve süt üretiminin artırılmasına büyük katkılar sağlamıştır. Son 20 senedir ise sürdürülen ıslah programlarında uzun ömürlülük ve döl verimi gibi diğer özellikler üzerinde de durulmuştur (Ottmar 2005). Günümüzde moleküler genetik ve biyokimyasal alanında ortaya çıkan gelişmelere paralel olarak, hayvanlarda görülen birçok kalıtsal kusurun, in vitro (laboratuvar) ortamında erken dönemlerde tanımlanması ve daha düşük maliyetlerde uygulanması mümkün olmaktadır (Jolly 2002).

1988 yılından bu yana çalışmalarını ICAR'ın alt birimi olarak sürdüren Uluslararası Boğa Kullanımı Organizasyonu (INTERBULL, International BullEvaluation Board)'nın ve Uluslararası Hayvancılık Kayıt Komitesi (ICAR, International Committe of Animal Recording) beraber yürüttükleri bir dizi çalışma sonunda, kuruluşlar ve üye ülkeler tarafından ortaya konulan genetik değerlendirmelerde önemli farklılıklar tespit edilmektedir. Bunun üzerine; bir örnekliği sağlamak, değerlendirmenin niteliği ve isabetini yükseltmek amacıyla birtakım çalışmalar yürütülmüş ve 30 Mayıs 2002 tarihinde yapılan genel kurulda "Kayıt Tutmada Uluslararası Mutabakat" adı altında bir dizi kural kabul edilmiştir. Bu dokümanın bir bölümü "Süt Sığırlarında Genetik Değerlendirme Sistemleri (Genetic Evaluation Systems in Dairy Cattle)" isimli bir kılavuza ayrılmıştır. Kılavuzun 10. maddesinde, yetiştirilen ırkla ilgili uluslararası kuruluşlarca belirlenmiş kalıtsal kusurların taşıyıcısı olduğu belirlenen hayvanların en kısa zamanda belirtilmesi önerilmektedir (Kumlu ve Akman 2004). Üzerinde durulan birçok genetik kusur o özelliğin ortaya çıkmasını sağlayan resesif gen bakımından homozigot genotiplerde ortaya çıkarak popülasyonda bu şekilde fark edilebilmektedir. Bahsedilen genler bakımından homozigot genotipte olan hayvanlar çoğunlukla erken dönemlerde ölmektedir. Homozigot genotipteki hayvanların ölmesi durumunda, genetik kusurun ileriki generasyonlara aktarılması ve popülasyon içerisine dağılması önlenmiş olmaktadır. Resesif etkili gen tarafından belirlenen kalıtsal bir kusur bakımından heterozigot genotipe sahip olan hayvanların tespiti ve bu gene sahip olan bireylerin popülasyondan elemine edilmesi daha önemlidir. Heterozigot genotipe sahip olan bireylerin fenotiplerinde, genellikle herhangi bir değişiklik ortaya çıkmamaktadır. Bu durumun sonucunda ise kalıtsal kusurun meydana gelmesinde etkili olan resesif gen belli oranlarda gelecek generasyonlara aktarılmaktadır. Böylece kalıtsal kusurun ortaya çıkmasından sorumlu olan genin popülasyon içerisindeki varlığı ve buna bağlı olarak frekansı generasyonlar boyunca artabilmektedir. Genetik kusurlu bireylerin popülasyon içerisindeki frekanslarının artması sonucunda ise ekonomik olarak ciddi kayıplar

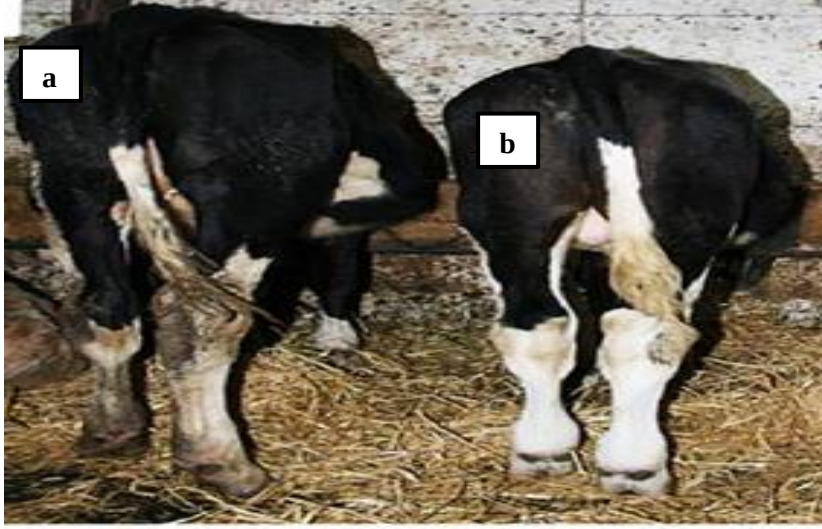
meydana gelebilmektedir. Damızlıkta kullanılacak olan ebeveynlerin kalıtsal kusurlar bakımından taşıyıcı olup olmadıklarının belirlenerek elemine edilmesi, ekonomik olarak kayıpların en aza düşürülmesi amacıyla ekonomik verim seviyesinin korunması ve popülasyonun devamlılığı açısından son derece önemlidir (Meydan 2007).

İnsanlarda 5000'den fazla resesif etkiye sahip, otozomal kromozom üzerinde bulunan genetik kusurlar görülmektedir (Rajesh vd. 2006). Hayvanlarda ise genetik temelinin bilindiği genetik kusur sayısı daha azdır. Sığırlarda bugüne kadar 250 civarında kalıtsal kusur tespit edilmiş olup bunlardan iki tanesi de BS ve CD olarak bilinen kalıtsal kusurlardır (Online Mendelian Inheritance in Animals 2019).

BS ilk olarak Danimarka'da ortaya çıkmış fakat nedeni anlaşılamamıştır. Agerholm vd. (2006) tarafından ise sebebi yıllar sonra açığa çıkarılmış ve söz konusu genetik kusur için gereken çalışmalara yön vermiştir. Bu genetik kusura sahip olan hayvanlarda fenotipik olarak bozukluklar görülmekte ve buzağılar ölü doğmaktadır (Şekil 1.1). CD ise ilk kez 2015 yılında bulunan kalıtsal resesif bir kalıtsal bozukluktur (Menzi vd. 2016). Bu hastalığa sahip olan hayvanlarda başlangıçta gelişim geriliği ve kronik ishal görüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 1.2). CD kalıtsal kusuruna sahip hayvanların 3 hafta ile 6 ay arasında öldüğü görülmüştür. Genetik kusurların herhangi bir çözümü olmamasına paralel olarak BS ve CD genetik kusurları için de bir çözüm bulunamamıştır. Bu iki genetik kusurda özellikle buzağılarda ölümle neticelendirildiğinden üzerinde önemle durulmalıdır. Bu yüzden ekonomik kayıpları en aza indirmek ve taşıyıcı durumunda olan sığırların damızlık olarak kullanılmaması için popülasyondan uzaklaştırılmaları gerekmektedir.



Şekil 1.9. BS genetik kusuruna sahip olan ölü doğmuş buzağı (Agerholm ve Peperkamp 2007)



Şekil 1.10. Aynı yaştaki buzağılar **a)** Sağlıklı buzağı; **b)** CD genetik kusuruna sahip buzağı (Mock vd. 2016)

Bu tezin amacı; Türkiye’de yetiştirilen yerli sığır ve Siyah Alaca sığır ırklarını Brachyspina sendromu ve Kolesterol Eksikliği genetik kusurları bakımından tanımlayarak bu genetik kusurları taşıyan olası sığırları tespit etmek ve bu hastalıklara neden olan mutant allelin frekanslarını tahmin etmektir. Böylece Türkiye’de yetiştirilen yerli sığır ve Siyah Alaca sığır ırkları ile dünyada yetiştirilen sığır popülasyonlarının karşılaştırılabilmesine yönelik verilerin elde edilmesine olanak sağlayacak bilgiler elde edilecektir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Kalıtsal Kusur

İnsanlar yüzyıllar boyunca hayvanların geliştirilmesini, sağlığının korunmasını ve verimliliğini artırmak için genetik özellikleri bakımından yüksek canlıların çoğalmasını sağlamaya çalışmıştır. Hastalıklara karşı genetik olarak dirençli hayvanların ıslahı ve seleksiyonu ile çiftlik hayvanlarının sağlık durumları geliştirilerek verim artışı sağlanabilmektedir. Hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara sebep olan kalıtsal kusurların tespit edilmesi ve genetik temellerinin açıklanması, popülasyonun devamı ve ekonomik verim seviyesinin korunması bakımından oldukça önemlidir. Sığırlarda görülen genetik bozukluklar çoğunlukla resesif etkili bir gen tarafından belirlenmekte olup otozomal kalıtım modeliyle generasyonlar boyunca aktarılmaktadır (Meydan 2007). BS ve CD gibi otozomal kromozomlar üzerinde bulunan resesif etkili bir gen tarafından belirlenen kalıtsal kusurlar bakımından sığırlar, normal (AA), BS veya CD taşıyıcısı (Aa), BS veya CD genetik kusuruna sahip hasta (aa) olmak üzere üç farklı genotipte sınıflandırılmaktadırlar.

Kalıtsal kusurlar, genetikte ortaya çıkan ve mutasyonlar sonucunda oluşarak ebeveynlerden gelecek nesillere aktarılabilen çeşitli morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri etkileyerek normal olan fonksiyonların dışında farklı fenotiplerin meydana gelmesi olarak tanımlanmaktadır. Kalıtsal kusurlar canlılar üzerinde fiziksel veya yapısal bozukluklara neden olarak, hayvanların sağlıkları ve üremeleri üzerine olumsuz etkiler yapabilmekte hatta hayvanların ölümüne neden olabilmektedir. Bu sebeple hayvan ıslahı ve hayvan yetiştiriciliği ile uğraşan kişilerin üzerinde durması gereken konulardan bir tanesi de bu kalıtsal kusurlara sebep olan mutant allelin sürüden uzaklaştırılmasını sağlamaktır. Genom üzerinde genetik bilginin içeriğindeki ya da konumundaki en ufak değişiklikler bile, fenotipte çok büyük değişikliklere sebebiyet verebilir. Fenotipte görülen bu farklılıkların ana nedeni mutasyonlardır ve bu oluşan mutasyonlar kalıtsal kusurların oluşmasına yol açmaktadır (Citek vd. 2006).

Araştırılan birçok genetik kusur o özelliğin meydana gelmesine yardımcı olan resesif gen bakımından homozigot genotiplerde çıkmakta ve bu şekilde popülasyonlarda fark edilebilmektedir. Bu genetik kusurlar bakımından homozigot genotipte olan hayvanlar ya erken dönemlerde ölmekte ya da ölü doğmaktadır. Homozigot genotipe sahip olan hayvanların ölmesiyle birlikte kalıtsal kusurun gelecek nesillere aktarılması ve söz konusu olan genin yayılması önlenmiş olunur. Genetik kusur bakımından heterozigot bir genotipte olan bireylerin tespit edilmesi ve bu gene sahip olan hayvanların popülasyondan uzaklaştırılması önemli bir adımdır. Bireyler eğer heterozigot genotipte ise fenotiplerinde çoğu zaman herhangi bir değişikliğin meydana gelmesi beklenmez. Kalıtsal kusurların meydana gelmesine sebep olan resesif etkili gen gelecek generasyonlara belirli oranlarda aktarılmaktadır. Böylece kalıtsal kusurun oluşmasına sebep olan genin popülasyondaki varlığı ve bununla birlikte olarak da frekansını nesiller boyunca artırmaktadır. Kalıtsal kusurlu hayvanların popülasyondaki oranlarının artması sonucunda ekonomik açıdan da önemli kayıplar meydana gelebilmektedir. Ekonomik kayıpları olabildiğince aza indirilmesi gayesiyle damızlık için kullanılacak ebeveynlerin bahsedilen bu genetik kusurlar bakımından taşıyıcı olup olmadıklarının belirlenmesi ve buna bağlı olarak ayıklanması

populasyonun devamını ve ekonomik verim seviyesinin korunmasını sağlar (Meydan 2007).

2.2. Zoolojik Sistemde Sığırın Yeri

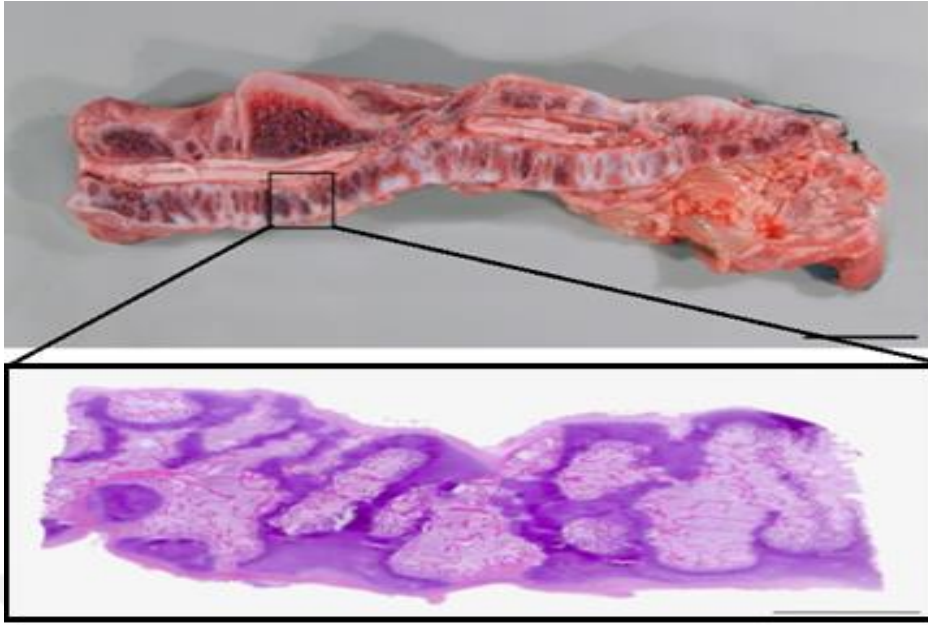
Sığırın sistematikte ki yeri Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Sistematikte Sığırın Yeri

<u>Alem</u>	Hayvanlar
Şube	Sırtı İplikliler
Alt Şube	Omurgalılar
Sınıf	Memeliler
Alt Sınıf	Plesantalılar
Takım	Tınaklılar
Alt Takım	Çift Tınaklılar
Grup	Ruminantlar
Familya	Boş Boynuzlular
Cins	Bos
Alt Cins	Taurina
Tür	Bos Taurus

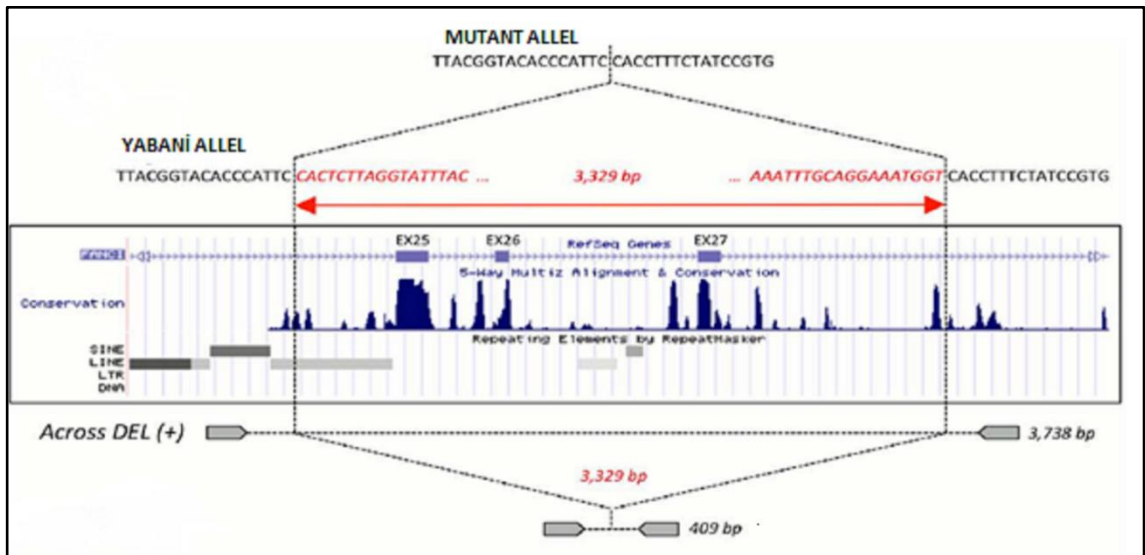
2.3. Brachyspina Sendromu (BS)

2006 yılında ilk olarak Danimarka’da ortaya çıkan Brachyspina sendromu (Agerholm vd. 2006) günümüze kadar Hollanda’da (Agerholm ve Peperkamp 2007), İtalya’da (Testoni vd. 2008), Almanya’da (Buck vd. 2010) ve Kanada’da (Agerholm vd. 2010) görülmüştür. Brachyspina sendromu, Siyah Alaca sığırlarında görülen fakat az rastlanan bir kalıtsal kusurdur. Bu genetik kusurları bulunduran hayvanlarda, düşük vücut ağırlığı, büyümede gerilik, omurga kısmında gözle görülür kısalma, kol ve bacaklarda ise vertebral bozukluklar görülür (Şekil 2.1). Ek olarak, hastalık görülen buzağılarda, alt ve üst dişlerde asimetrik hizalanma aynı zamanda böbreklerin, eşey organlarının ve özellikle de kalbin tahrip olmasına sebebiyet verir (Li vd. 2016).



Şekil 2.1. BS kalıtsal kusuruna sahip buzağda spinal bölgesinde görülen vertebral bozukluğunun fotomikrografik görüntüsü (Agerholm ve Peperkamp 2007)

Brachyspina sendromuna (OMIA 000151-9913), sığırların 21. kromozomu üzerinde ki fanconi anemia complementation group 1 (FANCI) geni üzerinde 3329 bp'lik delesyona neden olur (Charlier vd. 2012). BTA21. kromozomu üzerinde bulunan FANCI geni 37 ekzon bulundurur ve burada ekzon 25'ten 27'ye kadar bir frame-shift meydana gelerek 28. ekzonda stop kodonu oluşturur (Li vd. 2016). Bu nedenle sentezlenecek olan amino asit sayısında azalma meydana gelerek proteinin yapısı değişiklik gösterir.



Şekil 2.2. FANCI geni üzerinde BS'ye sebep olan delesyon (Charlier vd. 2012)

Brachyspina sendromu ile alakalı yapılan çalışmalar incelendiğinde, Li vd. (2016) BS genetik kusurunun Round Oak Rag Apple Elevation ve Sweet Haven Tradition isimli

iki boğanın soyuna dayandığı ilaveten Sweet Haven Tradition isimli boğanın soyundan gelen Roth rock Tradition Leadman ve Bis-May Tradition Cleitus adlı iki boğanın da temel olarak BS'nin mutant resesif allelini yaymaktan sorumlu olduklarını bildirmişlerdir.

2006 senesinde ilk olarak Danimarka'da 6,4 kg ağırlığında ölü doğmuş olan bir erkek buzağında göğüs, bel ve boyun kemiği kısımlarında normal olmayan kısaltmalarla birlikte gelişimini tamamlayamadığı ve bacaklarında ise anormal boyutta uzamalar görülmüştür ve böylece BS ile ilgili ilk vaka bildirilmiştir (Agerholm vd. 2006).

Daha sonra İtalya'da ölü olarak doğan biri dişi biri erkek iki buzağında da BS görülmüştür. Her iki buzağının da ilk vakada olduğu gibi anormal boyutlarda uzun bacaklara ve daha kısa gövdeye sahip oldukları belirtilmiştir. Ek olarak böbrek, kalp ve üreme organlarında da bir takım bozukluklar görülmüştür. Radyografik olarak belirlenen otopsi verilerinde omurların şekilsiz ve kaynaşmış oldukları bildirilmiştir (Testoni vd. 2008).

Bunların dışında Hollanda (Agerholm ve Peperkamp 2007), Almanya (Buck vd. 2010) ve Kanada (Agerholm vd. 2010) da aynı fenotipik ve morfolojik özellikleri gösteren ölü Siyah Alaca buzağılar tespit edilmiştir.

Ruśc ve Kamiński (2015) 78 baş Polonya Siyah Alacasını BS genetik kusuru bakımından incelemiş ve 8 baş Siyah Alacayı taşıyıcı olarak tanımlamışlardır.

Li vd. (2016) tarafından Çin'de 1996 yılından 2012 yılına kadar doğmuş olan 136 baş Siyah Alaca dişisini ve 206 baş Siyah Alaca erkeğini incelenmiştir. Sonuç olarak ise; 3 baş taşıyıcı Siyah Alaca dişi ve 10 baş taşıyıcı Siyah Alaca erkeği tespit edilmiştir (Li vd. 2016).

Chao vd. (2020) tarafından 2017 ile 2019 yılları arasında Kuzey, orta, güney ve Doğu Tayvan sürülerinden rastgele bir şekilde toplamda 1688 sığır seçilmiştir. Bunun sonucunda ise 1602 baş sığırı normal genotipte, 86 baş sığırı ise taşıyıcı olarak belirlenmiştir.

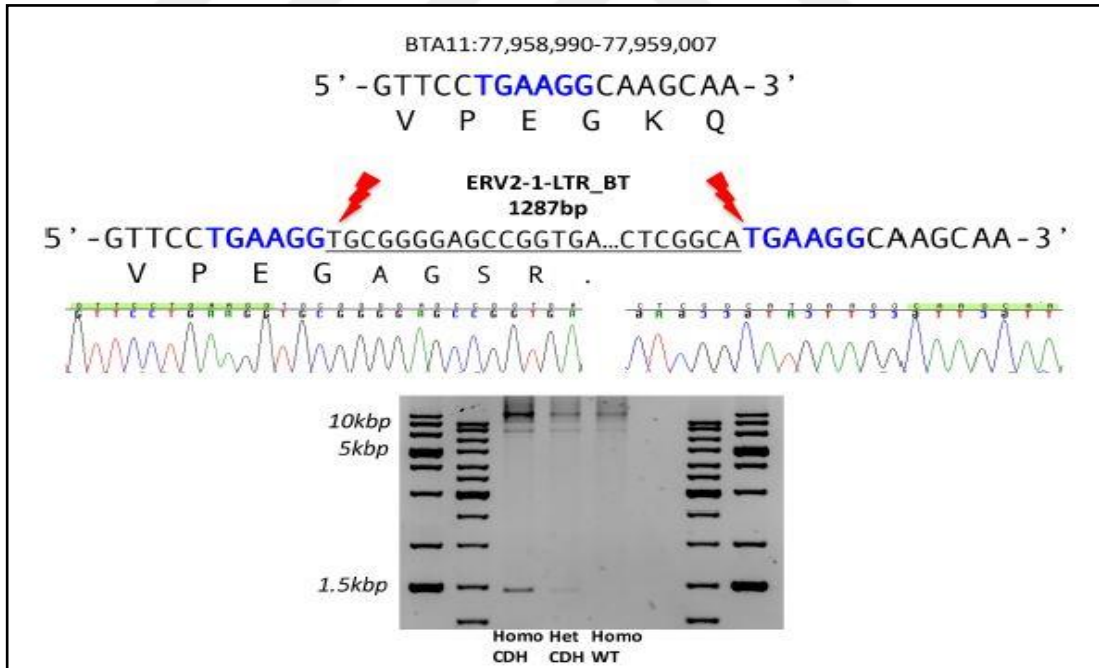
2.4. Kolesterol Eksikliği (CD)

Kolesterol eksikliği genetik kusuru ilk kez 1991 yıl doğumlu Mauglin Storm (CANM000005457798) isimli bir boğada görülmüştür (Menzi vd. 2016). Mauglin Storm'un soyundan gelen boğalar, suni tohumlamada aktif bir şekilde kullanıldığı için bu genetik kusura sebep olan mutant allelin frekansının birçok ülkede hızla arttığı söylenebilmektedir. Bu hastalıktan etkilenmiş homozigot genotipteki buzağılar hipolipidemi ve hipokolesterolemi bulguları göstermiştir. Buzağılarda görülen bu genetik kusur, erken dönemde ölümle sonuçlanan otozomal resesif kalıtsal bir hastalık olan ve kalıtsal yağ metabolizması bozukluğu olarak bilinen Cholesterol Deficiency (Kolesterol eksikliği, CD; OMIA 001965-9913) olarak adlandırılmıştır (Kipp vd. 2015).

Kolesterol eksikliği, BTA11. kromozomu üzerinde apolipoprotein B (APOB) geninin 5. ekzon bölgesinde meydana gelen 1.3 kb'lik insersiyon ile mutasyona bağlı

olarak lipid metabolizması etkilenmekte ve buzağılarda erken dönemde ölümle sonlanmaktadır (Schütz vd. 2016). APOB geni, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (VLDL) çok önemli yapısal şilomikron proteini (Kane vd. 1980). Meydana gelen 1.3 kb'lik insersiyon durumunda APOB'un açık okuma çerçevesinde (ORF, Open Reading Frame) stop kodonu meydana gelmektedir. Bu olay ise proteinin 140 aminoasitlik uzunluğundan daha kısa kesilmesiyle sonuçlanır. Bu kalıtsal kusur bakımından heterozigot genotipe sahip olan hayvanlar, çoğunlukla semptom göstermezken, erişkin yaşa geldiklerinde bu hastalıkla tesadüfi bir şekilde karşılaşılır. Bu hastalık bakımından homozigot genotipe sahip hayvanlarda ise; genç yaşta bağırsaklarında ki şilomikron atılımının yapılamadığı görülmüş ve bu durumda kolesterolün emilim mekanizmasında bozukluk göstermiştir (Schütz vd. 2016).

Hastalığın ilk evresinde hayvanlar yetersiz gelişim ve kronik ishal gibi spesifik olmayan semptomlar göstermiştir. Bu genetik kusura sahip hayvanlar yapılan semptomatik tedaviye karşın 3 hafta - 6 aylık bir zaman diliminde ölmüştür. Hastalıktan etkilenen buzağılarda kimyasal analizler yapılmış ve sonucunda yüksek hipokolesterolemiyi gösteren yağ metabolizmasındaki bir bozukluk ortaya çıkarmıştır. Bu kalıtsal hastalık için ko-dominant bir kalıtım gösteren ve herhangi bir klinik bulguya sahip olmayan heterozigot hayvanlarda ise kan kolesterol düzeylerinin azaldığı ortaya konulmuştur (Kipp vd. 2015).



Şekil 2.3. APOB geni üzerinde CD'ye sebep olan insersiyon (Schütz vd. 2016)

Sığırlarda BTA11. kromozom üzerindeki APOB geninde meydana gelen bu mutasyon insanlar üzerinde de görülmekte olup FHBL1 (Familial hypobetalipoproteinemia-1) olarak isimlendirilir (Menzi vd. 2016). Kalıtsal olarak plazmadaki LDL kolesterol ve apolipoprotein konsantrasyonlarının normal olmayan

derecede düşük olduğu sendromdur (Malloy ve Kane 1982). APOB geninde meydana gelen eksiklik durumunda karaciğer üzerinde, apoprotein B içeren VLDL sentezi azalmakta ve bağırsaklarda da şilomikronların atılımı yapılamamaktadır. LDL kolesterolünün azalmasına VLDL kolesterolünün azalması öncü olmaktadır. Bu kalıtsal kusurun taşıyıcı formuna sahip olan bireyler çoğunlukla asemptomatiktir ve LDL-kolesterol seviyeleri normal değerlerin altındadır. Homozigot formlara sahip bireyler ise oldukça düşük LDL-kolesterol seviyeleri gösterirler. Bu genetik kusur, retinitis pigmentosa, akantositoz, yağ emilim mekanizmasında bozukluk ve vitamin E eksikliğine bağlı olarak ilerleyici nörolojik hastalıklar meydana getirmektedir (Malloy ve Kane 1982; Özkaya 2011; Özcan ve Özbeyaz 2017).

Kolesterol eksikliği ile alakalı yapılan çalışmalar incelendiğinde, Polonya’da 27 baş Siyah Alaca sığırları Maughlin Storm pedigrisine bakarak seçilmiştir ve 9 baş sığırdaki CD genetik kusuru bakımından taşıyıcılık saptanmıştır. Alınan bu sonuçlar, CD genetik kusuruna sebep olan mutasyonun Polonya’da ki Siyah Alaca sığırlarına da aktarıldığını ortaya koymaktadır. (Kamiński ve Ruśc 2016).

İsviçre’de 254 baş Siyah Alaca sığırları üzerinde APOB genotipinin kolesterol metabolizması üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak ise; 254 baş sığırdaki homozigot allele rastlanmamış olup 36 baş sığırın taşıyıcı ve 218 baş sığırın normal allele sahip olduğu belirtilmiştir. Heterozigot sığırlarda serbest kolesterol (FC) ($P < 0.05$), total kolesterol (TC) ($P < 0.001$), düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDLC) ($P < 0.001$), yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-C) ($P < 0.001$), fosfolipidler (PL) ($P < 0.001$) ve triasil gliseritler (TAG) ($P < 0.005$) normal genotipe sahip olan sığırlara oranla daha düşük görülmüştür. Bu araştırma; BTA11. Kromozom üzerindeki APOB geni mutasyonunun, kolesterol eksikliğine sebep olarak mutant gene sahip buzağılarda kolesterolle beraber TAG, fosfolipidler ve lipoproteinlerin yoğunluğunun azaldığını göstermiştir (Gross vd. 2016).

Salem vd. (2016) sığırlarda CD genetik kusurunun belirlenmesinde fenotipik marker olarak, LDL-C’nin (düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol) kullanılabileceği belirtilmiştir.

Başta İsviçre olmak üzere birçok ülkede ki Siyah Alaca yetiştirme kurumları, bu sığırlarda kolesterol eksikliği genetik kusurunun giderek çoğalmakta olduğunu bildirmiştir (Menzi vd. 2016).

Histopatolojik araştırmalara göre; İnce bağırsak ve kalın bağırsaklarının sarı sıvı ya da küf yeşili ile kaplı olduğu ve mukozalarının ödemli olduğu ortaya konulmuştur. Buzağılarda perineal ve anüs bölgelerinin kesikli ishalin belirtisi olan dışkı ile dolu olduğu görülmüştür. Anlık otolitik değişiklikler sebebiyle ince bağırsaklarındaki villus uçlarındaki lipit vakuollerinin kaybolduğu ve normalden farklı olarak zayıf göründükleri tespit edilmiştir (Mock vd. 2016).

Yapılan biyokimyasal analizlerde; Hasta olan tüm buzağılarda kolesterol düzeylerinin 0,5 mmol/L’nin altında olduğu tespit edilmiş ve plazmalarında ki kolesterol seviyeleri belli oranda azalma göstermiştir. Normal genotipe sahip olan sağlıklı

hayvanlarda ise kolesterol seviyesinin 2 mmol/L'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Kipp vd. 2015).

Ölüm sonrası mikroskopik olarak alınan verilerde ise; spinal kanalda yağ oranının ve kemik iliğinin yok olduğu görülmüştür (Kipp vd. 2015).

Rusya'da 2010-2017 yılları arasında doğmuş olan ve rastgele seçilen 1817 baş rus sığırının kolesterol eksikliği bakımından 147 tanesinin taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen bu 147 baş sığırın 2016-2019 yılları arasında doğmuş olan bireylerinde bu hastalığın frekansının en yüksek olduğu söylenmiştir. Ek olarak 2016-2019 yıllarında ataları taşıyıcı olan 171 erkek ve 160 dişi sığır incelenmiştir. Sonuç olarak ise 50 erkek sığırın ve 27 dişi sığırın heterozigot olduğu ortaya çıkarılmıştır (Pozovnikova vd. 2020).

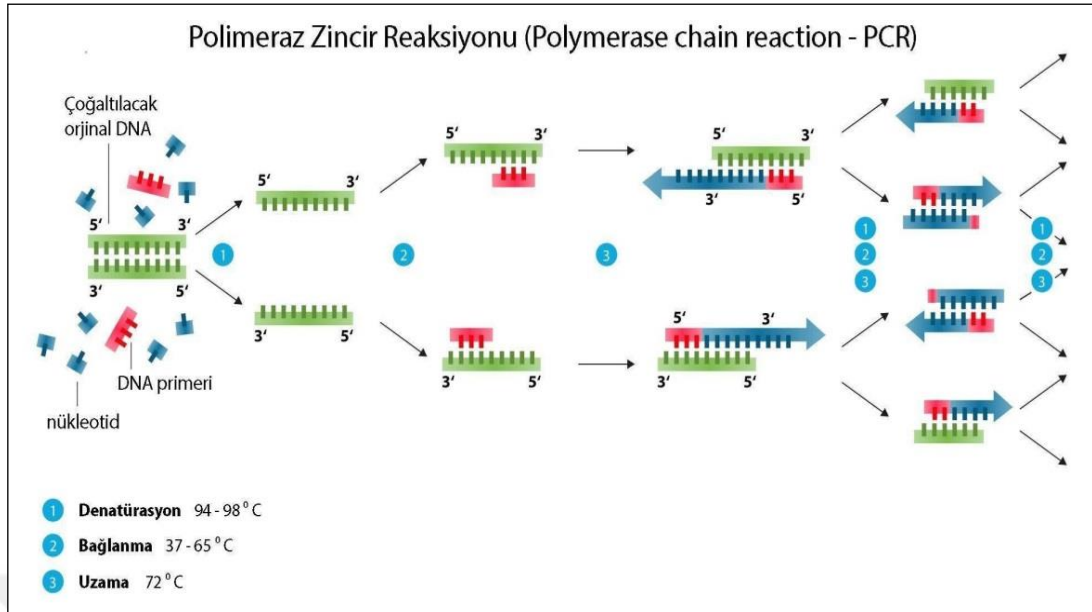
2.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

DNA'nın kopyalanmasını sağlayan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ilk kez 1985 yılında Cetus biyoteknoloji kimyacısı Dr. Kary Banks Mullis tarafından keşfedilmiştir. Mullis bu buluşu ile 1993 yılında kimya dalında Nobel ödülüne layık görülmüştür.

DNA sentez yöntemi olan PCR, doğal DNA replikasyon işleminin temel bileşenleri kullanılarak DNA'nın özgül bölgelerinin çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir (Saiki vd. 1985). DNA'yı çoğaltmak için kullanılacak olan protokolde, sentetik oligonükleotitler yani primerler, bu primerlerine bağlanarak 3' ucundan nükleotidleri ekleyip sentezleyecek ısıya dayanıklı DNA polimeraz, magnezyum (Mg²⁺), tuz ve pH konsantrasyonunu optimum yapan tampon çözelti ve deoksiribonükleozittrifosfatlar (dNTP's) gereklidir.

PCR, üç basamağı olan ve defalarca tekrarlanan bir döngüdür. Söz konusu basamaklar;

1. Eksenlerin ayrılması (denatürasyon) olarak bilinen bu ilk aşamada, DNA baz çiftleri arasındaki H bağları açılması sonucu olarak yaklaşık 94–95°C'lık sıcaklık ile DNA'nın iki eksenini birbirinden ayrılmaktadır.
2. Sıcaklığın düşürülerek tek zincirli hale gelmiş olan DNA üzerine primerlerin bağlanma (annealing) yaptığı aşamadır.
3. Optimum polimerizasyon sıcaklığında (72 °C), DNA polimeraz enzimi yeni eksenleri sentezleyerek DNA sentezini son aşamada gerçekleştirir. Bu aşamaya uzama (extension) adı verilir.



Şekil 2.4. PCR'ın üç aşamalı döngüsünü gösteren şekil (Anonim 1)

Bir sonraki denatürasyon işleminde, temel eksenlerle birlikte yeni oluşmuş olan DNA eksenleri de denatüre olmaktadır. Hem yeni sentezlenen eksen hemde orijinal eksenler primer bağlanma bölgelerine sahiptir ve bir sonraki DNA sentezi için kalıp görevi görmektedir. Bu PCR döngüsü 20 – 40 kez tekrarlanarak istenilen miktarlarda DNA bölgesi çoğaltılmış olmaktadır. Her döngü aşamasında DNA miktarı iki katına çıkarılarak amaçlanan DNA miktarı üstel bir artışla çoğaltılmaktadır. (Şekil 2.4).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan hayvan ırkları ve örnek sayıları

Tamamlanan bu tez çalışmasında Türkiye yerli sığır ırkları (Yerli Kara, Boz Irk, Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Güney Sarısı ve Zavot) ve Türkiye’de yetiştirilen Siyah Alaca sığır ırkı materyal olarak kullanılmıştır. Kan örneklerinin alındığı bölgeler ve alınan örnek sayısı Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışılan hayvan ırkları ve örnek sayıları

İrk	Örnek alınan bölge	Örnek sayısı
Siyah Alaca	Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Şanlıurfa Ceylanpınar İşletmesi	250
Yerli Kara	Ankara - Kızılcahamam Özel İşletmeler	20
Boz Irk	Balıkesir - Bandırma Özel İşletmeler	20
Doğu Anadolu Kırmızısı	Erzurum Özel işletmeler	20
Güney Anadolu Kırmızısı	Kilis Özel İşletmeler	20
Yerli Güney Sarısı	Adana - Söke Özel İşletmeler	20
Zavot	Kars Özel İşletmeler	20
TOPLAM		370

3.1.2. Araç ve gereçler

Çalışmada kullanılan ekipman ve kullanım amaçları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Ekipman listesi ve kullanım amaçları

Ekipman Türü ve Modeli	Bu Çalışmada ki Kullanım Amacı
Soğutmalı Santrifüj	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında ısıya hassas örneklerin bozulmadan santrifüj edilerek çöktürülmesi
Mini Santrifüj	Örneklerin PCR aşamalarında ve DNA izolasyonunda kısa süreli santrifüj edilerek çöktürülmesi
Thermal cycler	PCR ile belirlenen bölgelerin çoğaltılması
Jel görüntüleme	PCR ürünlerinin jel görüntülerinin alınması ve bilgisayar ortamına aktarılması
Otoklav	Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu
Hassas terazi	Tampon çözeltilerin hazırlanmasında sarf malzemelerin tartılması
Yatay elektroforez sistemi	DNA izolasyonu ve PCR ürünlerinin tespit edilmesi
Elektroforez güç kaynağı	Elektroforez işlemi için gerekli kesintisiz düzenli elektrik akımının sağlanması
Manyetik karıştırıcı	Tampon çözeltilerin hazırlanması
Mikro dalga fırın	Çözeltilerin hazırlanması ve Agaroj jellerin hazırlanması
pH metre	Hazırlanan tamponların pH’larının ayarlanması
Laminar Flow	PCR çalışmalarının steril ortamda yapılması
Vorteks	DNA izolasyonu ve PCR sırasında tüplerin karıştırılması
Buzdolabı	Örneklerin, sarf malzemelerin ve tamponların saklanması
Derin Dondurucu	Örneklerin, sarf malzemelerin ve tamponların saklanması

3.1.3. Tampon çözeltiler

Genomik DNA moleküllerinin izolasyonunda kullanılacak olan tampon çözeltiler Çizelge 3.3 'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Tampon çözeltilerin miktar ve içerikleri

Tampon Çözelti	Molarite/Miktar		İçerik
Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi	0.32	M	Sukroz
	10.00	mM	EDTA
	5.00	mM	MgCl ₂
Fizyolojik Tampon Çözeltisi	75.00	mM	NaCl
	25.00	mM	EDTA
Lisis TE Tampon Çözeltisi	500.0	mM	Tris-HCl
	20.00	mM	EDTA
	10.00	mM	NaCl
SDS Solusyonu (% 10)	10.00	g	SDS
	100.0	ml'ye tamamlanır.	Saf H ₂ O
6M NaCl Çözeltisi	3.51	g	NaCl
	10.00	ml'ye tamamlanır.	Saf H ₂ O
DNA Yükleme Tampon Çözeltisi	5.00	ml	Gliserol
	2.00	ml	Bromfenol
	1.50	ml	EDTA
	1.50	ml	Saf H ₂ O
10 X TBE Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi	108.0	g	Tris
	55.0	g	Borik Asit
	40.0	ml	0.5M EDTA (ph 8.0)
	1 litreye	tamamlanır.	Deiyonize dH ₂ O
1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi	100	ml	10 X TBE
	1 litreye	tamamlanır.	Deiyonize dH ₂ O

3.2. Metot

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Genomik DNA molekülünün izolasyonunda (Miller vd. 1988) tarafından bildirilen protokol laboratuvar ortamında optimize edilerek (Meydan 2007) aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

1. -80 °C’de muhafaza edilen kan örnekleri oda sıcaklığında (23–25 °C) bekletilmiştir.
2. Her bir kan örneğinden 500 µl alınarak 1,5 ml’ lik ependorf tüp içine konulmuştur.
3. Örneklerin üzerine 1.000 µl **Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi** (Çizelge 3.3) ilave edilecek ve kısa bir süre vorteksle iyice karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekletme süresinin sonunda örnekler 3.000 rpm de 10 dk. santrifüj edilmiştir.
5. Ependorf tüplerin üst kısmında toplanan sıvı kısım (süpernatant) dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin (hücre kısmı) rengi gözlenerek peletlerin rengi beyaz olana kadar **Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi** ile tekrar (en fazla 3 defa) muamele edilmiştir.
6. Peletlerin üzerine 1.000 µl **Fizyolojik Tampon Çözeltisi** (Çizelge 3.3) eklenmiş ve kısa bir süre karıştırılmıştır.
7. Örnekler 3.000 rpm de 10 dk. santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda sıvı kısım dikkatli bir şekilde tekrar uzaklaştırılmıştır.
8. Peletlerin üzerine 600 µl **Lisis TE Tampon Çözeltisi** (Çizelge 3.3) eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
9. Çözülen peletlerin üzerine 100 µl %10’ luk **SDS solusyonu** (Çizelge 3.3) ve 5 µl proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek hafifçe karıştırılmış ve 65 °C’de 1,5 saat su banyosunda tutulmuştur. İnkübasyon süresince her 15 dakikada bir elle hafifçe karıştırılmıştır.
10. İnkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 200 µl **6M NaCl Çözeltisi** (Çizelge 3.3) eklenmiş ve 15 dk. vorteksle iyice karıştırılmıştır ve 11.000 rpm de 10 dk. santrifüj edilmiştir.
11. Santrifüj sonunda üstte kalan ve DNA moleküllerini içeren sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine koyulmuştur.
12. Örnekler 10.000 rpm de 5 dk. tekrar santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine alınmıştır. Örnekler üzerine örnek hacminin iki katı hacimde (yaklaşık 1.000 µl) %99,9 ’luk etil alkolden (-20 °C ’de muhafaza edilen) ilave edilmiştir.
13. Etil alkol ilave edildikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar hafifçe elle karıştırılmıştır.
14. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 10.000 rpm de 5 dk. santrifüj edilmiştir.

15. Santrifüj sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletinin üzerine 1.000 µl %70'lik etil alkol ilave edilerek 10.000 rpm de 5 dk. santrifüj edilmiştir.
16. Santrifüj işleminden sonra tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmıştır.
17. Tüp içindeki alkolün tamamen uzaklaşmasını sağlamak amacıyla örnekler çeker ocak içinde kurumaya bırakılmıştır.
18. Tamamen kuruyan örnekler üzerine 100 µl saf su ilave edilmiş olup, DNA peletinin çözülmesi için bir gece buzdolabında +4 °C 'de bekletilmiştir.
19. Örneklerden izole edilen genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının (kırılıp kırılmadığı) kontrolleri %2 'lik agaroz jellerinde yapılmıştır.
20. Spektrofotometre ölçümleri sonucunda 260/280 dalga boylarında 1.8–2.0 saflık ile miktar olarak 50 ng / µl değerinin üzerinde bulunan ve ayrıca %2 'lik agaroz jellerinde tek parça olduğu tespit edilen her bir örneğe ait DNA molekülleri PCR işlemi yapılıncaya kadar +4 °C 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması

Li vd. (2016) çalışmış oldukları BS hastalığında, BTA21. kromozomu üzerinde bulunan FANCI geni üzerinde 3329 bç'lik delesyonun meydana geldiğini ve böylece 409 bç görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bu şekilde Siyah Alacalarda mutasyon meydana gelmektedir. Ayrıca sığırlarda ATP8 geni, pozitif kontrol olarak PCR'ın doğruluğunu kontrol etmek için kullanılmıştır. Yani ATP8 geninin BS hastalığı ile bir ilgisi yoktur. Elde edilen 269 bç sağlıklı olan ve taşıyıcı olan tüm hayvanlarda görülmüştür.

Menzi vd. (2016) çalıştıkları CD genetik kusurunda, sağlıklı hayvanlarda 249 bç görüldüğünü tespit etmişlerdir. APOB geni üzerinde 1300 bç'lik insersiyon meydana geldiğinde ise 436 bç görülerek mutasyon ortaya çıkmaktadır. Böylece Siyah Alacalarda insersiyon varlığını tespit ederek genotipleri belirlemişlerdir.

Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait primer dizileri Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3. 4. Gen bölgelerine ait primerler

	Primer dizileri	Fragment Büyükülüğü	Kaynak
BS	Forward-M: 5'GCTCAAGTAGTTAGTTGCTCC ACTG 3'	409 bç	Li vd. 2016
	Reverse-M: 5'ATAAATAAATAAAGCAGGATG CTGAAA3'		
ATP8	Forward-W: 5'TAAGTTAGAGATTGAGAGCC 3'	269 bç	
	Reverse-W: 5'GATAAGGGTTACGAGAGGGA 3'		
CD	Forward-W: 5'GGTGACCATCCTCTCTCTCTGC 3'	436 bç	Menzi vd. 2016
	Reverse: 5'AGTGGAACCCAGCTCCATTA 3'		
	Forward-M: 5'CACCTTCCGCTATTCGAGAG 3'	249 bç	

Çizelge 3.5 ve 3.6'da verilen PCR Stok Tampon Çözeltisinde, her seferde incelenecek örnek sayısı ile orantılı olacak şekilde steril 1,5 ml'lik ependorf tüpü içinde hazırlanmıştır. Bu PCR Stok Tampon Çözeltisinde her bir örnek için 19.5 µl alınarak tüplere dağıtılmıştır. Hazırlanan PCR Stok Tampon Çözeltisi tüplere dağıtıldıktan sonra örnekler için ait DNA'dan 0.5 µl alınarak bu çözeltinin üzerine eklenmiştir. Tüplerin kenarlarına yapışmış olan kısmı dibe çöktürmek için bu karışım 3-5 sn mikrosantrifüjde 3.500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucunda içinde örneklerin bulunduğu tüpler PCR çoğaltımlarının yapıldığı cihaza (Thermal cycler) yerleştirilmiştir. Üzerinde durulan gen bölgelerinin çoğaltılmasında ise Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8'de verilen PCR programı uygulanmıştır.

Çizelge 3.5. FANCI geni için PCR protokolü

Miktar	İçerik	Derişim
0.5 µl	DNA	100 ng
2 µl	Buffer	10 X
2.4 µl	MgCl ₂	25 mM
0.3 µl	dNTPs	2 mM
0.3 µl	Forward Primer (M)	10 pmol
0.3 µl	Forward Primer (W)	10 pmol
0.3 µl	Reverse Primer (M)	10 pmol
0.3 µl	Reverse Primer (W)	10 pmol
0.6 µl	<i>Taq</i> DNA polimeraz	5 U/ng
13.6 µl	Su	
20 µl	Toplam	

Çizelge 3.6. APOB geni için PCR protokolü

Miktar	İçerik	Derişim
0.5 µl	DNA	100 ng
2 µl	Buffer	10 X
2.4 µl	MgCl ₂	25 mM
0.3 µl	dNTPs	2 mM
0.3 µl	Forward Primer (M)	10 pmol
0.3 µl	Forward Primer (W)	10 pmol
0.3 µl	Reverse Primer (M)	10 pmol
0.6 µl	<i>Taq</i> DNA polimeraz	5 U/ng
13.3 µl	Su	
20 µl	Toplam	

Çizelge 3.7. FANCI geni için optimize edilen PCR programı

94 °C → 5 dk		DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>initial denaturation</i>)
95 °C → 10 sn	35 döngü	DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>denaturation</i>)
58 °C → 20 sn		Primerin komplementer kalıp DNA eksenini bölgesiyle hibritlenmesi (<i>annealing</i>)
72 °C → 30 sn		DNA bölgesinin sentezinin yapılması (<i>extension</i>)
72 °C → 10 dk		Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin son defa yapılması (<i>final extension</i>)

Çizelge 3.8. APOB geni için optimize edilen PCR programı

94 °C → 5 dk		DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>initial denaturation</i>)
95 °C → 10 sn	35 döngü	DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>denaturation</i>)
65 °C → 20 sn		Primerin komplementer kalıp DNA eksenini bölgesiyle hibritlenmesi (<i>annealing</i>)
72 °C → 30 sn		Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin yapılması (<i>extension</i>)
72 °C → 10 dk		Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin son kez yapılması (<i>final extension</i>)

3.2.3. Elektroforez

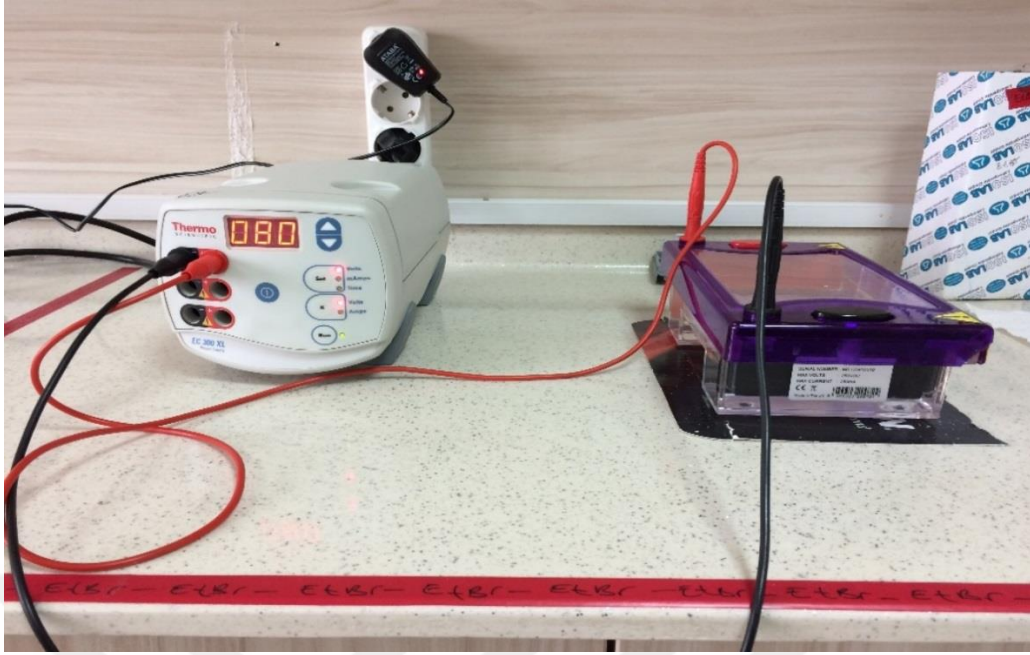
Elektroforez çözeltisi önce 10 X Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi olarak hazırlanmıştır (Çizelge 3.3). Daha sonra elde edilen örneklerin elektroforez işlemi için 1 X Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi kullanılmıştır. Öncelikli hazırlanan stok solüsyon deiyonize su ile 10 katı sulandırılarak (1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi) jelin hazırlanmasında kullanılmıştır. Aynı zamanda TBE solüsyonu elektroforez tampon çözeltisi olarakta kullanılmıştır. Jelin hazırlanması için 40 ml, Elektrolit Çözeltisi olarak da 450 ml 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi kullanılmıştır.

3.2.3.1. Agaroz jellerin hazırlanması

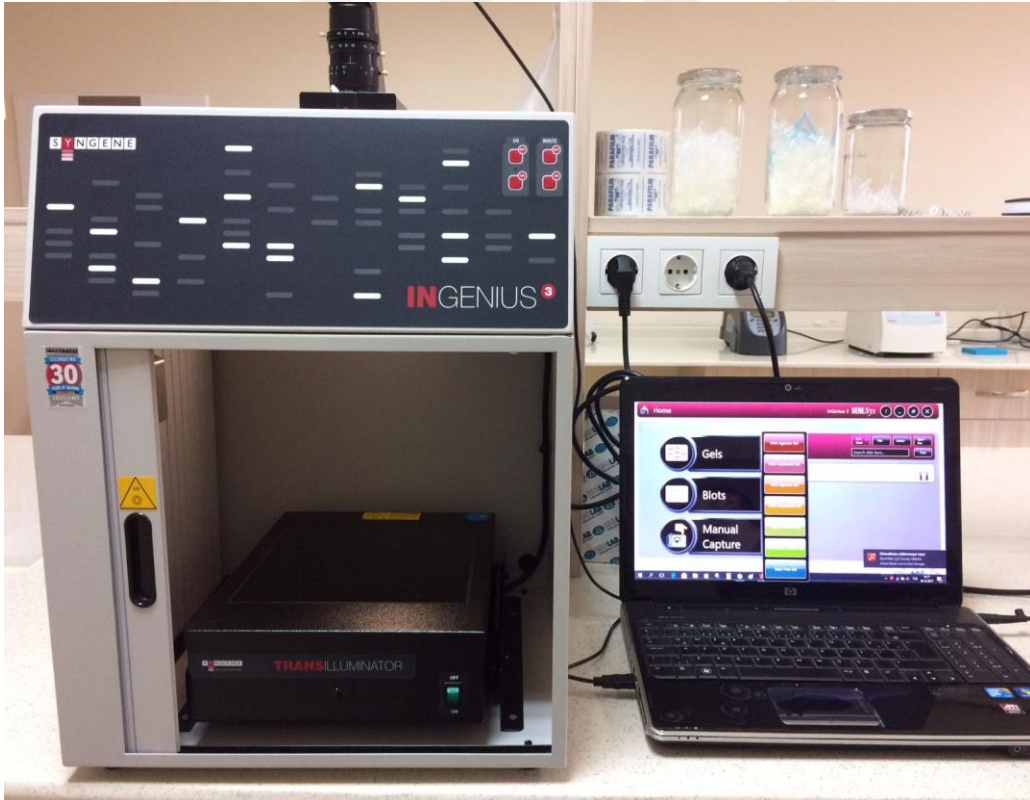
0.8 gr agaroz tartılarak erlen mayerin içerisine alınıp üzerine 40 ml 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi eklenmiştir. Böylece %2'lik agaroz jel elde edilmiştir. Elde dairesel hareketlerle karıştırıldıktan sonra toz halindeki agarozun çözelti içerisinde iyice eriyip iyice homojenize edilmesi için mikrodalga fırında 2-4 dk. boyunca kaynatılmıştır. Kaynamış olan jel üzerine 5 µl Etidyum Bromid çözeltisi ilave edilerek su altında soğutulması sağlanmış ve kuyucuklu tarakları bulunan jel tablasına yürütmesine engel oluşturacak baloncuklar oluşmasına izin verilmeden dökülerek oda sıcaklığında soğuması beklenmiştir. Yaklaşık 30 dk sonra tarak, kuyucuklara zarar vermeden yavaş ve dikkatli bir şekilde çıkarılmıştır. Hazırlanan jel 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi ile dolu olan yatay elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jel tanka yerleştirildikten sonra üzerini tamamen kaplayana kadar 1 X TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi ilave edilmiştir.

3.2.3.2. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve fotoğraflarının çekilmesi

PCR ürünlerinin içinde olduğu tüpten, pipet yardımı ile 10 µl çekilerek, 0,2 µl'lik PCR tüplerine konulmuş ve üzerine 3 µl Jel Yükleme Tampon Çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışım kuyucuklara dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. Elektroforez cihazında işlem sonunda görüntülenecek olan bantların büyüklüklerinin saptanması için ilk kuyucuğa 100 bp. aralıklarla bant veren 1.5 kb büyüklüğünde DNA ladder 5 µl yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 80 V/cm'de yaklaşık olarak 30-40 dk. sonra tamamlanmıştır (Şekil 3.1). Elektroforez işleminden sonra jellerin Jel Görüntüleme Sisteminde (Syngene) fotoğrafları çekilerek elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. PCR ürünlerinin elektroforez cihazında yürütülmesi

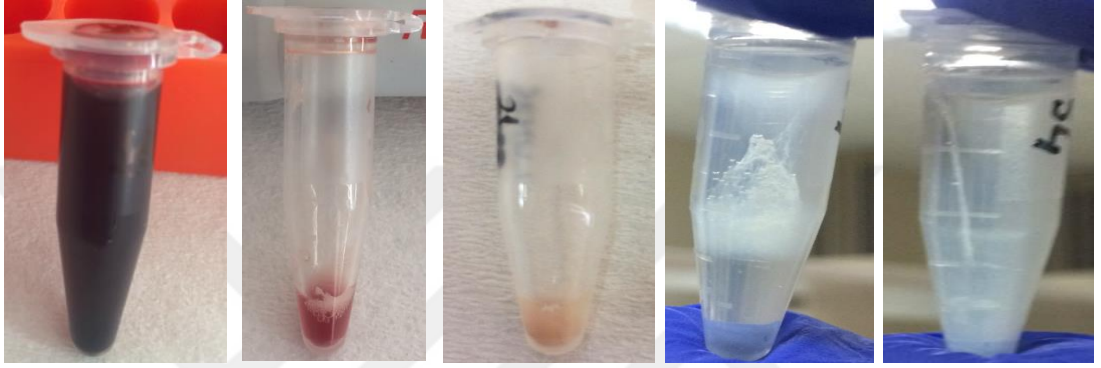


Şekil 3.2. Elektroforez işleminden sonra ürünlerin görüntülenmesi

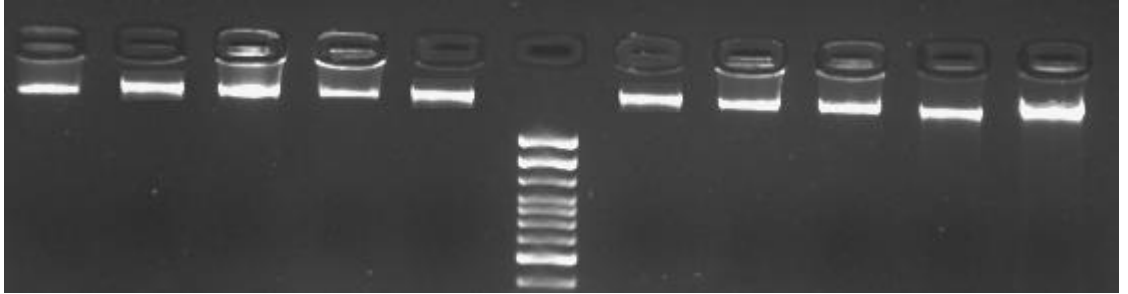
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA İzolasyon Sonuçları

Daha önce de belirtildiği üzere genomik DNA izolasyonu için tuz çöktürme yöntemi uygulanmış olup, DNA izolasyon aşamaları fotoğraflanmıştır (Şekil 4.1). Çalışılan sığır populasyonundan alınan kanlardan izole edilen genomik DNA'ların kalite kontrolü %2'lik agaroz jel elektroforezinde yapılmış ve görüntülenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Kan örneklerinin DNA izolasyon aşamaları



Şekil 4.2. BS ve CD için kullanılacak DNA örneklerinin %2'lik agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü

4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

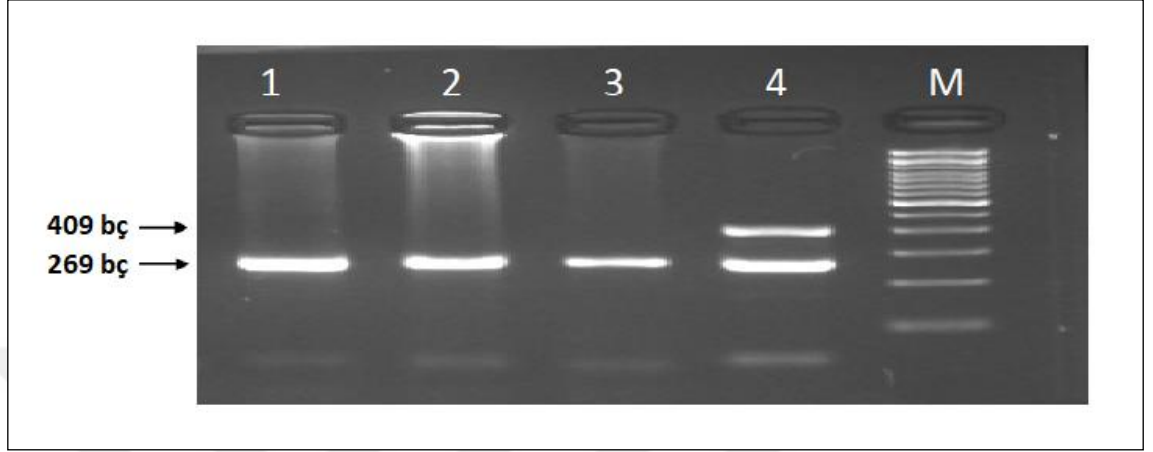
BS ve CD genetik kusurları için, gen bölgelerine ait primerler ve dizayn edilen PCR protokolleri ile heterozigot bireyler belirlenmiştir.

4.2.1. Brachyspina Sendromu

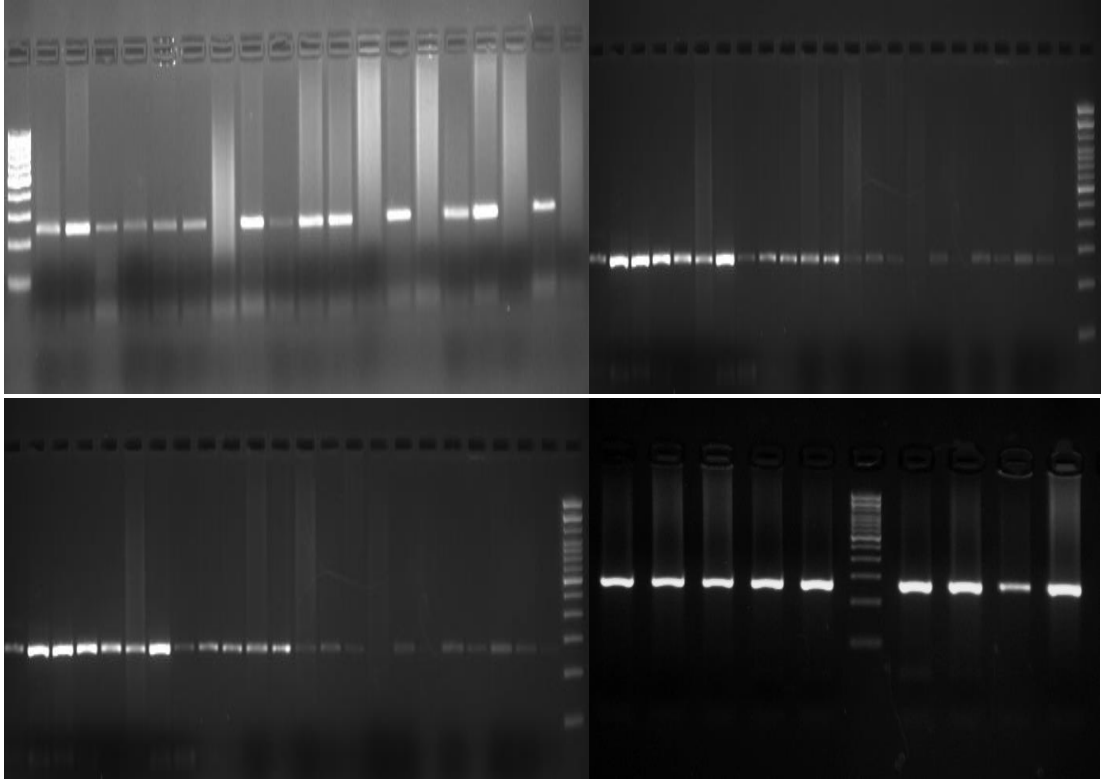
Araştırmanın materyalini oluşturan sığır kanları laboratuvar ortamında izole edildikten sonra PCR ile çoğaltılan ürünler %2'lik agaroz jelde görüntülenmiştir.

Görüntülemeler sonucunda BS için tüm denekler arasında yerli ırklarda heterozigot birey bulunmazken Siyah Alacada 1 heterozigot birey bulunmuştur.

Heterozigot genotip Şekil 4.3 te, yerli ırklarda BS genotiplerinin bulguları ise Şekil (4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9) ‘ da belirtilmiştir.



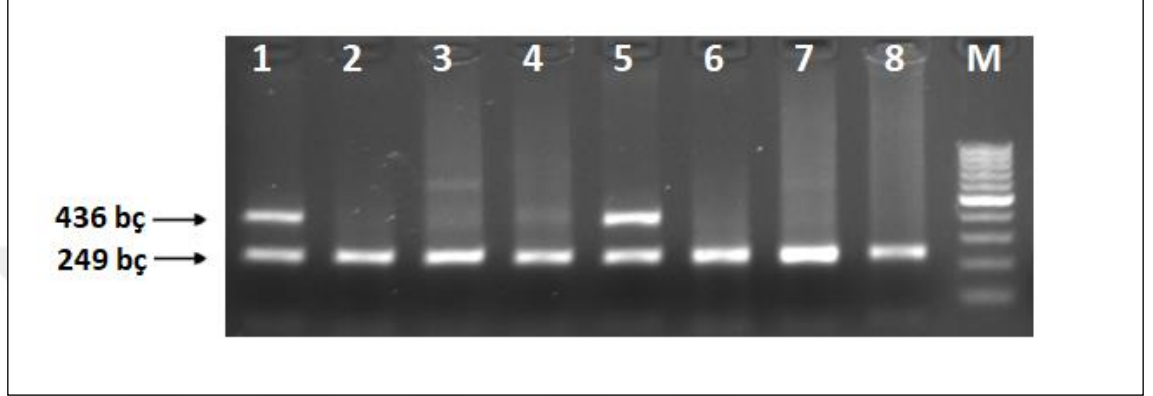
Şekil 4.3. BS Genotiplerinin %2’lik agaroz jel elektroforez yöntemi ile BS genotiplerinin belirlenmesi. 4. Kuyucuk siyah alaca sığırlarda tespit edilen heterozigot genotip (269 ve 409 bç); 1, 2, ve 3. Kuyucuklar normal genotip (269 bç); M : 100 bç. DNA marker



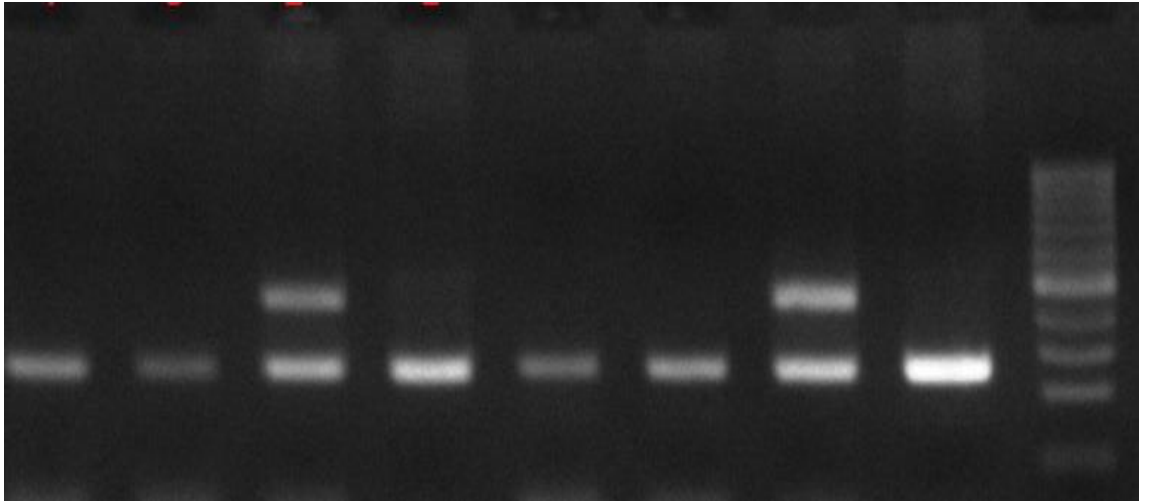
Şekil 4.4. Yerli ırklarda BS genotiplerinin jeldeki görüntüleri

4.2.2. Kolesterol Eksikliği

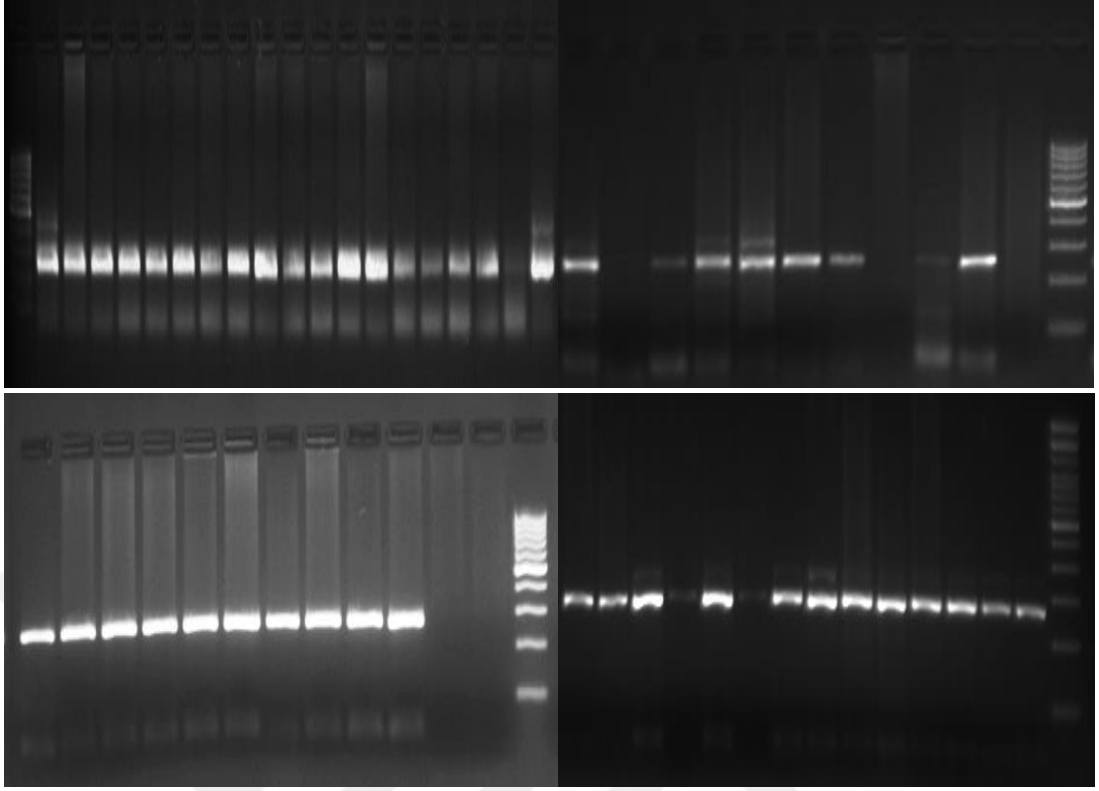
Araştırmanın materyalini oluşturan sığır kanları laboratuvar ortamında izole edildikten sonra PCR ile çoğaltılan ürünler %2'lik agaroz jelde görüntülenmiştir. Görüntülemeler sonucunda CD için tüm denekler arasında yerli ırklarda heterozigot bireye rastlanmazken Siyah Alacalarda 4 heterozigot birey bulunmuştur. Heterozigot bireyler Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.5. CD genotiplerinin % 2'lik agaroz jel elektroforez yöntemi ile CD genotiplerinin tespiti. 2, 3, 4, 6, 7 ve 8. Kuyucuklar normal genotip (269 ve 409 bç) ; 1. Ve 5. Kuyucuklar siyah alacalarda tespit edilen heterozigot genotipler (249 ve 436 bç) ; M: 100 bç. DNA marker



Şekil 4.6. Siyah alacalarda belirlenen diğer 2 heterozigot genotipinin jel görüntüsü



Şekil 4.7. Yerli ırklarda CD genotiplerinin jeldeki görüntüleri

Elde edilen PCR çalışması sonucunda, Doğu Anadolu Kırmızısı, Güney Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara, Zavot, Boz Irk ve Yerli Güney Sarısı ırklarının CD ve BS kalıtsal kusurları bakımından bir mutant lokuslara rastlanılmamıştır. Böylece söz konusu ırklardaki bireylerin tümünün normal genotipte (sağlıklı) olduğu söylenebilmektedir. Siyah Alaca (n=250) sığır ırkında ise 4 baş sığırın CD bakımından heterozigot genotipte olduğu ve 1 baş sığırın BS bakımından heterozigot genotipte olduğu ortaya koyulmuştur (Çizelge 4.1). Bunun sonucu olarak, CD genetik kusuruna sebep olan mutant allelin frekansı 0.008, BS genetik kusuruna sebep olan mutant allelin frekansı ise 0.002 olarak tahmin edilmiştir. Heterozigot genotipli bireylerin frekansı ise BS için 0.004, CD için 0.016 olarak tahmin edilmiştir. Yapılan test sonucunda Siyah Alaca sığır popülasyonunun gözlenen genotip frekansları ve beklenen genotip frekansları ile arasındaki farklılıkların tesadüften ileri geldiği ve her iki lokus bakımından da Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 4.1. Siyah Alaca sığır ırkında BS ve CD bakımından gen ve genotip frekansları

İrk	Örnek Genişliği	BS			CD		
		AA	Aa	aa	BB	Bb	bb
Siyah Alaca	250	249	1	-	246	4	-
		% 0.996	% 0.004		% 0.984	% 0.016	
		$q_a: 0.002$			$q_b: 0.008$		

Şimdiye kadar ki yapılan literatür araştırmalarına göre, Türkiye’de BS ve CD genetik kusurunun varlığını tespit etmeye yönelik daha önceden yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın sonuçlarının Türkiye sığır ırkı popülasyonu çerçevesinde tartışılması mümkün olmamıştır.

Polonya’da yapılan bir çalışmada 78 baş Polonya Siyah Alacası incelenmiş ve 8 baş siyah alaca heterozigot olarak tanımlanmıştır (Ruśc ve Kamiński 2015). Çin’de 1996 yılından 2012 yılına kadar doğan 206 baş Siyah Alaca erkeği ve 136 baş Siyah Alaca dişisi incelenmiş ile 3 baş taşıyıcı Siyah Alaca dişisi ve 10 baş taşıyıcı Siyah Alaca erkeği saptanmıştır (Li vd. 2016). Hollanda (Agerholm ve Peperkamp, 2007), Almanya (Buck vd. 2010) ve Kanada (Agerholm vd. 2010) da aynı morfolojik ve fenotipik özelliklere sahip ölü Siyah Alaca buzağıları tespit etmişlerdir.

Chao vd (2020) tarafından 2017 ile 2019 yılları arasında Kuzey, orta, güney ve Doğu Tayvan sürülerinden rastgele bir şekilde toplamda 1688 sığır seçilmiş ve 1602 baş sığırı normal genotipte, 86 baş sığırı ise taşıyıcı olarak belirlenmişlerdir. Bu belirtilen çalışmalara göre; bu tezde çalışılan 250 Siyah Alaca popülasyonunda 1 baş sığırın BS taşıyıcısı olduğu tespit edilmiş olup BS genetik kusuruna neden olan mutant allelin frekansı (q_a) 0.002 olarak tahmin edilmiştir.

İsviçre’de 254 baş Siyah Alaca sığırları üzerinde APOB geninin kolesterol metabolizması üzerindeki etkisi incelenmiş ve homozigot mutant genotipi bulunamamış olup 36 baş siyah alacanın taşıyıcı genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Menzi vd. 2016). Bu belirtilen çalışmaya göre; bu tezde çalışılan 250 Siyah Alaca popülasyonunda 4 baş sığırın CD taşıyıcısı olduğu tespit edilmiş olup CD genetik kusuruna neden olan mutant allelin frekansı (q_b) 0.008 olarak tahmin edilmiştir.

Türkiye’de siyah alaca sığır ırkında tespit edilen BS ve CD genetik kusurlarının frekansının diğer ülkelerde ki siyah alaca sığır ırklarında tespit edilen BS ve CD genetik kusurlarının frekanslarından düşük olmasının nedeni hasta yavruların pedigrileri incelendiğinde ortaya çıkabilmektedir. Diğer ülkelerde tespit edilen BS genetik kusuruna sahip yavruların soyunun suni tohumlamada kullanılan Sweet Haven

Tradition isimli boğaya dayandığı, CD genetik kusuruna sahip yavruların soyunun ise üstün verim özellikleri nedeniyle tüm dünyada suni tohumlamada yaygın olarak kullanılan Mauglin Storm isimli boğaya dayandığı belirtilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre bu genetik kusurlara sebep olan mutant alleli taşıyan boğalara ait spermilerin Türkiye’de suni tohumlama çalışmalarında kullanılmadığı söylenebilir. Bu yüzden ülkemizde bu mutant allelere ait frekanslar düşük tespit edilmiş olabilir.



5. SONUÇLAR

Sığır yetiştiriciliğinde yapılan ıslah çalışmaları ilk olarak hayvanların evcilleştirilmesiyle başlamıştır. İnsanlar yaşamları süresince birim hayvandan daha fazla ürün elde ederek ekonomik verim seviyelerini yükseltmek istemişlerdir. Biyoteknolojik gelişmeler sonucu kalıtsal olarak olumlu niteliklerin gelecek nesillere aktarıldığı gibi genetik hastalıklar gibi olumsuz özelliklerin de aktarılabildiğini bilmekteyiz.

Tarımsal faaliyetlerin önemli bir kısmını hayvansal üretim oluşturduğu için sığır yetiştiriciliği ile elde edilen et, süt ve döl verimi gibi özellikler hayvansal üretim ile sağlanan ekonomik gelirde büyük önem taşımaktadır. Sığır yetiştiriciliğinden elde edilecek kazancın maksimum olabilmesi için öncelikle sürünün sağlıklı hayvanlardan oluşturulması gerekmektedir. Sığırlarda ortaya çıkan çeşitli genetik kusurlar büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Sığırlarda görülen kalıtsal kusurların hayvansal üretime konu olan birçok özelliği doğrudan etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle ekonomik kayıpların en aza indirilmesi amacıyla damızlıkta kullanılacak ebeveynlerin BS ve CD gibi kalıtsal kusurlar bakımından tespit edilmesi önem arz etmektedir. Böylece damızlıkta kullanılan sığırların sürüden elemine edilip popülasyonun devamı ve ekonomik verim seviyesinin korunması açılarından son derece önemlidir.

Son yıllarda genlerin yapısı, organizasyonu ve fonksiyonları hakkında elde edilen bilgiler moleküler genetik çalışmalarında yeni yöntemler geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Dolayısıyla BS ve CD gibi kalıtsal kusurların DNA seviyesinde ki tespiti yaygın bir şekilde laboratuvar ortamlarında yapılmaktadır. Bunun sayesinde hayvanların sözü edilen kalıtsal kusurlar bakımından taşıyıcı olup olmadıkları daha doğmadan bile belirlenebilmekte ve bu hayvanlar sürüden elemine edilebilmektedirler. Böylece popülasyonun devamı sağlanmış olup ekonomik verim seviyesinin korunabilmektedir.

Yüksek verimliliğin önemli olduğu yetiştiricilikte ekonomik kayıpları en aza indirmek amacıyla sığırların genetik kusurlar bakımından tespit edilip elemine edilmesi hem sürünün devamlılığı hemde ekonomik verim seviyesinin devam ettirilebilmesi için önem arz etmektedir. Bu bağlamda CD ve BS gibi genetik kusurlarının tespiti yapılarak ekonomik kayıpların önüne geçilebilir ve popülasyonun sağlıklı bir şekilde devamlılığı sağlanabilir.

Bu tez ile Türkiye Siyah Alaca sığırları ve yerli ırkların BS ve CD genetik kusuru bakımından tanımlanması, laboratuvar koşullarında PCR yöntemi kullanılarak gen ve genotip frekanslarının hesaplanması ve Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan yerli ırklar ve Siyah Alaca sığırlarının BS ve CD genetik kusurları bakımından mevcut durumunun saptanması gerçekleştirilmiştir.

Yapılan literatür araştırmalarına göre, ülkemizde daha önce CD ve BS kalıtsal kusurunun var olduğunu göstermeye yönelik yapılmış olan herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple bu tezde Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan Siyah Alaca sığırları ve yerli ırkların BS ve CD kalıtsal kusurları bakımından tanımlanmasına, mevcut durumun tespit edilmesine ve yürütülecek ıslah faaliyetlerine doğrudan katkı sağlayacağı çok açıktır.

Bu çalışmanın sonucunda, çalışılan yerli sığır ırklarında BS ve CD genetik kusuruna neden olan mutant allele rastlanılmamış olup tüm sığırların normal genotipte olduğu tespit edilmiştir. Siyah Alaca sığır ırkında CD bakımından 4 baş sığırın taşıyıcı ve BS bakımından 1 baş sığırın heterozigot genotipte olduğu saptanmıştır. Bundan dolayı da, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan Siyah Alaca ve yerli ırklar ilk kez BS ve CD kalıtsal kusurları bakımından tanımlanmış ve dünyada yetiştirilen sığır popülasyonları ile Türkiye’de yetiştirilen Siyah Alaca sığırlarının karşılaştırılabilmesine olanak sağlayan verileri ortaya koymuştur.



6. KAYNAKLAR

- Agerholm, J.S., McEvoy, F., Arnbjerg, J., 2006. Brachyspina syndrome in a Holstein calf. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18:418–422.
- Agerholm, J.S., Peperkamp, K. 2007. Familial occurrence of Danish and Dutch cases of the bovine brachyspina syndrome. *BMC Vet Res* 3: 8.
- Agerholm, J.S., DeLay, J., Hicks, B., Fredholm, M. 2010. First confirmed case of the bovine brachyspina syndrome in Canada. *Can Vet J* 51: 1349-1350.
- Akman, N., 1998. Pratik Sığır Yetiştiriciliği Ders Kitabı, Türk Ziraat Mühendisleri Birliği Vakfı Yayını.
- Akman, N. ve Kumlu, S., 1999, Türkiye’de Siyah Alaca (Holstein) damızlık yetiştiriciliğinde gelişmeler, Uluslararası Hayvancılık’99 Kongresi, s. 9-16, 21–24 Eylül, İzmir.
- Anonim 1: <https://www.drozdogan.com/polimeraz-zincir-reaksiyonu-nedir-pcr-tarihcesi-nasil-yapilir/> [Son erişim tarihi 13.02.2021].
- Anonymous 1: https://en.wikipedia.org/wiki/Holstein_Friesian_cattle [Son erişim tarihi: 13.02.2021].
- Arthur, P.F., Renand, G., Krauss, D. 2001. Genetic and phenotypic relationships among different measures of growth and feed efficiency in young Charolais bulls. *Lives ProdSci*, 68: 131–139.
- Buck B.C., Ulrich, R., Wöhlke, A., Kuiper, H., Baumgärtner, W. 2010. Vertebral and multiple organ malformations in a black and white German Holstein calf]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 123: 251-255.
- Chao, C. H., Chen, Y. M., & Lee, K. H. 2020. Genotype Screening of Bovine Brachyspina in Taiwan Holstein Cows.
- Charlier, C., Agerholm, J.S., Coppieters, W., et al. 2012. A deletion in bovine FANCI gene compromises fertility by causing fetal death and brachyspina. *PLoS One* 7(8): e43085.
- Citek, J., Rehout, V., Hajkova, J., & Pavkova, J. 2006. Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic. *Vet Med*, 51(6), 333-339.
- Citek J, Rehout V, Vecerek L, and Hajkova J (2007). Genotyping glycogen storage disease type II and type V in cattle reared in the Czech Republic. *J. Vet. Med.*, 54, 257-259.
- Çerçi, S., 2006, Aydın ilinde bazı işletmelerde yetiştirilen siyah-alaca süt sığırlarının dış görünüşlerine göre sınıflandırılması, Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Evirgen, S.E., 2009, Aydın İli’nde yapay tohumlamada yaygın olarak kullanılan Siyah Alaca boğaların değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Gross, J. J., A.-C. Schwinn, F. Schmitz-Hsu, F. Menzi, C. Drogemuller, C. Albrecht, and R. M. Bruckmaier. 2016. Rapid Communication: Cholesterol deficiency-associated APOB mutation impacts lipid metabolism in Holstein calves and breeding bulls. *J. Anim. Sci.* 94:1761–1766.

- Jolly, R. D. 2002. Screening for genetic diseases in cattle. *Australian veterinary journal*, 80(5), 284-285.
- Ruś, A., & Kamiński, S. 2015. Detection of Brachyspina carriers within Polish Holstein-Friesian bulls. *Polish journal of veterinary sciences*, 18(2), 453-454.
- Kamiński, S., Ruś, A. 2016. Cholesterol Deficiency – new genetic defect transmitted to Polish Holstein-Friesian cattle. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 19, No. 4, 885–887.
- Kane, J.P., Hardman, D.A., Paulus, H.E. 1980. Heterogeneity of apolipoprotein B: isolation of a new species from human chylomicrons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77, 2465-2469.
- Kipp, S., Segelke, D., Schierenbeck, S., et al. 2015. A new Holstein haplotype affecting calf survival. Proceedings of the 2015 Interbull Meeting, July 09–12, 2015, Orlando, Florida, USA. *Interbull Bulletin* 49, 49–53.
- Kumlu, S., & Akman, N. 1999. Türkiye Damızlık Siyah Alaca Sürülerinde Süt ve Döl Verimi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 39(1), 1-16.
- Kumlu S., 1999. Damızlık ve Kasaplık Sığır Yetiştirme. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Setma Matbaacılık, ISBN: 975-96864-0-6. Antalya
- Kumlu S, Akman N., 2004. Ulusal standartlar ve Türkiye ulusal sığır ıslahı programı. IV. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi Bildiriler, Isparta, s. 1-10.
- Li, Y., Zhai, L., Fang, L., Zhang, S., Liu, L., Zhu, Y., Xue, J., Xiaoqing, L., Qiao, L., Sun, D. 2016. *J Vet Sci Med Diagn*, 5:3.
- Loftus R T, Ertugrul O, Harba A H, El-Baroyd M A A, Machugh D E, Park S D E & Bradley D G. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology* 8: 2015–2022
- Malloy, M. J., Kane, J. P. 1982. Hypolipidemia. *Medical Clinics of North America*, 66(2), 469-484.
- Menzi, F., Besuchet-Schmutz, N., Fragni_er, M., et al. 2016. A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle. *Anim Genet*; 47:253–257.
- Meydan, H., Yildiz, M. A., & Özdil, F. 2006. Identification of BLAD and DUMPS as a genetic disorders using PCR-RFLP in Holstein bulls reared in Turkey. In Proceeding of the 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production: 17-20 September 2006; Antalya, Turkey.
- Meydan, H. 2007. Türkiye’de Yetiştirilen Siyah Alaca Sığır Irkında Lökosit Adhezyon Yetersizliği (BLAD; Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency)’nin PRC-RFLP Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi.
- Meydan, H., Yildiz, M. A., & Agerholm, J. S. 2010. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 56.
- Meydan, H., Uğurlu, M., & Yildiz, M. A. 2012. Monitoring of BLAD, DUMPS, CVM, BC and FXID in Turkish native cattle breeds.

- Mock, T., Mehinagic K., Menzi, F., Studer, E., Oevermann, A., Stoffel, M.H., Drögemüller, C., Meylan, M., Regenscheit, N. 2016. Clinicopathological Phenotype of Autosomal Recessive Cholesterol Deficiency in Holstein Cattle *J. Vet. Intern. Med.* 30:1369–1375.
- Online Mendelian Inheritance in Animals 2020 (www.omia.org)
- Ottmar, D., 2005. The use of molecular genetics in eliminating of inherited anomalies in cattle, *Arch. Tierz. Dummerstorf*, 48(3), 209-218.
- Özcan, M., Özbeyaz, C. 2017. Holştayn Irkı Sığırlarda Otozomal Resesif Bir Hastalık: Kolesterol Eksikliği. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Ankara. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, 57 (1) 61-67.
- Özkaya, H., Aydemir, G., Akcan, A.B., Kul, M., Aydınöz, S., Süleymanoğlu, S. 2011. Ailesel heterozigot hipobetalipoproteinemli bir olgu. *ACU Sağlık Bil. Derg.* 2: 110-112.
- Perkins D Jr. 1969. Fauna of Çatal Hüyük: Evidence for early cattle domestication in Anatolia. *Science* 164(3875): 177–178
- Pozovnikova, M. V., Gladyr, E. A., Romanenkova, O. S., Vasileva, O. K., Leibova, V. B., Tyshchenko, V. I., & Dementeva, N. V. 2020. Screening of haplotype for cholesterol deficiency genetic defect in the Russian Holstein cattle population. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 313-315.
- Rajesh KP, Kalpesh JS, Jenabhai BC, Krishna MS, Krothapalli RS, Sambasiva R. 2006. Factor XI deficiency in Indian Bos taurus, Bos indicus, Bos taurus x Bos indicus crossbreds and Bubalus bubalis. *Genet. Mol. Biology*, 30(3):580-583.
- Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., & Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230(4732), 1350-1354.
- Saleem, S., C. Heuer, C. Sun, D. Kendall, J. Moreno, and R. Vishwanath. 2016. Technical note: The role of circulating low-density lipoprotein levels as a phenotypic marker for Holstein cholesterol deficiency in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 99:5545–5550.
- Schütz E., Wehrhahn, C., Wanjek, M., Bortfeld, R., Wemheuer, W.E., Beck, J., Brenig, B. 2016. The Holstein Friesian lethal haplotype 5 (HH5) results from a complete deletion of TBF1M and cholesterol deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) insertion into the coding region of APOB. *PLoS One* 11, e0154602, doi: 10.1371/journal.pone.0154602.
- Tagem 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü
- Testoni, S., Diana, A., Olzi, E., Gentile, A. 2008. Brachyspina syndrome in two Holstein calves. *Vet J* 177: 144-146.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) 2017. Hayvancılık istatistikleri veri tabanı www.tuik.gov.tr

7. EKLER

EK 1. FANCI geni için dizi analizi sonuçlarının detaylı bilgileri

LOCUS HQ184045 16340 bp DNA circular MAM 25-JUL-2016
 DEFINITION Bos taurus isolate Mcg375 mitochondrion, complete genome.
 ACCESSION HQ184045
 VERSION HQ184045.1
 KEYWORDS
 SOURCE mitochondrion Bos taurus (cattle)
 ORGANISM Bos taurus
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia;
 Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 16340)
 AUTHORS Bonfiglio S., Achilli A., Olivieri A., Negrini R., Colli L.,
 Liotta L., Aimone-Marsan P., Torroni A. and Ferretti L.
 TITLE The Enigmatic Origin of Bovine mtDNA Haplogroup R: Sporadic
 Interbreeding or an Independent Event of Bos primigenius
 Domestication in Italy?
 JOURNAL PLoS ONE 5 (12), E15760 (2010)
 PUBMED 21209945
 REMARK Publication Status: Online-Only
 REFERENCE 2 (bases 1 to 16340)
 AUTHORS Bonfiglio S., Achilli A., Olivieri A., Negrini R., Colli L.,
 Liotta L., Aimone-Marsan P., Torroni A. and Ferretti L.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-AUG-2010) Dipartimento di Genetica e Microbiologia,
 University of Pavia, Via Ferrata, 1, Pavia 27100, Italy

gene 1..4587
 /gene="FANCI"
 /note="FA complementation group I"
 /db_xref="BGD:BT28292"
 /db_xref="GeneID:522442"
 /db_xref="VGNC:VGNC:28859"

CDS 1..3984
 /gene="FANCI"
 /note="Fanconi anemia complementation group I"
 /codon_start=1
 /product="Fanconi anemia group I protein"
 /protein_id="NP_001178383.3"
 /db_xref="BGD:BT28292"
 /db_xref="GeneID:522442"
 /db_xref="VGNC:VGNC:28859"

ORIGIN
 7861 tgagctgtgc cctctctagg actaaaaaca gacgcaatcc caggccgtct aaaccaaaca
 7921 acccttatat cgccccgtcc aggccttatat tacgggtcaat gctcagaaat ttgcgggtca
 7981 aaccacagtt tcatacccat tgtccttgag ttagtccac taaagtactt tgaaaaatga
 8041 tctgcgtcaa tattataaaa tcactaagaa gctatatagc actaaccttt taagttagag
 8101 attgagagcc atatactctc cttggtgaca tgccgcaact agacacgtca acatgactga
 8161 caatgatctt atcaatatc ttgaccctct ttatcatctt tcaactaaaa gtttcaaaac
 8221 acaactttta tcacaatcca gaactgacac caacaaaaat attaaaacaa aacacccctt
 8281 gagaaacaaa atgaacgaaa atttatttac ctcttttatt acccctgtaa ttttaggtct
 8341 ccctctcota acccttatcg tactattccc cagcctacta ttcccaacat caaacccgact
 8401 agtaagcaat cgctttgtaa ccctccaaca atgaatactt caactgtat caaaacaaat
 8461 aatgagtatc cacaattcta aaggacaaac atgagcatta atattaatat ctctgaccc
 8521 gtttattgga tcaacaaacc tactaggcct attaccccat tcattcacac caacaacaca

EK 2. ATP8 geni için dizi analizi sonuçlarının detaylı bilgileri

LOCUS AB074968 16337 bp DNA circular MAM 24-JUL-2016
 DEFINITION Bos taurus mitochondrial DNA, complete genome, haplotype:JBC8.
 ACCESSION AB074968
 VERSION AB074968.1
 KEYWORDS
 SOURCE mitochondrion Bos taurus (cattle)
 ORGANISM Bos taurus
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia;
 Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Mannen H, Morimoto M, and Tsuji S.
 TITLE Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat
 quality in Japanese Black cattle
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 16337)
 AUTHORS Mannen H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (28-NOV-2001) Contact: Hideyuki Mannen Kobe University,
 8128_8328
 gene /gene="ATP8"
 8128_8328
 CDS /gene="ATP8"
 /EC_number="3.6.3.14"
 /codon_start=1
 /transl_table=2
 /product="ATP synthase protein 8"
 /protein_id="BAC54817.1"

ATAGATGAAATCAATAACCCATCTCTTACAGTAAAAACCATAGGACATCAGTGATACTGAAGCTATGAGT
 ATACAGATATGAGGACTTAAGCTTCGACTCCTACATAATTCCAACATCAGAATTAAGCCAGGGGAGCT
 ACGACTATAGAAGTCGATAATCGAGTTGTACTACCAATAGAAATAACAATCCGAATGTTAGTCTCCTCT
 GAAGACGTATTACACTCATGAGCTGTGCCCTCTCTAGGACTAAAAACAGACGCAATCCCAGGCCGTCTAA
 ACCAAACAACCCCTTATATCGTCCCGTCCAGGCTTATATACGGTCAATGCTCAGAAATTGCGGGTCAAA
 CCACAGTTTCATACCCATTGTCCTTGAGTTAGTCCCCTAAAGTACTTTGAAAAATGATCTGCGTCAATA
 TTATAAAATCACTAAGAAGCTATATAGCACTAACCTTTTAAGTTAGAGATTGAGAGCCATATACTCTCCT
 TGGTGACATGCCGCACTAGACACGTCAACATGACTGACAAATGATCTTATCAATATCTTGACCCCTTTT
 ATCATCTTTCAACTAAAAGTTTCAAAACACAACCTTTTATCACAATCCAGAACTGACACCAACAAAAATAT
 TAAAACAAAACACCCCTTGAGAAACAAAATGAACGAAAATTTATTTACCTCTTTTATTACCCCTGTAATT
 TTAGGTCCTCCCTCTCGTAACCTTATCGTACTATTCCCAAGCCTACTATTCCCAACATCAAAACCGACTAG
 TAAGCAATCGCTTTGTAACCTCCAACATGAATACTTCAACTTGATCAAAACAAATAATGAGTATCCA
 CAATTCATAAGGACAAACATGAACATTAATATTAATATCTCTGATCCTATTTATTGGATCAACAAACCTA
 CTAGGCCTATTACCCATTTCATTACACCAACAACACAACCTATCAATAAACTAGGCATAGCCATCCCCC
 TGTGAGCAGGAGCCGTAATTACAGGATTCGCAATAAACTAAAGCATCACTTGCCCATTTCTTACCACA

EK3. APOB geni için yapılan dizi analizi sonuçlarının detaylı bilgileri

NCBI Reference Sequence: NC_037338.1

LOCUS NC_037338 106982474 bp DNA linear CON 11-MAY-2018
 DEFINITION Bos taurus isolate L1 Dominette 01449 registration number 42190680
 breed Hereford chromosome 11, ARS-UCD1.2, whole genome shotgun
 sequence.

ACCESSION NC_037338

VERSION NC_037338.1

DBLINK BioProject: PRJNA450837

BioSample: SAMN03145444

Assembly: GCF_002263795.1

KEYWORDS WGS; RefSeq.

SOURCE Bos taurus (cattle)

ORGANISM Bos taurus
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia;
 Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.

COMMENT REFSEQ INFORMATION: The reference sequence is identical to
 CM008178.2.

Assembly name: ARS-UCD1.2

The genomic sequence for this RefSeq record is from the
 whole-genome assembly released by the USDA ARS on 2018/04/11. The
 original whole-genome shotgun project has the accession
 NKLS00000000.2.

##Genome-Assembly-Data-START##

Assembly Provider : USDA ARS

Assembly Date : DEC-2017

Assembly Method : Falcon v. FEB-2016

Genome Representation : Full

Expected Final Version : Yes

Genome Coverage : 80.0x

Sequencing Technology : PacBio; Illumina NextSeq 500; Illumina
 HiSeq; Illumina GAII

gene 1..41980

/gene="APOB"

/note="Derived by automated computational analysis using
 gene prediction method: Gnomon."

/db_xref="BGD:BT13412"

/db_xref="GeneID:494004"

/db_xref="VGNC:VGNC:26026"

ORIGIN

```

1 gccattgcaa tgggaagcct gtgcaccaca actagagaga agggcccgct ccacgcaact
61 agaggaaaagc ctgtgcagcg atggagaccc agcacagcca aaaagaaaga aaattgtttt
121 caaaagagaa ttttaaaatg tatcaaatag gtacttctaa aaaatttaca tgttgatcac
181 tacgtgccag gcagaattaa ataaatatta tctcatgcaa gtttaggaca actctacagg
241 acagacatt
```

ÖZGEÇMİŞ

Kübra BEDİR DİBİÇ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2017-2021	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2012-2017	Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Erzurum

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Ziraat Mühendisi/Ar-ge 2019 - Devam Ediyor	Multi Tohum Tar. San. Tic. A.Ş Hibrit Sebze Tohumculuğu/Domates Islah Departmanı
---	---

BİLİMSEL YAYINLAR

1. Genetic Defects in Turkish Cattle Populations and Genetic Control. 4th International Agricultural Congress – Nevşehir (Poster Sunumu)