



**YERLİ KOYUN IRKLARINDA LCORL GENİ
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Asiye DOĞAN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk LENGER

Tez No:2022-035

Afyonkarahisar

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
MEDİKAL BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

YERLİ KOYUN IRKLARINDA LCORL GENİ
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Asiye DOĞAN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk LENGER

Tez No: 2022-35

AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.

...../...../.....

Asiye DOĞAN

ÖZET

YERLİ KOYUN IRKLARINDA LCORL GENİ POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bir çiftlik hayvanı değerlendirilirken vücut boyutu en görünür ve et verimini en çok etkileyecek olan etkenlerden bir tanesidir. Koyunlarda vücut büyüklüğü, birçok gen bölgesi tarafından kontrol edildiği düşünülen ve ırklar arasında değişkenlik gösteren bir özelliktir. Hem insan boyu hem de çeşitli çiftlik hayvanlarının boy yüksekliği ile ilişkisi olduğu tespit edilen gen bölgelerinden bir tanesi de LCORL gen bölgesidir. Daha önce yapılan çalışmalar LCORL gen bölgesinin koyun türünde de boy yüksekliği ile ilişkilendirilebileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada altı farklı yerli koyun ırkına ait 170 hayvanda LCORL geni üzerinde belirlenen iki bölgenin polimorfizmleri RFLP-PCR yöntemi ile incelenmiştir. İncelenen popülasyonun LCORL-1 gen bölgesi için; Karayaka ırkında heterozigotluk oranının sıfır olduğu, Morkaraman ırkında ise diğer ırklara görece daha yüksek düzeyde bir heterozigotluk oranı görüldüğü, Pırlak, Sakız, Akkaraman ve Kıvırcık ırklarında ise heterozigotluk oranlarının birbirine yakın ve çok düşük düzeylerde olduğu belirlenmiştir. LCORL-2 olarak belirlenen gen bölgesinde ise aranan SNP ye hiç rastlanılmamış ve popülasyonun bu SNP açısından polimorfik yapıda olmadığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Koyun, LCORL, Polimorfizm, RFLP-PCR

SUMMARY

INVESTIGATION OF LCORL GENE POLYMOPHISMS IN NATIVE SHEEP BREEDS

When evaluating a farm animal, body size is one of the most visible and one of the factors that will most affect meat yield. Body size in sheep is a trait that is thought to be controlled by many gene regions and varies between breeds. LCORL gene region is one of the gene regions that has been found to be associated with both human height and height of various farm animals. Previous studies have shown that the LCORL gene region can also be associated with height in sheep.

In this study, polymorphisms of the LCORL gene region in 170 animals belonging to six different domestic sheep breeds were investigated by RFLP-PCR method. For the LCORL-1 gene region of the studied population; Heterozygosity rate was zero in Karayaka breed and higher heterozygosity rate was observed in Morkaraman breed compared to other breeds. It was determined that the heterozygosity rates of Pırlak, Sakız, Akkaraman and Kivırcık breeds were close to each other and at very low levels. In the gene region determined as LCORL-2, the sought SNP was never found and it was observed that the population was not polymorphic in terms of this SNP.

Keywords: Sheep, LCORL, Polymorphism, RFLP-PCR

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı yaparken gösterdiği sürekli destek, sabır ve katkılarından dolayı değerli danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk LENGER' e, laboratuvar çalışmalarında engin bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren değerli hocam sayın Prof. Dr. Metin ERDOĞAN' a, tez çalışmalarım boyunca fikirleri ve hoşgörülü davranışlarıyla motivasyonuma katkıda bulunan değerli hocam sayın Prof. Dr. Mine DOSAY AKBULUT' a, takıldığım her şeyi çekinmeden sorabildiğim değerli hocam sayın Arş. Gör. Eda DEMİRTAŞ'a, akademik eğitimimin başlamasından itibaren bana olan inancını daima hissettiğim, karşılaştığım her zorlukta yüce gönüllülüğü ve tüm özverisi ile yardımlarını esirgemeyen, paylaştığı tecrübeleri ile hayatımın her alanına ışık tutan, kendisinin engin bilgi birikimini gördükçe öğrenme azmim artan, öğretme ve başartma tutkusu ile her daim motivasyonumu yükselten, sayamadığım daha pek çok anlamda beni destekleyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Cevdet UĞUZ' a, minnet duygularımı ve sonsuz şükranlarımı sunmayı borç bilirim.

Beni yetiştirip bu günlere getiren ve her daim desteklerini benden esirgemeyen anne ve babam sayın Zahide ve Necdet DOĞAN' a, kıymetli abim sayın Ahmet DOĞAN' a, tanıdığım ilk günden beri beni mutlu etmek için elinden gelen her şeyi yapan, varlığı ile hayatıma anlam ve değer katan, her konuda en büyük destekçim olan değerli hayat arkadaşım sayın Şaban CENGİZ' e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama (21.SAĞBİL.04) finansal destek ve katkısı olan Afyon Kocatepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım.

Asiye DOĞAN

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER	ix
ÇİZELGELER	x
RESİMLER	xii
1.GİRİŞ	13
1.1.Koyunun Evcilleştirilmesi ve Önemi	16
1.2. Irkların Morfolojik ve Fizyolojik Karakterizasyonu	19
1.3. Islah Çalışmaları	23
1.4. LCORL Geni	27
1.5. Çalışmada Kullanılan Koyun Irkları	32
1.5.1.Sakız	32
1.5.2. Pırlak	35
1.5.3.Karayaka	36
1.5.4.Kıvırcık	38
1.5.5.Morkaraman	39
1.5.6.Akkaraman	41
2.MATERYAL VE METOT	43
2.1. Materyal	43
2.1.1. Hayvan Materyali	43
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	43
2.1.2.1. PCR Cihazı	43
2.1.2.2. Yatay Elektroforez Sistemi	44
2.1.2.3. Jel Görüntüleme Sistemi	44
2.2. Metot	45
2.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	45
2.2.2. Kandan DNA İzolasyonu	45
2.2.3. Primer Tasarımı	45
2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	46
2.2.4.1. Gradient PCR	46
2.2.4.2. PCR	47
2.2.5. Jel Elektroforez	48

2.2.6. RFLP- PCR (Restriksiyon Enzimi Uzunluk Polimorfizmleri)	49
3.BULGULAR	52
3.1. LCORL-1 Gen Bölgesi Polimorfizmleri	52
3.2. LCORL-2 Gen Bölgesi Polimorfizmleri	53
3.3. İstatiksel Analiz	54
4. TARTIŞMA	57
6. KAYNAKLAR	64
EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Ek 7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

CTBP1:	C-Terminal Binding Protein 1
DCAF16:	DDB1 and CUL4 Associated Factor 16
DNA:	Deoksirübo Nükleik Asit
dNTPs:	Deoxy Nucleoside Tri Phosphate
ECA3:	Equus Caballus Chorosome 3
EDTA:	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FAO:	Food and Agriculture Organization of The United Nations
FAOSTAT:	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü İstatistik Kurumu
GWAS:	Genom Wide Assosiation Studies
HAYGEM:	Hayvancılık Genel Müdürlüğü
LAP3:	Leucine Aminopeptidase 3
LCORL:	Ligand Dependet Nuclear Receptör-Coreceptör Like
MAS:	Marker Assisted Selection
MÖ:	Milattan önce
NCAPG:	Non-SMC Condensin I Complex Subunit-G
NR6A1:	Nuclear Receptor Subfamily 6 Group A Member 1
OAR6:	Ovis Aries Chorosome 6
PCR:	Polymerase Chain Reaction
PLAG1:	Pleiomorphic Adenoma Gene 1
QTL:	Quantitative Trait Loqus
RE:	Restriksiyon Enzimi
RFLP:	Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP:	Single Nucleotid Polymorphism
SPP1:	Secreted Phosphoprotein 1
TAE:	Tris Asetat Edta
TİGEM:	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü

TM: Mealting Temprature

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu

VARGOATS: Identification of Variations in Goat Genomes Related to Domestication and Adaptation

ZFAT: Zinc Finger And AT-Hook Domain Containing



Simgeler

cm: Santimetre

kg: Kilogram

g: Gram

°C: Santigrat Derece

%: Yüzde

sn: Saniye

dk: Dakika

µl: Mikrolitre

mM: Milimolar

ml: Mililitre

mg: Miligram

bç: Baz Çifti

kb: Kilobaz

H_o: Gözlenen Heterozigotluk Düzeyi

H_e: Beklenen Heterozigotluk Düzeyi

n: Kullanılan Örneklem Sayısı

pH: Power of Hydrogen

χ²: Ki- Kare Testi

p: Anlamlılık Testine İlişkin Olasılık Değeri

ŞEKİLLER

Şekil	1.1:	Bereketli	Hilal	ismi	ile	anılan	topraklar
16							
Şekil	1.2:	Koyunun		biyometrik		ölçüm	noktaları
20							
Şekil	1.3:	LCORL		geni		üçüncül	yapısı
29							
Şekil	1.4:	Ovis		Aries		LCORL	lokusu
30							



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1: Evcil koyun sınıflandırılması

17

Çizelge	1.2.a:	Sakız	ırkının	fizyolojik	özellikleri
32	Çizelge	1.2.b:	Sakız	ırkının	verim
33					özellikleri

Çizelge	1.3.a:	Pırlak	ırkının	fizyolojik	özellikleri
34					

Çizelge	1.3.b:	Pırlak	ırkının	verim	özellikleri
34					

Çizelge	1.4.a:	Karayaka	ırkının	fizyolojik	özellikleri
35					

Çizelge	1.4.b:	Karayaka	ırkının	verim	özellikleri
35					

Çizelge	1.5.a:	Kıvırcık	ırkının	fizyolojik	özellikleri
37					

Çizelge	1.5.b:	Kıvırcık	ırkının	verim	özellikleri
37					

Çizelge	1.6.a:	Morkaraman	ırkının	fizyolojik	özellikleri
38					

Çizelge	1.6.b:	Morkaraman	ırkının	fizyolojik	özellikleri
38					

Çizelge	1.7.a:	Akkaraman	ırkının	fizyolojik	özellikleri
39					

Çizelge	1.7.b:	Akkaraman	ırkının	verim	özellikleri
40					

Çizelge	2.1:		Primer		tasarımları
44					

Çizelge	2.2:	LCORL-1	bölgesini	çoğaltmak	için	kullanılan	PCR	bileşenleri
45								

Çizelge	2.3:	LCORL-1	bölgesini	çoğaltmak	için	kullanılan	PCR	protokolü
45								

Çizelge	2.4:	LCORL-2	bölgesini	çoğaltmak	için	kullanılan	PCR	bileşenleri
46								

Çizelge 2.5: LCORL-2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR protokolü	46
Çizelge 2.6: Hpy188-I enzimi tanıma bölgesi	48
Çizelge 2.7.: LCORL-1 bölgesini kesmek için kullanılan RFLP-PCR bileşenleri	48
Çizelge 2.8: Dra-I enzimi tanıma bölgesi	48
Çizelge 2.9: LCORL-2 bölgesini kesmek için kullanılan RFLP-PCR bileşenleri	49
Çizelge 3.1: LCORL-1 gen bölgesine ait gözlenen genotipler	52
Çizelge 3.2: LCORL-1 gen bölgesine ait allel frekansı hesaplamaları	52
Çizelge 3.3: LCORL-1 gen bölgesinde gözlenen ve beklenen heterozigotluk düzeyleri	53
Çizelge 3.4: LCORL-1 gen bölgesinin beklenen ve gözlenen genotip frekansları ve hesaplanan χ^2 değerleri	53
Çizelge 3.5: LCORL-2 gen bölgesine ait gözlenen genotipler	54
Çizelge 3.6: LCORL-2 gen bölgesine ait allel frekansı hesaplamaları	54

RESİMLER

Resim	1.1:	Erkek	ve	dişi	Sakız	koyunu
31						
Resim	1.2:	Erkek	ve	dişi	Pırlak	koyunu
33						
Resim	1.3:	Erkek	ve	dişi	Karayaka	koyunu
34						
Resim	1.4:	Erkek	ve	dişi	Kıvrırcık	koyunu
36						
Resim	1.5:	Erkek	ve	dişi	Morkaraman	koyunu
37						
Resim	1.6:	Erkek	ve	dişi	Akkaraman	koyunu
39						
Resim	2.1:			PCR		cihazı
41						
Resim	2.2:		Yatay	elektroferez		cihazı
42						
Resim	2.3:		Jel	görüntüleme		cihazı
42						
Resim	2.4:	LCORL-1	Gradient	PCR	Jel	görüntüsü
44						
Resim	2.5:	LCORL-2	Gradient	PCR	Jel	görüntüsü
44						
Resim	2.6:	LCORL-1	bölgesi		Jel	görüntüsü
47						
Resim	2.7:		LCORL-2		Jel	görüntüsü
47						
Resim	3.1:	LCORL-1	Gen	Bölgesi		Polimorfizmleri
50						
Resim	3.2:	LCORL-2	Gen	Bölgesi		Polimorfizmleri
51						

1.GİRİŞ

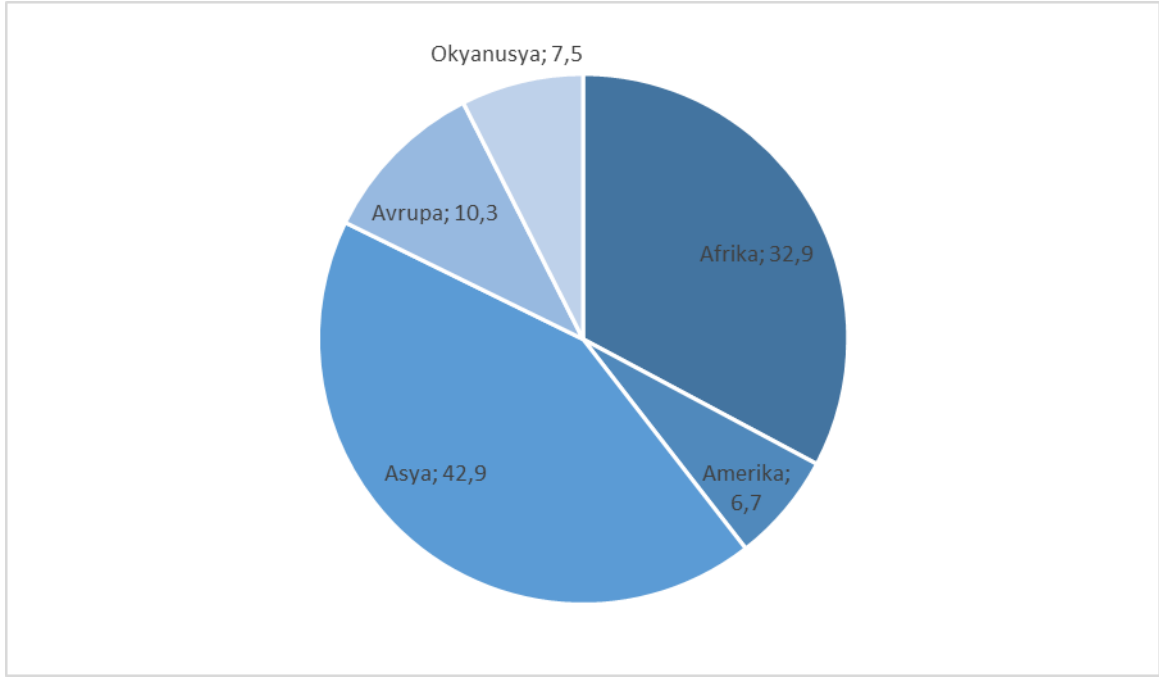
Koyun türünün uygarlığın gelişimine paralel olarak evcilleştirildiği ve günümüzde Dünya' nın bütün kıtalarına etinden, sütünden, lifinden ve derisinden ayrı ayrı yararlanılabilen çok değerli bir çiftlik hayvanı olarak dağıldığı görülmüştür. Bu dağılımın yaygınlaşmasında rol oynayan; koyunun verimsiz otlakları iyi değerlendirmesi sayesinde beslemesinin, hastalık ve soğuğa olan dayanıklılığı sayesinde ise bakımının kolay olması ve kendisinden elde edilen ürünlerin değerli olması gibi önemli faktörler olmuştur. En erken evcilleştirilen hayvanlardan biri olan evcil koyunun (Ovis Aries) yetiştiriciliği Dünya' da kıtalara, ülkelere ve hatta aynı ülkenin farklı bölgelerine göre farklı dağılımlar göstermiştir (Zeder, 2008).

Ülkemizin sahip olduğu gerek coğrafi yapı gerekse iklim koşulları nedeni ile ekonomik ve sosyal gelişmede hayvancılık sektörü önemli roller üstlenmiştir. Koyun yetiştiriciliği ise kırsal kesimde düşük yatırımla bile istihdam oluşturma, yapağı ve derisi ile sanayiye ham madde sağlama, et ve süt gibi önemli protein kaynakları ile besin maddesi sunma şeklindeki özellikleri ile geçmişten günümüze hem ülkemizde hem de dünyada hayvancılık sektörünün en önemli kollarından biri olmuştur (Şahin ve Ulutaş, 2010).

Dünya genelindeki koyun yetiştiriciliği FAOSTAT 2019 verileri ele alınarak incelendiğinde üretimde Asya kıtası % 50' lik payı ile dikkat çekerken Türkiye' nin de ilk 10 ülke arasında yer aldığı gözlenmektedir (İnt. Kay. 1).

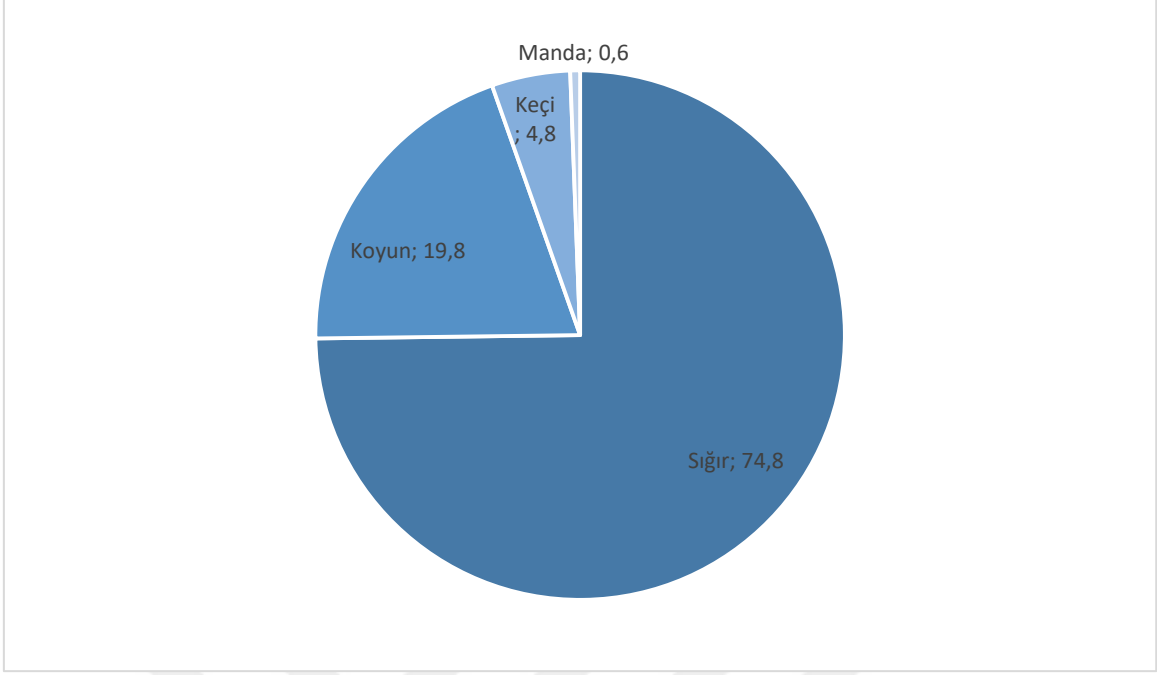
Giderek artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyaçlarının karşılanması gün geçtikçe daha da zorlaştığı dikkate alındığında hayvancılık sektörünün ne denli önemli bir yere sahip olduğu anlaşılmaktadır. Hayvancılık sektöründeki koyun varlığının verim potansiyellerinin arttırılmasını sağlamak amacıyla başta bakım, besleme ve alt yapı gibi

çeşitli faktörlerin iyileştirilmesi ile beraber melezleme ve ıslah gibi çalışmalarla da kalite ve kantite artışını sağlamak hedeflenmektedir (Doğru ve Özdemir, 2002).



Grafik 1.1: FAO 2019 Dünyada koyun varlığının kıtalara göre dağılımı.

TÜİK verilerine bakıldığında yalnızca 2021 yılı içinde Türkiye’ de üretilen 1 milyon 952 bin 38 ton toplam kırmızı etin % 74,8’ ini sığır eti, % 19,8’ ini koyun eti, % 4,8’ ini keçi eti ve % 0,6’ sını manda eti oluşturduğu görülmektedir. Ülkemizde kayıtlı bulunan 45 farklı ırkı ile genetik kaynak çeşitliliği en fazla olan çiftlik hayvanı koyunlardır. Bu farklılığı bazı ırkların döl, bazılarının yapağı, bazılarının ise et ve süt verimi bakımından gelişmiş olması oluşturmuştur. Her yerli koyun ırkı bölgesine bağlı olarak farklı ve değerli özelliklere sahiptir ve bu çeşitliliği sürdürebilmek adına ülkemizdeki yok olma tehdidi altındaki ırklar için koruma uygulamaları başlatılmıştır (İnt. Kay. 2).

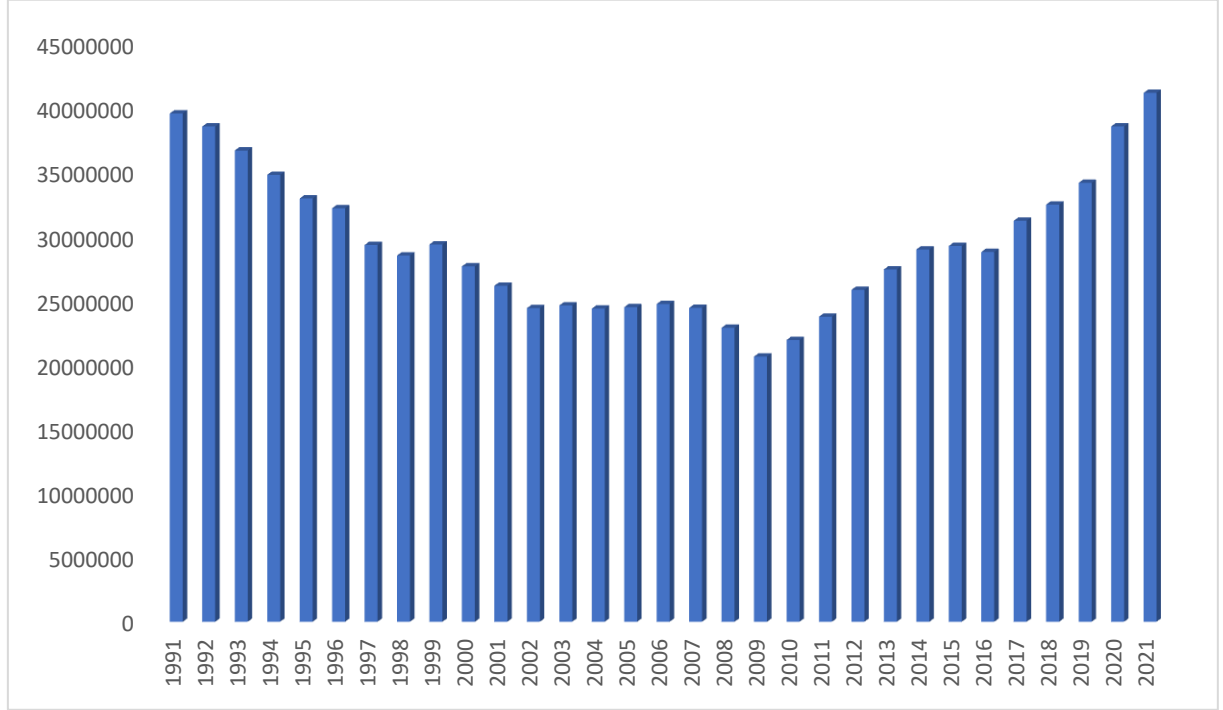


Grafik 1.2: TÜİK 2021 Türkiye’ de kırmızı et üretiminin türlere göre dağılımı.

Ülkemiz coğrafi özellikleri açısından çeşitli türlerde hayvanların yetiştirilmesine elverişli bir durumdadır. Özellikle Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri için koyun yetiştiriciliği önemli geçim ve gelir kaynağı olmuştur. Artan insan nüfusu göz önünde tutulduğunda hem yeterli ve dengeli beslenmenin devam ettirilebilmesi adına önemli bir besin kaynağı olması hem de hayvancılığa dayalı sanayi için gerekli hammadde temini açısından koyunculuk giderek artan bir önem arz etmektedir (HAYGEM, 2022).

Çiftlik hayvanlarının, geçmişten günümüze farklı amaçlar için kullanılmaya başlamasından itibaren, yetiştirildikleri bölgenin şartlarına göre birbirinden farklı çevre koşullarına adapte olabilme yetenekleri gelişmiştir. Bu adaptasyon sağlanırken aynı zamanda gen göçü, mutasyon ve damızlık seçimi gibi süreçlerde popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin artmasını sağlamıştır. Yetiştiricilerin damızlık için kullanacakları hayvanları belirli ve genellikle birbirine benzer özelliklerde seçmeleri ise bazı belirgin ırkların oluşmasını sağlarken tercih edilmeyen özellikleri taşıyan ırklarında yok olmasına neden olmuştur (Perera vd., 2005). Buna paralel uygulamalar Türkiye’ de

de görülmekte olup bir takım ticari endişelerle tercih edilen yabancı ırkların kontrolsüzce yapılan çiftleştirmeleri, Türkiye’ ye ait bazı yerli koyun ırklarının yok olmasına ve ırk sayısının giderek azalmasına sebebiyet vermiştir (Ertuğrul vd., 2009).



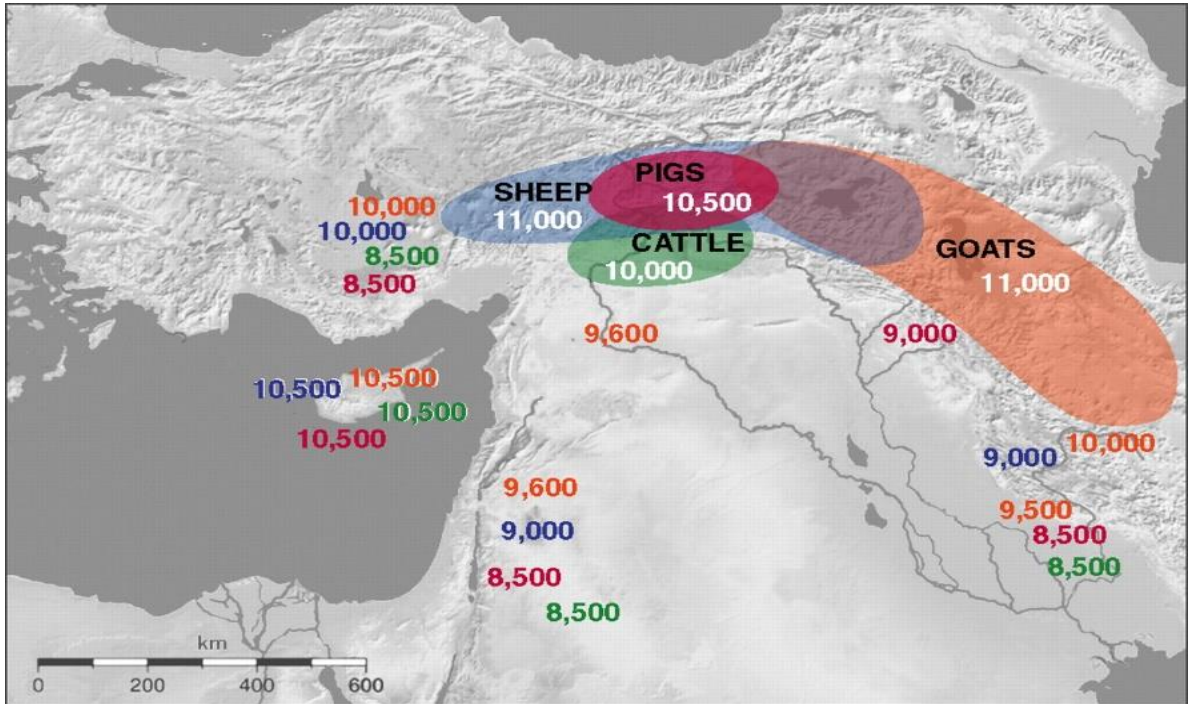
Grafik 1.3: TÜİK 2022 Türkiye’ de son 30 yılda koyun varlığının yıllara göre değişimi.

1.1.Koyunun Evcilleştirilmesi ve Önemi

Avcılık ve toplayıcılıkla besin temin edilen göçebe yaşam biçiminden yerleşik yaşam biçimine geçerken insanoğlu evcilleştirme ile tanışmıştır. Evcilleştirme; insan topluluklarının iklim ve çevre ile ilgili yaşanan çeşitli dalgalanmalardan etkilenmeyerek (aşırı yağış veya kuraklık gibi) gıda kaynaklarını koruyup devamlılığını sağlamalarına olanak sunmuştur. Bu sayede insanlar tüm enerji ve vakitlerini yiyecek bulmaya ayırmak zorunda kalmamış ve medeniyetlerin gelişebilmesi için yeni teknolojilerin bulunmasına olanak doğmuştur. Evcilleştirme ile tanışma yaklaşık olarak 11.000 yıl önce Neolitik çağda, Anadolu’ nun bir kısmının da bulunduğu Bereketli Hilal ismi ile adlandırılan topraklarda gerçekleşmiştir. Çiftlik hayvanlarının evcilleştirilmesinde adı geçen dört tür; koyun, keçi, sığır ve domuz olmakla beraber bunlardan ilk önce

evcilleştirilen ve evcilleşme zamanları birbirine en yakın olarak tahmin edilen iki tür koyun ve keçi olmuştur (Zeder, 2008).

Evcil koyun için tahmin edilen çok sayıda atasal yaban türü ve alt türlerin bulunduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni gerek verim yönleri gerekse dış yapı özellikleri açısından birbirinden farklı sayısız koyun ırkının var olmasından kaynaklanmaktadır. Yüksek derecede polimorfik yapıda olan Ovis cinsi çeşitli Avrasya yaban koyunlarının da evcil koyunun atası olabileceği hatta bazı ırkların oluşmasına katkıda bulunmuş olabileceği ileri sürülmüştür (Reed, 1960). Bu yaban koyunlarının farklı kromozom yapılarına sahip olmalarına rağmen kendi aralarında çiftleşmeleri sonucu fertil döllere verebiliyor olmaları evcil koyunun taksonomisini iyice karmaşık bir hale getirmiştir (Geist, 1991). Muflon (*Ovis Musimon* veya *Ovis Orientalis*), Urial (*Ovis Vignei*) ve Argali (*Ovis Ammon*) gibi bazı yabani koyun türlerinin modern zamandaki evcil koyunun atası olabileceği veya belirli ırkların oluşmasında katkılarının olmuş olabileceği tahminlerinde bulunulmuştur (Ryder, 1984).



Şekil 1.1: Bereketli Hilal ismi ile anılan topraklar.

Şekil 1’ de gösterilen renkli alanlar Bereketli Hilal ismi ile adlandırılan bölgeyi tarihler ise evcilleştirmenin yapıldığı tahmini yılları belirtmektedir. Renkli alanın dışındaki tarihler ise söz konusu hayvanın (turuncu, keçi; mavi, koyun; yeşil, sığır; pembe, domuz) bir bölgede ilk kez görüldüğü tahmin edilen yılları göstermektedir (Zeder, 2008).

Evcil koyun süt ve eti ile yiyecek, deri ve yünü ile giyecek ve çeşitli kullanım eşyası kaynağı olarak Neolitik çağdan bu yana pastoral toplumlarda önemli roller oynamıştır (Chen vd., 2006). Ülkemizde de doğu, güneydoğu ve orta bölgelerinin çoğunlukla kurak veya yarı kurak iklim şartlarıyla beraber geniş çaplı doğal bozkır ve meralara sahip olması koyun yetiştiriciliğinin beslenme ihtiyaçlarını karşılamada önemli yer tutmasını sağlamıştır. Ayrıca ülkemizin batı bölgelerinde tarım veriminin fazla olmasına rağmen buralarda da koyun yetiştiriciliği geçmişten günümüze tercih edilmeye devam etmiştir (Yalçın, 1986).

Çizelge 1.1: Evcil koyun sınıflandırılması.

Alem	Animals (Hayvanlar)
Şube	Chordata (İskeletliler)
Alt şube	Vertebrata (Omurgalılar)
Sınıf	Mamalia (Memeliler)
Takım	Ungulata (Toynaklılar)
Alt takım	Artiodactyla (Çift tırnaklılar)
Aile	Bovidae (Boynuzlular)
Alt aile	Caprinae (Boş boynuzlular)
Cins	Ovis
Tür	Aries

Canlılar geleneksel yöntemler ve moleküler veriler bir arada kullanılarak sınıflandırılmaktadır. Çizelge 1’ de verilen Ovis Aries’ e ait taksonomik sınıflandırılmadır (Geist, 1991).

Koyun yetiştiriciliği kendi içinde et, süt yapıtı gibi pek çok üretim yönüne sahiptir ve koyunun yetiştirildiğı çevredeki tüketim alışkanlıklarına bağılı olarak pazar talebi değışmekte olduğı için elde edilen verimlerde bu yönlerde farklılıklar göstermiştir (Ertuğrul vd., 2009).

Bir canlıdan elde edilecek verimi belirleyen birden çok karakter özelliğı bulunmaktadır. Canlının vücut ağırlığında ve boyutlarında zaman içinde meydana gelen artış olarak adlandırılan büyüme kalıtsal bir özellik olmakla beraber, bu özellik bakımından türler, ırklar ve bireylerin farklılık gösterdiği bildirilmektedir (Emsen ve Köyceyiz, 2004). Koyun yetiştiriciliğinde farklı bölgelerde bulunan farklı ırkların verim özellikleri değışkenlik göstermekle beraber vücut büyüklüğüne, beden uzunluğuna ve cidago yüksekliğine dikkat edilerek iskelet çerçeve boyutunun büyümesi ile birlikte canlı ağırlığın artacağı ve buna bağılı olarak her bir hayvandan elde edilecek olan et miktarında artış sağlanacağı bildirilmiştir (Atasoy vd., 2003).

Ülkemizde bulunan yerli koyunların ırk, tip, hat ve yerel tipleri ile ilgili bilgiler yeterli olmayıp farklı genotiplerin bulunma miktarları, dağılımları ve taşıdığı özellikler yeterince bilinmemektedir (Ertuğrul vd., 2009). Çiftlik hayvanlarından elde edilen verimi doğrudan etkileyen karakter özellikleri çok fazla sayıdaki genin kontrolü altında olup, yetiştiriciler tarafından tercih edilecek verimli karakter özelliklerine sahip fenotipteki hayvanların oluşturulabilmesi için bu karakterleri etkileyen genlerin tespit edilerek genotipte bir araya getirilmesi gerekmektedir (Doğru ve Özdemir, 2002).

1.2. Irkların Morfolojik ve Fizyolojik Karakterizasyonu

Bir bireyin sahip olduğı genler kendisinin genetik bilgileridir ve bu bilgilerin toplamı genetik çeşitlilik olarak adlandırılır. Tür içinde bulunan tüm bireyler tek yumurta ikizleri hariç genetik bilgileri bakımından birbirlerinden belli oranda farklılıklar

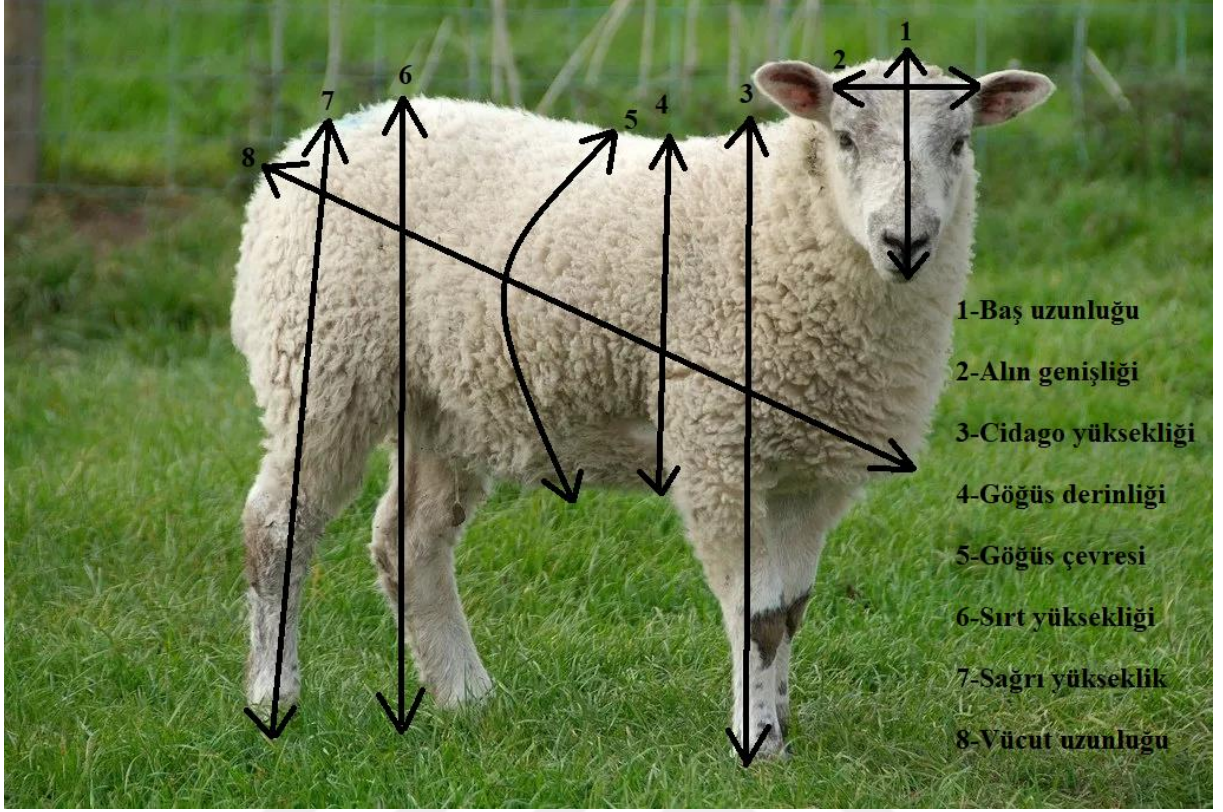
göstermektedir. Popölasyonlar arası akrabalık ilişkilerinin artması bireyler arasındaki değişimlerin azalmasına neden olurken tam tersine akrabalık ilişkileri azaldığında ise hem popölasyon hem de bireyler arasındaki farklılıkların arttığı görölmüştür. Bireyler arası farklılıkların ortaya çıkmasını sağlayan, bireylerin belirli bir karakteri etkileyen genlerin farklı allellere veya farklı gen kombinasyonlarına sahip olmalarıdır. Bu farklılıklar sayesinde farklı popölasyonların bulundukları çevredeki hastalık, kuraklık, soğuk ve açlık gibi kötü şartlara adaptasyon sağlamaları kolaylaşıp uyum yeteneklerinin artması sağlanmıştır (Kırıkçı, 2017).

Bir türün yaşadığı çevrede değişiklikler olduğunda hayatta kalabilmesi için fizyolojisinde ve anatomisinde birtakım değişimler gerçekleşir. Bu değişimler sayesinde çevre şartlarına adaptasyonun hızlanması ve çeşitli hastalıklarla mücadele edilebilmesi; popölasyonlar içinde büyük genetik çeşitliliğe sahip olan türlerin, en uyumlu allel varyasyonlarını taşıyıp uzun süre yaşamlarını devam ettirmesine olanak sağlamıştır. Ancak evcilleştirilen türler arasındaki genetik çeşitlilik mevcut üretim ihtiyaçlarının karşılanmasına göre değişen tarımsal faaliyetler, ırk yenileme, melezleme ve damızlık seçimi gibi faktörlerden etkilenmiştir (Harley vd., 2005).

Evcilleştirme yapılırken hayvan türlerinin farklı coğrafi yapıya sahip yerlerde evcilleştirilmesi ve insanların damızlıkta farklı kullanım amaçlarına göre hayvanları kullanması tüm türler içinde bugünkü ırk çeşitliliğinin oluşmasını sağlamıştır. Irk; belli bir tür içerisindeki ortak karakter özelliklerine sahip olup, bu karakter özelliklerini kendinden sonraki nesillere kalıtsal olarak geçirebilen hayvan gruplarını adlandırmak için kullanılan terimdir (Başpınar ve Batmaz, 1995). Başka bir deyişle ise bir türün içinde bulunan bir grup hayvan bu türün diğer üyelerinden farklı ve özgün çeşitli özellikler sergileyip bunları yavrularında da gösteriyor ise artık bu grup bir ırk olarak tanımlanmıştır (Soysal ve Özkan, 2004).

İrkları karakterize eden yani o ırka ait bireylerin diğer bireylerden ayrılmasını sağlayan karakter özelliklerine ırk karakterleri denir ve bu ırk karakterleri kendi içerisinde fizyolojik ve morfolojik ırk karakterleri olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Morfolojik ırk karakterleri birkaç çift genin etkisi altında olan, fenotipik farklılıklar dediğimiz renk ve şekil ile ilgili özellikler olup, varyasyon devamlı olamayan aynı zamanda çevre koşulları tarafından neredeyse hiç etkilenmeyen karakter özellikleridir. Bu yönüyle ırkları karakterize etmede morfolojik ırk karakterleri gerçek anlamda önem taşımaktadır (Başpınar ve Batmaz, 1995).

Fizyolojik ırk karakterleri ise küçük etkilere sahip yüzlerce gen çiftinin etkisi altında olan, canlının doğum ağırlığını, büyüme hızını, canlı ağırlığını, günlük vereceği süt miktarını, bu sütte bulunan protein miktarını, yapağısının kalitesi gibi daha birçok ekonomik değere sahip karakter özelliklerini belirleyici olması açısından geliştirilmesi için üzerinde önemle durulan ve çevreden büyük ölçüde etkilenen karakter özellikleridir (Başpınar ve Batmaz, 1995).



Şekil 1.2: Koyunun biyometrik ölçüm noktaları.

Biyometrik ölçümler ile hayvanlardaki çeşitli özellikleri değerlendirmek, ırk özelliklerinin beslenme düzeyi ve çevresel faktörlerden ne kadar etkilendiğini anlamak mümkün olmuştur. Her bireyin vücut ölçüleri; ırk, cinsiyet, yaş, verim tipi, ırklara ait morfolojik karakter, ırk standartları ve gelişme yeteneği gibi faktörlerden etkilenecek farklılıklar göstermiştir. Özellikle çiftlik hayvanı türlerinde vücut ölçümleri alınırken yaygın olarak kullanılan parametreler; kafa uzunluğu, alın genişliği, vücut uzunluğu, cidago yüksekliği, sağrı yüksekliği, göğüs çevresi, göğüs genişliği, incik çevresi, kuyruk uzunluğu ve genişliğidir (Eliçin ve Okuyan, 1975).

İrk karakterlerini etkileyen genlerdeki çeşitlilik polimorfizmler ve mikrosatellit markörler gibi tekniklerle analiz edilebilmektedir. Genetik çeşitliliğin göstergesi olarak genellikle dikkate alınan ölçütler polimorfizmler ve heterozigotluk düzeyi olmuştur. Bir tür içindeki bireylerin farklılaşarak ırkları oluşturmasını sağlayan genetik çeşitlilikten sorumlu olan mekanizmaların biri polimorfizmdir. Polimorfizm çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler olarak kendini gösterir

ve bu bir genin allelleri ya da bir kromozomun homologlarıyla birleşen çeşitli fenotipik formlarının olması yani bir lokus içerisinde bir allelden fazlasının bulunmasına olanak tanır (Tautz, 1993). Heterozigotluk düzeyi ise bir popülasyon içerisindeki genetik varyasyonun ölçüsüdür. Adaptasyon süreci ve doğal seleksiyonun uzun süre devam etmesi herhangi bir ırk için yüksek heterozigotluk düzeylerinin hesaplanmasına neden olabilir ayrıca bu durum ırkların birbirleriyle veya farklı popülasyonlarla geçmişte meydana gelen karışımından da kaynaklanabilmektedir. Heterozigot lokus düzeyinin düşük olması genetik potansiyelin kayba uğradığı anlamına gelir (Kotze ve Muller, 1994).

1.3. Islah Çalışmaları

Bulundukları ortamdaki sert çevresel şartlara adapte olabilmış, yetersiz beslenme ve hastalık durumlarında bile verimli olabilen yerli ırklar tanımlanmakta ve bu özellikler araştırmalar açısından büyük önem taşımaktadır (Maijala, 1983). Irklar arasındaki farklılıkları verimli bir şekilde kullanmak ve bu farklılıkların yine bir önceki nesilden daha verimli olacak bireyler oluşturacak şekilde çaprazlanmasını sağlamak gereklilik haline gelmiştir fakat geçmişten günümüze gelişmekte olan ülkelerde verimi artırma kaygısı ile yapılan çeşitli melezlemeler ve temeli olmayan ıslah programları birçok yerli ırkın yok olma tehdidi altında kalmasına neden olmuştur (Salako ve Ngere, 2002).

Gün geçtikçe artan moleküler genetik yöntemlerin kullanımı, hayvanlarda genetik yapının tanımlanmasına ve genetik kaynak bakımından değerli durumda olan popülasyonların tanımlanıp koruma altına alınmasına olanak sağlamıştır. DNA düzeyinde yapılan moleküler genetik yöntemler, çeşitliliğin etkili şekilde ortaya konabilmesine imkan tanımış ve bu sayede asıl amacı var olan çeşitliliğin en az kayıpla gelecek nesillere aktarılması olan koruma faaliyetlerinin etkinliğini test edilebilir kılmıştır (Akyüz, 2017). Genlerin moleküler düzeyde karakterizasyonu ile kromozom bölgeleri tanımlanmış, moleküler belirteçler ile belirteçlerin olası allelleri bu genomik

bölgenin polimorfizmlerini ortaya koymayı sağlamış ve bu moleküler ıslah programlarının uygulanmasına imkan tanımıştır. Gerek hayvanlarda gerekse bu bilginin karşılaştırmalı genom çalışmaları ile insanlara aktararak alternatif teşhis ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde öncülük etmiştir (Fatima 2006; Behnke vd., 2017).

Günümüzde hayvan ıslahına yönelik uygulamalarda kullanılan genetik teknik ve analiz yöntemlerindeki teknolojik gelişmeler sayesinde çiftlik hayvanlarında verime dayalı varyasyonu etkileyen kantitatif karakterler üzerine etkili gen bölgelerinin ve majör genlerin belirlenip moleküler düzeyde incelenebilmesi sağlanmıştır. Markör destekli seleksiyon (MAS: Marker Asisted Selection) olarak adlandırılan yöntem ile fenotipe etkili olan bu gen ve gen bölgelerinin önceden biliniyor olması seleksiyon ile sağlanacak genetik hız ve verimin artmasına olanak sunmuştur (Öner ve Elmacı, 2007).

Markör destekli seleksiyonun en önemli faydası küçük bir popülasyondan elde edilen bilgilerin, çok daha fazla sermaye ve zaman gerektirecek fenotip ölçümü gibi işlere gerek kalmadan büyük popülasyonlara uygulanmasını sağlamasıdır. Ancak verim özelliklerinin birden fazla genin birlikte etkisi altında olması, kantitatif karakter lokusları (QTL) denilen bu özellikleri kontrol eden kromozom bölgelerinin tanımlanmasını gerektirmiştir. QTL haritalanması klasik Mendel dağılımına uymayan kantitatif karakterlerin analizini daha farklı ve karmaşık popülasyon dizaynları ve kompleks data analiz metotları kullanılarak gerçekleştirilmektedir. (Yang vd., 2008).

QTL haritalamasında amaç seçilen, olması istenilen bir verim özelliğini etkileyen genlerin tespiti olabileceği gibi olması istenmeyen, bireyde çeşitli bozukluklara neden olabilecek gen veya genlerin tespit edilmesi de olabilmektedir (Georges, 2007). QTL haritalaması bir fenotip özellik ile bir genomik bölge arasında bağlantı olup olmadığını test edebilmek için iki ayrı veri kümesi; rekombinant bir çaprazın soyundan elde edilen genetik harita ve bu çaprazın soyuyla devam eden ölçülebilir fenotipik değerler gerektirmektedir. Bu veri kümeleri ile daha sonra oluşturulan nedensel gen pencereleri

daraltılarak fenotip ile ilişkisi olan en önemli gen lokusları tanımlanmaktadır (Behnke vd., 2017). Markör destekli seleksiyon uygulamaları yapılırken istenilen fenotipten sorumlu genin bulunması ile QTL tespitinden direkt olarak yararlanılabilmektedir (Nuzhdin vd., 2007).

QTL tespiti sonucunda incelenen karakteri etkilediği belirlenen gen ya da genler daha önceden ismi ve işlevi bilinmekte olan bir gen olabilir. Bu gen veya genlerin dizilimi ve işlevi bilindiği halde incelenen yeni karakteri de etkilediğinin daha önceden bilinmemesi; hücre içindeki proteinlerin yakın etkilerinin biliniyor olmasına rağmen organizma üzerindeki farklı sistemlere olan uzak etkilerinin de ayrıca değerlendirilmesi gerektiğindendir. QTL haritalamasında kullanılan metotların geliştirilmesi ile birlikte tespiti artan genomik belirteçler sayesinde markör destekli seleksiyonda gittikçe daha güvenilir sonuçlar vermiştir (Wang vd.,2010; Han vd., 2012).

QTL verilerinin genomik anlamda faydalı hale gelmeleri için bağlantı haritası konumlarının ilgili genom koordinatlarına aktarılması gerekmiştir. Gen kümelerinin mikrodizi ekspresyon analizi için uygun hale getirilmesi ve yüksek yoğunluklu SNP dizilerinin oluşturulması ile genomlar ve özellikler arasında bağlantı kurmanın tek yolu QTL analizi olmaktan çıkmış ve genom boyu ilişkilendirme çalışmaları verileri dahil edilmeye başlamıştır (Hu vd., 2010).

GWAS (Genom Wide Association Studies) da genom-özellik ilişkileri açısından QTL gibi analizlere değer katar. QTL verileri bağlantı haritasına dayalı iken GWAS verileri genom haritasına dayalı oluşturulur yani her tür için mevcut olan genom yapısının en güncel hali kullanılarak genom haritaları oluşturulur. Her iki veri türünü eş zamanlı görüntüleyebilmek için genom haritaları, harita bağlantıları görsel olarak karşılaştırılabilecek şekilde aynı uzunluk tabanına sahip olacak şekilde ölçeklendirilip ya da harita bilgilerini aktarmak için aralarına bağlantı işaretleri konulup bağlantı haritaları ile hizalanır (Hu vd., 2013).

Büyüme gibi biyolojik açıdan karmaşık bir özelliğin genetik temellerinin anlaşılmasına aday genleri tanımlayabildikleri için yeni QTL bölgelerinin ve aday genlerin tespiti katkıda bulunmuştur. Koyunlarda büyüme hızı ve vücut ağırlığının ekonomik açıdan önemli, yön seçimine yanıt veren orta düzeyde genetik kontrol altında olan bir özellik olması ve kapsamlı arka plan bilgisine rağmen büyüme için az sayıda QTL çalışması rapor edilmiş ve bu çalışmalarda kısmi genom taramaları ile sınırlı kalmıştır (Safari vd., 2005).

Karkas ağırlığı ve et kalitesi gibi özellikler adına genomik seleksiyonun en önemli faydası; değerli seçim adaylarının test edilmek için feda edilmek zorunda kalınmaması, genomik tahmini üreme değerlerinin yaşamın erken dönemlerinden itibaren elde edilmiş olmasıdır. Genomik tahminler endüstriyi temsil edebilecek durumda olan bir grup birey içinde geliştirilip daha sonra genel koyun popülasyonlarına uygulanmış ve bu üretim aralıklarının önemli miktarda kısaltılmasını sağlamıştır. Canlı ağırlık ve karkas ağırlığını arttıran büyüme özelliklerinin seleksiyon yoluyla iyileştirilmesi karlılığın önemli bir itici gücü olmuştur. Tüketici kabulünü sürdürecektir yüksek kaliteli et sağlamak kas içi yağ, omega-3 içeriği ve kesme kuvveti gibi çeşitli karkas kalite kriterlerine bağlıdır. Giderek artan miktarda hayvan türünde uygulanan genomik seleksiyon sayesinde elde edilen fenotipik bilgiler ve tahmini üreme değerleri genç yaştaki seleksiyon adaylarında nesil aralıklarını kısaltmak için kullanılmıştır. Böylelikle yetişkin canlı vücut ağırlığı, karkas bileşimi, et kalitesi gibi sonraki yaşamda ölçülecek değerler için yapıcı yaklaşımlarda bulunma ve seleksiyon doğruluğunu artırma imkanı doğmuştur (Daetwyler vd., 2010).

Vücut ağırlığı bir hayvandan elde edilecek et miktarı için önemli bir özelliktir ve cidago yüksekliği ile paralel olarak artmaktadır. Sığırlarda üretim özellikleri açısından önemli çok sayıda QTL bildirilmiş olmasına rağmen koyunlar için çok az sayıda QTL çalışmasının rapor edildiği tespit edilmiştir. Yapılan GWAS çalışmaları sonucunda küçükbaşlar için bildirilen 801 QTL arasında çok az sayıda cidago yüksekliğini ilgilendiren bölge söz konusu olduğu görülmüştür. Koyunlar üzerinde yapılan QTL

alışmalarının çoğunluğu, büyük QTL güven aralıkları isteyen, seyrek mikro uydu işaretçilerine dayanmakta olup bu durumda hedeflenen nicel özellik ile ilgili gen lokuslarını tanımlamayı büyük ölçüde zorlaştırdığı gözlenmiştir. Koyunlarda az sayıda olan büyüme ve et üretimi özellikleri ile ilgili GWAS çalışmalarından biri kromozom 21 üzerinde vücut ağırlığı ile ilgili bir QTL bildirmiştir (Jonas vd., 2010).

Farklı türlerde cidago yüksekliği, vücut ağırlığı ve et verimi ile ilişkili olarak tanımlanan aday genlerin koyun genomunda da benzer süreçlerle ilişkili olabileceği tahmin edilmiştir. Doğada farklı hayvan ve bitkilerde bulunan benzer genler genel olarak aynı makroskobik işlevle ama mikroskopik olarak farklı düzeylerde görülmüştür. Yapılan alışmalar ile farklı türlerin erken gelişimlerini kontrol etmek için ortak genleri hangi hücresel süreçlere bağılı olarak modüle ettiğı ve bu aday genlerin farklı türler üzerinde hangi ortak özelliklere etki ettiğı belirlenmeye çalışılmıştır (Zhang vd., 2013).

1.4. LCORL Geni

LCORL (ligand bağımlı nükleer reseptör korepressör benzeri) geninin, DNA bağlanması için korunmuş sarmal-dönüş motifi kullanan bir transkripsiyon faktörünü kodlayarak; gen ekspresyonunu, hücre döngülerini etkileyen çeşitli hücresel biyolojik süreçlerde yer aldığı bildirilmiştir (Ebrahimi vd., 2017).

LCORL geni, spermatogenezde işlev gördüğü bilinen bir transkripsiyon faktörünü kodlamakta olup bu gen insanlarda yapılan geniş ölçekli GWAS alışmaları sonucunda yetişkin insan boyu ile ilişkilendirilmiştir. Boyla ilgili birbirinden farklı birçok bağımsız lokus aktarılmıştır. Bunlar; DNA replikasyonunu, hücrelerin içindeki sinyal iletimini, hücrenin bölünmesi ile beraber mezoderm ve iskelet gelişimini de kontrol eden önemli genler olmuştur. Boy asıl olarak klasik poligenik yani birden çok genin etkisi altında olan bir özellik olsa da LCORL geni üzerindeki polimorfizmlerin yetişkin insan boyu

ölçümleri ve iskelet çerçeve boyutu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (Nishimura vd., 2012).

Yetişkin insan boyunu etkilediği düşünülen her bir lokus, fenotipik varyansın ancak % 0,3 - % 0,5 gibi küçük bir kısmını açıklayabilmektedir ve bu genetik varyasyonun % 0,625' inden bile daha azına tekabül etmektedir. Genom çapında tanımlanan 423 lokustaki anlamlı SNP' ler insanda yetişkin boy uzunluğu özelliğindeki kalıtsallığın ancak % 16' sını açıklayabilmiştir (Wood vd., 2014). İnsanla kıyaslandığında evcil hayvanlarda boy ile ilgili genetik mimari çok daha basittir. Örneğin sığırlarda tanımlanan PLAG1 ve NCAPG-LCORL dahil olmak üzere birkaç ana lokus varyansın yaklaşık yarısını, atlarda ise sadece LCORL lokusu fenotipik varyansın German-Warmblood ırkı için % 18' ini, Franches-Montagnes ırkı için % 11' ini açıklamıştır (Signer-Hasler vd., 2012; Tetens vd., 2013; Saatchi vd., 2014). Ayrıca Makvandi-Nejad vd., (2012) 16 ırka ait toplam 48 at üzerinde yaptıkları çalışmada tanımladıkları dört adet lokusun boyut varyansının % 83' ünü açıkladığını bildirmişlerdir. Büyük beyaz domuzlar ve yaban domuzu çaprazlandırılarak yürütülen bir çalışmada ise yalnızca iki lokusun (PLAG1 ve LCORL) vücut uzunluğundaki varyansın % 18,4' ünü tanımladığını bildirilmiştir (Rubin vd., 2012).

Bulunduğu çevre şartlarına adaptasyonunu kolaylaştıracak olumlu bir özelliğin üzerinde etkisi olan lokuslar evcil hayvanlarda kuvvetli bir şekilde seçilime uğrama ve sabitlenme eğiliminde olmuştur. Belli bir özelliğin seçilimine etki eden nedensel değişkenlerin tanımlanması, bir lokusun evcil hayvanlarda etki boyutunun neden büyük olduğunu açıklayabileceği bildirilmiştir (Wood vd., 2014).

Genom boyunca ilişki analizi (GWAS) çalışmalarında, kompleks bozukluklar, hastalıklar ve çeşitli özellikler için pek çok yeni lokus tanımlanırken, hayvanlarda iskelet büyümesi ve iskelet yüksekliği, cidago yüksekliği, ağırlık ve karkas

kompozisyon özellikleri ve performans ve konformasyon özellikleri ile LCORL gen polimorfizmi arasındaki ilişkiler belirtilmiştir (Tetens vd., 2013).

Çiftlik hayvanları türlerinde boy yüksekliğinin insanlarla karşılaştırıldığında daha büyük etkiye sahip olan daha az gen tarafından kontrol edildiği aktarılmıştır. LCORL lokusunun; koyunlar, atlar, domuzlar ve köpekler de dahil olmak üzere çeşitli hayvan türleri üzerinde iskelet boyutu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Charty vd., 2012).

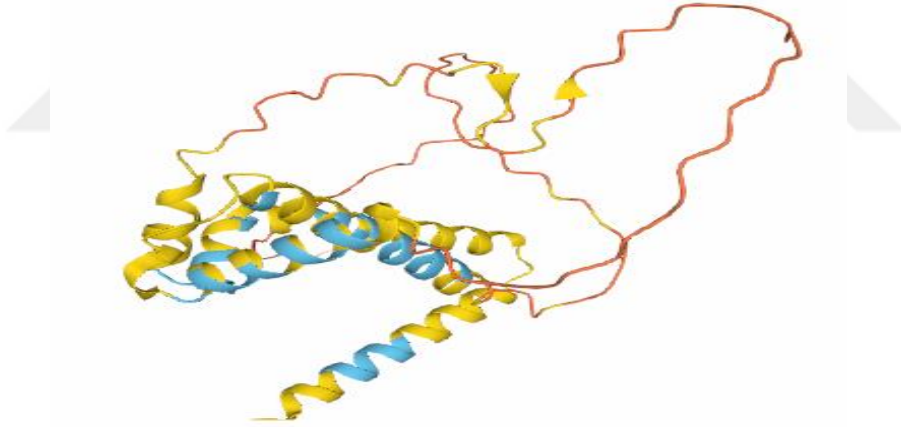
İskelet çerçeve boyutu, cidago yüksekliği gibi vücut ölçüleri çiftlik hayvanları için değerli parametrelerdir ve sınıflandırılmaları açısından önem taşımaktadır. Sığırlarda LCORL genomik lokusunun komşusu olan NCAPG geninin de aracılığı ile boy ve büyüme ile ilgili özelliklerde işlevsel ve güçlü bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Zhang vd., 2016).

LCORL lokusunun koyunlarda OAR6 üzerindeki hizalanması diğer memeli türlerindeki hizalanma ile yüksek derecede hem yapısal hem de fonksiyonel korunmayı düşündürecek bir dizi benzerliği göstermiştir. Bu korunduğu düşünülen bölgede bulunan ortolog genlerin, ortak bir memeli atadan türleştikten sonrada korunmuş olduğunu göstermektedir. Diğer birçok memeli türünde de bu bölgede geniş bir alanda vücut boyutu ile ilgili özellik bulunduğundan, bölgedeki tek bir genin türe özgü mutasyonlar sonucu işlev kaybı veya kazanımı ile altta yatan bir biyolojik mekanizmanın söz konusu olduğu düşünülmektedir. Bu bölge aynı zamanda doğumdan önceki gelişimsel süreçlerde yer alan fetal büyümede ve yetişkin üzerinde de devam eden yavrulama kolaylığı gibi dolaylı yoldan vücut büyüklüğü ile ilgili olan özellikler üzerine de etkisini göstermiştir (Olsen vd., 2008).

Atlarda 3. kromozom üzerinde bulunan LCORL lokusunun bir tek nükleotid polimorfizminin, gen ekspresyonunu ve hücre döngülerini etkileyen bir C-terminal

bağlayıcı protein1 (CTBP1) ile etkileşimi gösterilmiş, büyümedeki arjinin metabolizmasıyla bağlantısı ile QTL bölgesi olarak tanımlanmıştır (Vinayagam vd., 2011; Dorman vd., 2012; Han vd., 2017). LCORL genindeki polimorfizmin atlardaki vücut büyüklüğünü öngörmek için potansiyeli oldukça yüksek bir gösterge olabileceği aktarılmıştır (Metzger vd., 2013). Ayrıca atta vücut boyutunun yanı sıra baş, boyun, çerçeve ve gelişim konformasyon özellikleri için de LCORL geninde QTL bildirilmiştir (Schröder, 2010).

Sığırlarda yapılan GWAS çalışmalarında; doğum ağırlığı, sütten kesme ve canlı ağırlık, peri-pubertal kilo alımı, vücut uzunluğu, karkas ağırlığı, vücut büyüklüğünde ve çerçeve boyutunda artış gibi önemli büyüme parametreleri için NCAPG ve LCORL bölgeleri ilişkilendirilmiştir (Lindholm-Perry vd., 2013).

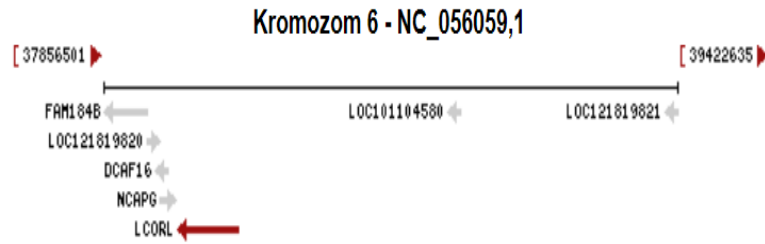


Şekil 1.3: LCORL geni üçüncül yapısı.

LCORL ligand bağımlı bir nükleer reseptör korepressör benzeri bir proteini kodlar. Bu proteinin amino-terminal bölgesi birçok memeli türünde, bir kısmı saf bir trinükleotid tekrarı tarafından kodlanan polialenin yolu içerir ve bu tip tekrarların, çoğunlukla farklılaşan protein fonksiyonuna ve hastalığa neden olan polimorfik varyasyonlara karşı duyarlı olduğu aynı zamanda türe özgü morfolojik farklılaşmalara da katkıda bulunabilecek doğal seçim mekanizmalarına da tabi olduğu bilinmektedir. Bu bölgenin

polimorfik tekrar genişlemeleri ve daralmaları içerdiği insan LCORL lokusunun ifade dizi analizi yapıldığında gösterilmiştir ancak koyun LCORL lokusunun sekanslanması ve polimorfizmlerin nedensel mutasyonlarının tanımlanması için yapılan çalışmalar devam etmektedir (Mularoni vd., 2010).

LCORL koyunlarda OAR6' da 38 055 164 ile 38 222 951 arasında yer almaktadır. LCORL lokusunun intrauterin dönemdeki büyüme, doğum ağırlığı, doğum esnasındaki uzunluk gibi parametrelerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. LCORL deki varyasyon bebeklik dönemindeki büyüme hızı ile de ilişkilendirilmiştir böylece lokusun büyüme üzerinde doğrudan, yetişkin çerçeve boyutuna ise genel olarak bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Horikoshi vd., 2013).



Şekil 1.4: Ovis Aries LCORL lokusu (İnt. Kay. 3).

LCORL lokusunun daha önce altı memeli türünde (insan, domuz, sığır, at, köpek, keçi) boy ile ilişkili olduğunu gösterecek çalışmalar yapılmıştır. Bu sebeple söz konusu lokusun koyun türünde de boy ile ilgili olması beklenilse de LCORL geninin invivo işlevi ve buradaki genetik varyasyonun boy ve vücut boyutunun belirlenmesinde nasıl bir moleküler mekanizma ile işlediği saptanamamıştır (Plasis vd., 2019).

NCAPG ve LCORL genlerinde bulunan genetik belirteçler daha önce tavuk karkas ağırlığı ile ilgili çeşitli QTL ve GWAS çalışmalarında da yer almıştır (Lie vd., 2013). NCAPG ve LCORL lokusları içinde veya yakınlarında tanımlanan doğum ağırlığı, vücut uzunluğu ve büyümesi ile ilgili çok sayıda QTL vardır. Boyut ve büyüme ile ilgili

fenotiplerin yanı sıra bu bölgenin derialtı yağına ve kas büyümesine, lipid birikimi yoluyla potansiyel bir katkısının bulunduğu bildirilmiştir (McClure vd., 2010).

Vücut boyutu ile en güçlü ilişkiler genellikle DCAF16, NCAPG ve LCORL geninin 3'-ucunu barındıran bir bölgede görülmüş, LCORL geninin in vivo işlevi tam olarak tespit edilemediği için vücut uzunluğunu nasıl etkilediğine dair moleküler mekanizma anlaşılamamıştır. LCORL genin 3'-ucunda en az dört farklı eksonun alternatif kullanımıyla çoğunlukla farklılık gösteren birkaç farklı transkript izoformunu kodladığı bildirilmiştir. Bunlardan biri yaklaşık 5 kb uzunluğundadır ve 1600' den fazla amino asidi kodladığı tahmin edilmektedir. Bu dev eksonda tek bir nükleotit eklenmesi (XM_022416410.1: c.3661_3662_insA)' nin köpeklerde boyutu arttırdığı öne sürülmüştür. Bu eksondaki çerçeve değiştiren başka bir tek nükleotit eklenmesi varyantı, büyük ve küçük ırklar arasındaki en güçlü farklılaşmayı gösterdiği; köpeklerde ve keçilerde homolog eksonlara iki bağımsız tek nükleotit eklenmesinin büyük vücut boyutuyla ilişkisi bildirilmiştir. Ancak köpeklerde insersiyonun nedenselliğine dair işlevsel bir doğrulama yoktur ve bu LCORL geninin varyantının vücut boyutunda bir artışa yol açabileceği fonksiyonel mekanizmayı analiz etmek için herhangi bir girişimde bulunulmamıştır (Plassais vd., 2019; Signer-Hasler vd., 2019).

1.5. Çalışmada Kullanılan Koyun Irkları

- 30 baş Sakız
- 30 baş Pırlak
- 30 baş Karayaka
- 30 baş Kıvırcık
- 30 baş Morkaraman
- 20 baş Akkaraman koyun ırkı ile çalışılmıştır.

1.5.1.Sakız



♂



♀

Resim 1.1: Erkek ve dişi Sakız koyunu (HAYGEM, 2022).

İsmi Ege denizindeki Sakız Adasından alan bu koyun ırkı Çeşme koyunu olarak da bilinmektedir. Ülkemizde Ege Denizi kıyı şeridi boyunca rastlanan bu ırk İzmir ve Aydın illerinde özellikle de Söke ilçesinde çok yaygın olarak yetiştirilmektedir. Bu ırkın yetiştiriciler tarafından tercih edilmesini sağlayan en önemli özelliği yüksek döl verimi potansiyeli olduğu tahmin edilmektedir. Sıcak hava koşullarına ve paraziter hastalıklara karşı direnci yüksek olan bu ırkın yetersiz meraların yer aldığı olumsuz beslenme koşullarına ise adaptasyonu düşüktür bu nedenle büyük sürüler halinde değil küçük aile işletmeleri tarafından az sayılarda iyi koşullarda yetiştirildiği bildirilmektedir (Ertuğrul vd., 2009).

Sakız ırkı koyunları vücutları beyaz, ağız, göz, kulak ve ayaklarının çevresinde siyah pigmentasyona sahip koyunlardır bazen başın ve ayakların tamamının siyah olduğu ve yapağısının bazı yerlerinde siyah veya kahverengi küçük kıl öbekleri görüldüğü belirtilmiştir. Dip kısmı üçgen şeklinde yağlı, kalan kısmı ince uzun ve yağsız olan kuyrukları, genellikle boynuzsuz olan dişilerin iyi gelişmiş iri sarkık ve ikiden fazlada görülebilen meme başları, erkeklerin spiral görünümlü sert kuvvetli boynuzları vardır. Uzun ancak zayıf yapıda olan bacakları sayesinde yürüme yeteneklerinin iyi olduğu fakat otlama kabiliyetlerinin iyi olmadığı bildirilmektedir (Karaca vd., 1998).

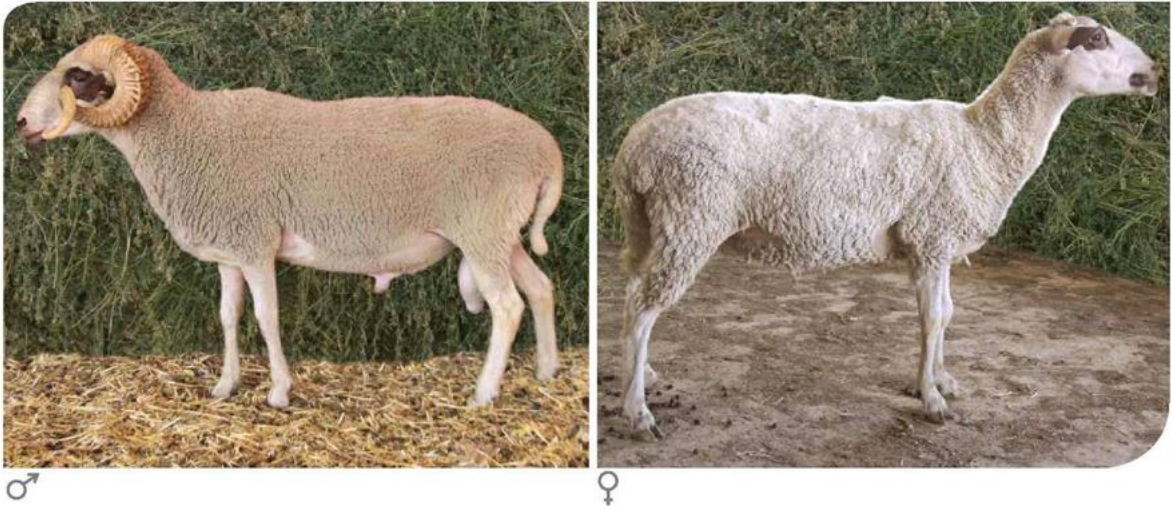
Çizelge 1.2.a: Sakız ırkının fizyolojik özellikleri (HAYGEM, 2022).

Doğum ağırlığı (kg)	3 – 3,2
Günlük canlı ağırlık artışı (g)	242
Canlı ağırlık (kg)	50 (dişi) – 70(erkek)
Cidago yüksekliği (cm)	73 – 75
Vücut uzunluğu (cm)	72 – 75

Çizelge 1.2.b: Sakız ırkının verim özellikleri (HAYGEM, 2022).

Bir doğumda kuzulama sayısı (adet)	2
Damızlık yaşı (ay)	8-9
Laktasyon süresi (gün)	190
Laktasyon dönemi süt verimi (kg)	180-200
Kirli yapağı verimi (kg)	2

1.5.2. Pırlak



Resim 1.2: Erkek ve dişi pırlak koyunu (HAYGEM, 2022).

Pırlak ırkı iç batı Anadolu bölgesinde Afyon, Kütahya, Uşak ve Manisa' ya, batı Akdeniz' in kuzeyinde ise Isparta ve Burdur illerine kadar uzanan bir yayılım göstermiştir. Yayılım gösterdikleri bu alanın, dağlık, engebeli arazilerine, yetersiz otlak ve barınak koşullarına, olumsuz diğer çevre ve iklim şartlarına adaptasyonda başarı sağladığı için tercih edilen bir ırk olmuştur (Anonim, 2009).

Pırlak ırkı koyunlarının, ağız ve göz etrafında kulak uçları ve ayak kenarlarında siyah lekeleri olan beyaz bir vücuda, ileriye doğru dönebilen yarı eğik, yere paralel kulaklara, düz bir buruna, genellikle yukarıdan aşağı doğru yağı azalan karma ince bir kuyruk

tipine sahip olup, erkeklerinin spiral şekilli gösterişli boynuzları olduğu bildirilmiştir (Koçak vd., 2018).

Çizelge 1.3.a: Pırlak ırkının fizyolojik özellikleri (HAYGEM, 2022).

Doğum ağırlığı (kg)	3,5-4
Günlük ağırlık artışı (g)	150
Canlı ağırlık (kg)	45-50(dişi)
Cidago yüksekliği (cm)	63(dişi)
Vücut uzunluğu (cm)	60(dişi)

Çizelge 1.3.b: Pırlak ırkının verim özellikleri (HAYGEM, 2022).

Bir doğumda kuzulama sayısı (adet)	1,2-1,5
Damızlık yaşı (ay)	18
Laktasyon süresi (gün)	120
Laktasyon dönemi süt verimi (kg)	75-80
Kirli yapağı verimi (kg)	2-2,5

1.5.3.Karayaka



Resim 1.3: Erkek ve dişi karayaka koyunu (HAYGEM, 2022).

Ülkemizde yetiştirilmekte olan koyun ırkları arasında et kalitesi bakımından yüksek verime sahip olan Karayaka ırkının daha çok Karadeniz bölgesinin sahil şeridi boyunca yer alan illerimizde yetiştirildiği, yetiştiriciliği tercih edilen diğer ırklar gibi Karayaka ırkının da zorlu iklim şartları ve verimsiz çevre koşullarına adaptasyonunun yüksek oranda olduğu bildirilmiştir. Çakrak ve Karagöz olarak iki varyeteye ayrılan bu ırkın Çakrak tipinde bacaklar, baş ve kulaklar siyah renkli olurken, Karagöz tipinde yalnız gözler ve ağız etrafında siyah renkli halka bulunmaktadır. Kas lifleri arasında mozaik benzeri bir dağılım gösteren yağ dokusu sayesinde et kalitesi bakımından iyi performans göstermesi bu ırkın kuzularının et üreticileri tarafından tercih edilmesini sağlamıştır (Ulutaş vd., 2010).

Karayaka koyunları beyaz renge sahip, başlarının üst kısmından alınlarına doğru uzanan hotoz ismi verilen bir tutam yapağıları olan, kuyrukları ince ve uzun, koçları spiral boynuzlu, koyunları boynuzsuz, yapağısı kaba ve uzun, vücutları uzun olsa da bacakları kısa olan küçük yapılı bir ırk olarak tanımlanmıştır (Kaymakçı vd., 2000).

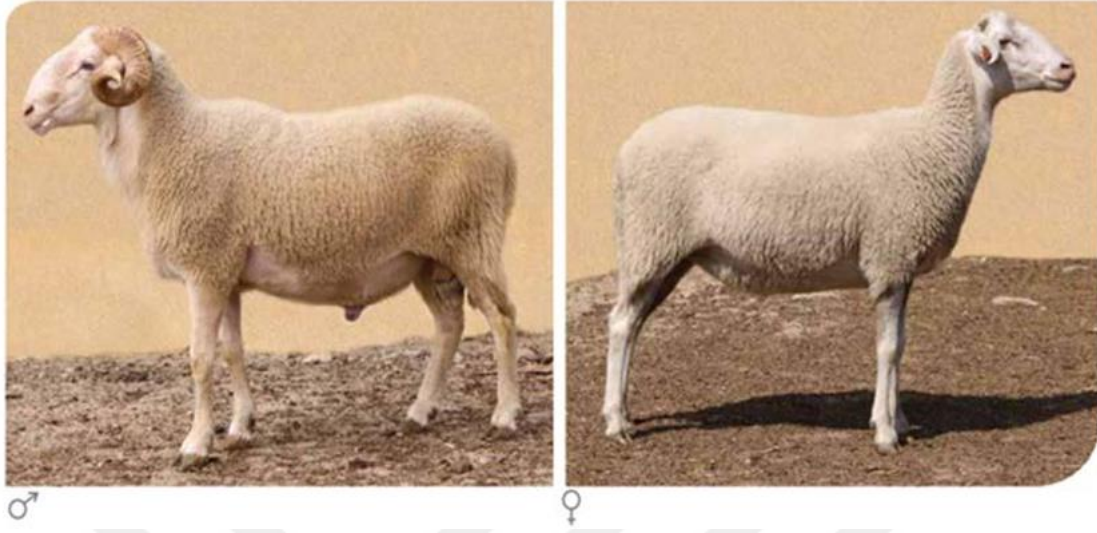
Çizelge 1.4.a: Karayaka ırkının fizyolojik özellikleri (HAYGEM, 2022).

Doğum ağırlığı (kg)	3 – 4,32
Günlük ağırlık artışı (g)	220
Canlı ağırlık (kg)	40 (dişi) – 55(erkek)
Cidago yüksekliği (cm)	62-66
Vücut uzunluğu (cm)	63-71

Çizelge 1.4.b: Karayaka ırkının verim özellikleri (HAYGEM, 2022).

Bir doğumda kuzulama sayısı (adet)	1.1
Damızlık yaşı (ay)	18
Laktasyon süresi (gün)	100-160
Laktasyon dönemi süt verimi (kg)	40-50
Kirli yapağı verimi (kg)	2-3,5

1.5.4.Kıvırcık



Resim 1.4: Erkek ve dişi kıvırcık koyunu (HAYGEM, 2022).

Ülkemizde hem et kalitesi bakımından koyun ırkları arasında ilk sırayı alan hem de diğer ırklara göre daha ince, yumuşak ve bir örnek kıvrımlara sahip nitelikli yapağısı olan Kıvırcık koyunlarının Trakya bölgesi, Güney Marmara ve Ege bölgesinin doğu ve güneyinde daha çok yetiştirildiği bildirilmektedir. Kıvırcık ırkı koyunları boynuzsuz, koçları ise yana doğru uzayan spiral şekilli boynuzlara, tarsus eklemine kadar uzanabilen ince bir kuyruğa ve kısa kulaklara sahip olup, genellikle tüm vücudu beyaz olsa da ender olarak baş ve ayaklarında siyah lekeleri olanlara da rastlanılmaktadır. Et veriminde olduğu gibi süt veriminde de önde gelen bir ırk olan Kıvırcık koyunlarının ikiz doğum oranı % 10-20 gibi yüksek bir civardadır ve aynı zamanda kuzuların gelişiminin de hızlı olduğu, yalnız bu parametrelerin çevre koşullarına bağlı olduğu, yetiştiricilerin kuzulama dönemini meraların iyi olduğu döneme göre ayarlamadıkları takdirde ek konsantre beslenmeye ihtiyaç duyulacağı kanısına varılmıştır (Yılmaz vd., 2011).

Çizelge 1.5.a: Kıvırcık ırkının fizyolojik özellikleri (HAYGEM, 2022).

Doğum ağırlığı (kg)	3,7-4
Günlük ağırlık artışı (g)	260
Canlı ağırlık (kg)	45-55(dişi) – 60-70(erkek)
Cidago yüksekliği (cm)	64-69
Vücut uzunluğu (cm)	66-80

Çizelge 1.5.b: Kıvırcık ırkının verim özellikleri (HAYGEM, 2022).

Bir doğumda kuzulama sayısı (adet)	1,2
Damızlık yaşı (ay)	16-18
Laktasyon süresi (gün)	180
Laktasyon dönemi süt verimi (kg)	83
Kirli yapağı verimi (kg)	1,5

1.5.5.Morkaraman



Resim 1.5: Erkek ve dişi morkaraman koyunu (HAYGEM, 2022).

Morkaraman koyun ırkı ülkemizdeki koyun nüfusunun büyük bir çoğunluğunu oluşturan yağlı kuyruklu koyun ırklarından biri olup, seyrek otlu meralar, kurak iklim

bölgelerindeki yetersiz otlaklar gibi verimsiz çevre koşullarında hastalık ve açlık durumlarına olan dayanıklılığı ile ülke genelinde hemen her tarafta besicilik faaliyetleri yapan çiftçilerin yetiştirmeyi tercih ettiği ırklardan biri olduğu belirtilmiştir (Kayalık vd., 2015).

Vücut tipi iri, rengi kızıl ve mor renk tonları arasında gidip gelse de burun, ağız ve göz etrafı daha açık renkte, kuyruk şekli yatık ‘S’ biçiminde ve erkeklerin çoğunluğu dişilerin bir kısmı boynuzlu olan bu ırkın zorlu çevre koşullarına uyum sağlayabilmesi nedeni ile verim özellikleri başka ırklara görece daha düşük olmasına rağmen daha çok doğu ve kuzeydoğu bölgelerimizde yetiştiriciliğinin yapıldığı bildirilmiştir (Esenbuğa vd., 2009).

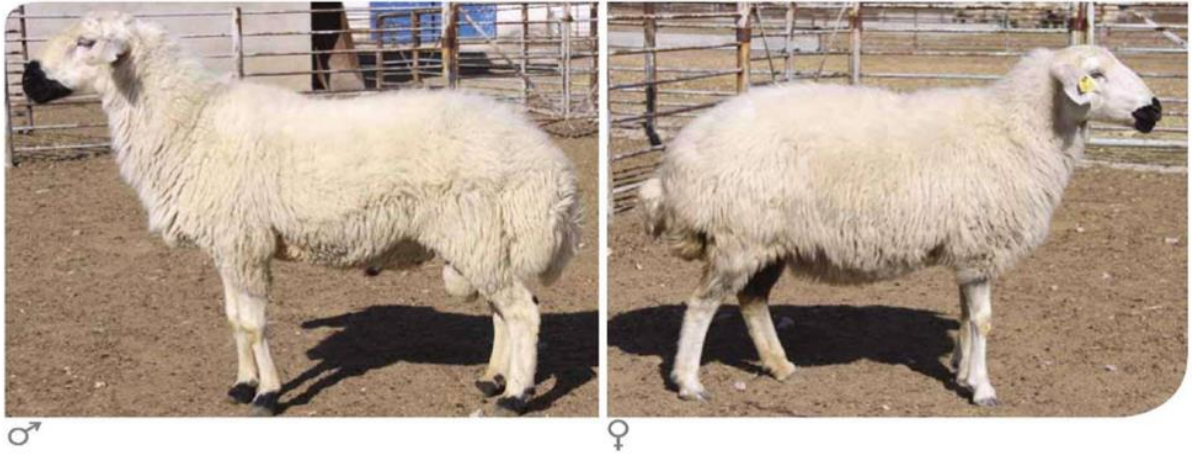
Çizelge 1.6.a: Morkaraman ırkının fizyolojik özellikleri (HAYGEM, 2022).

Doğum ağırlığı (kg)	3,5-3,9
Günlük ağırlık artışı (g)	192
Canlı ağırlık (kg)	40-60 (dişi) – 50-90 (erkek)
Cidago yüksekliği (cm)	68-75
Vücut uzunluğu (cm)	67-72

Çizelge 1.6.b: Morkaraman ırkının verim özellikleri (HAYGEM, 2022).

Bir doğumda kuzulama sayısı (adet)	1
Damızlık yaşı (ay)	18
Laktasyon süresi (gün)	126
Laktasyon dönemi süt verimi (kg)	60
Kirli yapağı verimi (kg)	1,5-2

1.5.6.Akkaraman



Resim 1.6: Erkek ve dişi Akkaraman koyunu (HAYGEM, 2022).

Ülkemizin Kütahya ve Eskişehir gibi iç-batı Anadolu şehirlerinden başlayarak Sivas' a kadar olan İç Anadolu şehirlerine kadar yayılım gösteren, Kangal, Şavak ve Karakaş olmak üzere üç farklı varyetesi bulunan Akkaraman koyun ırkının yerli koyun ırkları arasında en fazla popülasyona sahip ırk olduğu belirtilmiştir. Yerli koyun ırkları arasında daha iri bir yapıya sahip olan Akkaraman koyunlarının, uzun sarkık kulakları, yine uzun sağlam bacakları, üzerinde 'S' şeklinde kıvrımı olan yağlı kuyrukları, vücudu tamamen örten beyaz yapağısının göz çevresi ve ayak kısımlarında bazen rastlanan siyah alanları bulunmaktadır (Kaymakçı vd., 2001).

Çizelge 1.7.a: Akkaraman ırkının fizyolojik özellikleri (HAYGEM, 2022).

Doğum ağırlığı (kg)	4,4-4,7
Günlük ağırlık artışı (g)	240
Canlı ağırlık (kg)	50(dişi) - 62(erkek)
Cidago yüksekliği (cm)	65-73
Vücut uzunluğu (cm)	64-72

Çizelge 1.7.b: Akkaraman ırkının verim özellikleri (HAYGEM, 2022).

Bir doğumda kuzulama sayısı (adet)	1,2
Damızlık yaşı (ay)	16-18
Laktasyon süresi (gün)	140
Laktasyon dönemi süt verimi (kg)	50-60
Kirli yapağı verimi (kg)	2,2



2.MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan ve 556904 numaralı tez çalışması kapsamında toplanmış 30 baş Sakız, 30 baş Karayaka, 20 baş Akkaraman, 30 baş Kıvırcık, 30 baş Morkaraman ve 30 baş Pırlak koyun ırkına ait toplam 170 kan numunesine ait DNA örnekleri kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

2.1.2.1. PCR Cihazı

Çalışmamızda LCORL gen bölgesinin çoğaltılması için Veriti 96-Well Thermal Cycler PCR cihazı (ThermoFisher Scientific) kullanılmıştır.



Resim 2.1: PCR cihazı

2.1.2.2. Yatay Elektroforez Sistemi

Kan numunelerinden elde edilen DNA, PCR ve RFLP ürünlerinin görüntülenmesi için Thermo 4000P güç kaynağı ve midicell primo EC 320 (Thermo) elektroforez jel sistemi kullanılmıştır.



Resim 2.2: Yatay elektroforez cihazı

2.1.2.3. Jel Görüntüleme Sistemi

DNA, PCR ve RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülme işleminden sonra jel görüntülerinin alınabilmesi için Vilber Lourmat BIO-VISION jel görüntüleme cihazı kullanılmıştır.



Resim 2.3: Jel görüntüleme cihazı

2.2. Metot

2.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Bu çalışmada kullanılan kan numuneleri, DNA izolasyonu gerçekleştirilene dek, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında -20 °C de muhafaza edilmiştir.

2.2.2. Kandan DNA İzolasyonu

Kandan DNA izolasyonu Spin Kolon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Önce 1,5 ml' lik eppendorf tüplere 10 µl Proteinaz-K (20 mg/ml) konulup daha sonra üzerine 200 µl kan örnekleri eklenmiştir. Bu karışımların üzerlerine ekstraksiyon çözültisi eklenerek vortekslenip, 56 °C de bekletilmek üzere etüve kaldırılmıştır. Etüvden çıkartılınca kapaktaki damlaları uzaklaştırmak için kısa süreyle santrifüj edilip daha sonra üzerlerine Binding Buffer eklenerek vortekslenip, kapaktaki damlaları uzaklaştırmak için yine kısa süreyle tekrar santrifüj edilmiştir ve ardından lizatlar spin kolon tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra tüplerin kapakları kapatılarak santrifüj edilip, toplama tüpünün altındaki sıvı kısım dökülmüştür. Ardından, spin kolonların üzerine yıkama solüsyonu-I eklenip santrifüj edilip toplama tüpünün altındaki sıvı kısım atılmıştır. Sonrasında spin kolonlara yıkama solüsyonu-II eklenerek santrifüj edilip tekrar toplama tüpünün altındaki sıvı kısım dökülmüştür. Ardından yine spin kolonlara yıkama solüsyonu-II eklenip kuvvetlice santrifüj edilmiştir. Spin kolon yeni eppendorf tüplere aktarılıp üzerlerine TE Buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA pH: 8,0) solüsyonu eklendikten sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresi bittikten sonra tüpler son kez santrifüj edilip daha sonra kullanılmak üzere -20 °C' de saklanmıştır.

2.2.3. Primer Tasarımı

LCORL gen lokusu üzerinde belirlenen LCORL-1 ve LCORL-2 bölgelerinin çoğaltılması için iki farklı primer tasarlanmıştır.

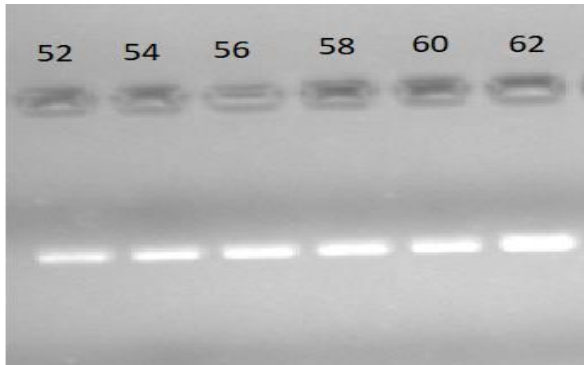
Çizelge 2.1: Primer tasarımları (La vd., 2019).

LCORL-1	F: 5'- AGAGTCTCAGAATCCCCTAA -3'
	R: 5'- TTGCTTATTTCTGCTGGTGT -3'
LCORL-2	F: 5'- GAACCCATTGAAAAYGATAA -3'
	R: 5'- AGGTGGGAAAATAAACTGAT -3'

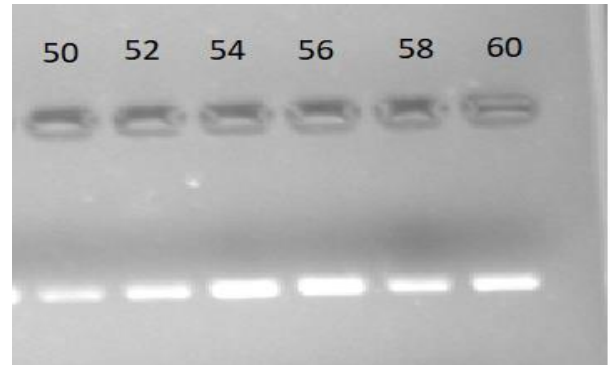
2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

2.2.4.1. Gradient PCR

LCORL-1 ve LCORL-2 gen bölgelerini çoğaltırken kullanacak primerlerin en iyi bağlanma sıcaklıklarını (TM, Melting Temperature) tespit etmek için Gradient PCR yapılmıştır. Öncelikle elimizde bulunan farklı koyun ırklarına ait DNA örneklerinden her ırktan 5' er farklı örnek olmak üzere 30 µl DNA örneği bir havuzda toplanılmıştır. Daha sonra bu DNA havuzuna yapılan Gradient PCR da LCORL-1 bölgesini çoğaltmak için en uygun sıcaklık 62 °C, en uygun MgCl₂ miktarı 2 mM/µl olarak bulunmuştur. LCORL-2 bölgesini çoğaltmak için ise en uygun sıcaklık 56 °C, en uygun MgCl₂ miktarı 1,5 mM/µl olarak bulunmuştur.



Resim 2.4: LCORL-1 Gradient PCR Jel görüntüsü



Resim 2.5: LCORL-2 Gradient PCR Jel görüntüsü

2.2.4.2. PCR

LCORL-1 bölgesi, her bir örnek için PCR tüplerine; 1.5 µl DNA örneği, 10xAmmoniumBuffer 1 µl, MgCl₂ solüsyonu 0,5 µl (total MgCl₂ miktarı 2 mM/µl olacak şekilde), dNTPs 0,3 µl, Forward primer 0,3 µl, Reverse primer 0,3 µl, Ampliqon Taq Polimeraz 0,1 µl konulup, PCR cihazında sıra ile 95 °C 5 dk. 1 döngü, 95 °C 15 sn., 62 °C 30 sn., 72 °C 1 dk. 40 döngü ve son olarak 72 °C 5 dk. 1 döngü olacak şekilde PCR protokolü uygulanarak çoğaltılmıştır.

Çizelge 2.2: LCORL-1 bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR bileşenleri

Bileşenler	1 örnek için kullanılan miktar
10x Buffer	1 µl
MgCl ₂	0,5 µl
Dntp	0,3 µl
F	0,3 µl
R	0,3 µl
TaqDNAPolimeraz	0,1 µl
DNA	1,5 µl

Çizelge 2.3: LCORL-1 bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR protokolü

SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ	BASAMAK
95 °C	5 dk	1	Başlangıç
95 °C	15 sn	40	Ayrılma
62 °C	30 sn		Bağlama
72 °C	1 dk		Uzama
72 °C	5 dk	1	Son uzama

LCORL-2 bölgesi, her bir örnek için PCR tüplerine; 1.5 µl DNA örneği, 10xAmmoniumBuffer 1 µl (1,5 mM/µl MgCl₂ içerir), dNTPs 0,3 µl, Forward primer 0,3 µl, Reverse primer 0,3 µl, Ampliqon Taq Polimeraz 0,1 µl konulup, PCR cihazında

sıra ile 95 °C 5 dk. 1 döngü, 95 °C 15 sn., 56 °C 30 sn., 72 °C 1 dk. 40 döngü ve son olarak 72 °C 5 dk. 1 döngü olacak şekilde PCR protokolü uygulanarak çoğaltılmıştır.

Çizelge 2.4: LCORL-2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR bileşenleri

Bileşenler	1 örnek için kullanılan miktar
10x Buffer	1 µl
Dntp	0,3 µl
F	0,3 µl
R	0,3 µl
TaqDNAPolimeraz	0,1 µl
DNA	1,5 µl

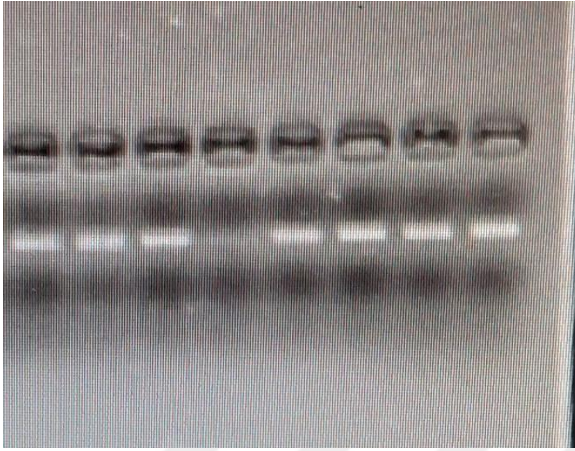
Çizelge 2.5: LCORL-2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR protokolü

SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ	BASAMAK
95 °C	5 dk	1	Başlangıç
95 °C	15 sn	40	Ayrılma
56 °C	30 sn		Bağlama
72 °C	1 dk		Uzama
72 °C	5 dk	1	Son uzama

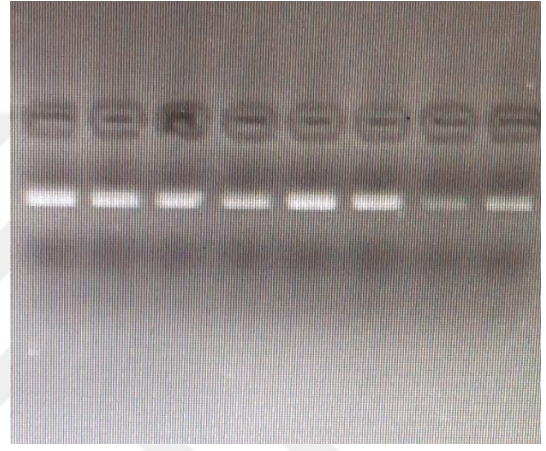
2.2.5. Jel Elektroforez

İzole edilen DNA'ları ve elde edilen PCR ürünlerini görüntüleme işlemi için (% 1'lik) agaroz jel yapılmıştır. Bunun için 1 gr Agaroz tozu ile 100 ml TAE (TrisAsetat- EDTA) solüsyonu karıştırılmış ve mikrodalga fırında erimesi sağlanmıştır. Eriyen jelin içine 1 µl kadar RedSafe boya solüsyonu ilave edilmiştir. Oluşan karışımın ılık bir hale gelmesi beklenmiş sonrasında elektroforez tepsisine aktarılmıştır. Elde edilen jel 30 dk oda sıcaklığında ve 30 dk da buzdolabı içinde +4 derecede katılaşması için bekletilmiştir. Sonrasında elektroforezin içinde bulunan taraklar tepsideen uzaklaştırılmıştır. Tepsi, elektroforez tankına alınmıştır. Elektroforez tankına jelin üzerini geçecek şekilde TAE

solüsyonu koyulmuştur. Oluşan her bir kuyucuğa 8,5 µl kadar yükleme boyası (Loading Dye) ile 2,5 µl miktarında PCR ürünü barındıran karışım ilave edilmiştir. Yükleme işleminden sonra cihaz çalıştırılmış ve 30 dk boyunca örnekler 90 Volttan jelde yürütülmesi sağlanmıştır. Ardından Vilber Lourmat BIO-VISION jel görüntüleme sisteminden yararlanılarak jel görüntülenmiştir. Görüntünün gözlenmediği bantlar negatif olarak değerlendirilirken görüntünün olduğu bantlar ise pozitif olarak değerlendirmeye alınmıştır.



Resim 2.6:LCORL-1 bölgesi Jel görüntüsü



Resim 2.7: LCORL-2 bölgesi Jel görüntüsü

2.2.6. RFLP- PCR (Restriksiyon Enzimi Uzunluk Polimorfizmleri)

Restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA moleküllerinin yaklaşık 4 veya 8 bp (baz çifti) uzunluğunda spesifik bölgelerden kesilerek farklı büyüklükteki fragmanlara ayrılması RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism) olarak adlandırılmıştır. Bu yöntem polimorfizm çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmuştur. Her DNA molekülü kendi içinde spesifik farklı kesim noktalarına sahip bölgeleri içermektedir. Bu DNA bölgeleri restriksiyon enzimi kullanılarak kesilmiş, bireylerin taşıdığı mutasyonlara bağlı olarak değişik miktar ve uzunlukta DNA parçaları elde edilip böylece polimorfizmler tespit edilmiştir.

Bu çalışmada; İlgili gen bölgesi çoğaltılan DNA örneklerindeki, araştırılan SNP' leri saptamak amacıyla LCORL-1 bölgesi için Hpy188-I, LCORL-2 bölgesi için Dra-I enzimleri kullanılarak RFLP PCR yapılmıştır (La vd., 2019).

LCORL-1 gen bölgesindeki polimorfizmi saptamak için PCR ürününe, Hpy188-I enzimi kullanılarak 37 °C 60 dakika, 65 °C 20 dakika RFLP-PCR uygulanmıştır.

Çizelge 2.6: Hpy188-I enzimi tanıma bölgesi

RE	PCR ürünü (bç)	Tanım Bölgesi	Genotipler (bç)
Hpy188-I	495	5'...TCN/GA3'	MM: 281/214
		3'...AG/NCT5'	Mm: 495/281/214
			mm: 495

Çizelge 2.7.: LCORL-1 bölgesini kesmek için kullanılan RFLP-PCR bileşenleri

Bileşenler	1 örnek başına kullanılan miktar
PCR Ürünü	5 µl
10x Buffer	1 µl
Hpy188-I	0.2 µl

LCORL-2 gen bölgesindeki polimorfizmi saptamak için PCR ürününe, Dra-I enzimi kullanılarak 37 °C 30 dakika, 85 °C 20 dakika RFLP-PCR uygulanmıştır.

Çizelge 2.8: Dra-I enzimi tanıma bölgesi

RE	PCR ürünü (bç)	Tanım Bölgesi	Genotipler (bç)
Dra-I	594	5'...TTT/AAA...3'	MM: 322/272
		3'...AAA/TTT...5'	Mm: 594/322/272
			mm: 594

Çizelge 2.9: LCORL-2 bölgesini kesmek için kullanılan RFLP-PCR bileşenleri

Bileşenler	1 örnek başına kullanılan miktar
PCR Ürünü	5 µl
10x Green Buffer	1 µl
Dra- I	0.2 µl



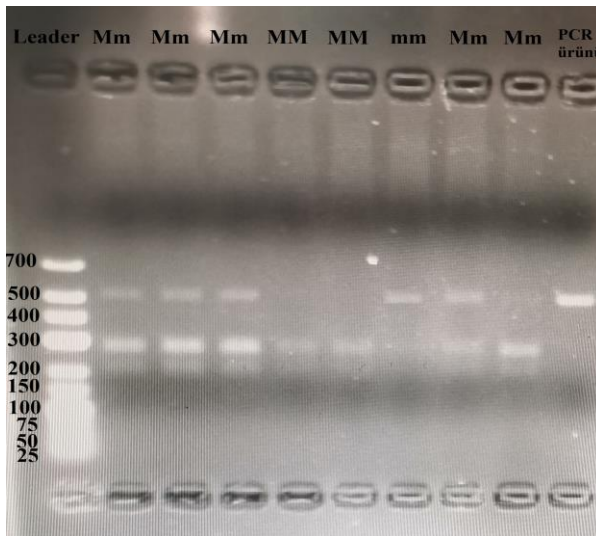
3.BULGULAR

3.1. LCORL-1 Gen Bölgesi Polimorfizmleri

LCORL-1 bölgesindeki polimorfizmleri saptamak için Pırlak ırkına ait 29, Sakız ırkına ait 30, Kıvırcık ırkına ait 30, Karayaka ırkına ait 30, Morkaraman ırkına ait 30, Akkaraman ırkına ait 17 olmak üzere toplam 166 kan numunesinden elde edilen DNA örnekleri Hpy188-I enzimi ile kesilmiştir.

495 baz çifti uzunluğunda olan hedef DNA molekülünün RFLP-PCR da Hpy188-I enzimi ile kesim uygulandıktan sonra 281 ve 214 baz çifti uzunluğunda fragmentlere ayrılması beklenmiştir.

Kesim sonucu Pırlak ırkına ait; 22 adet homozigot dominant, 7 adet heterozigot, Sakız ırkına ait; 23 adet homozigot dominant, 7 adet heterozigot, Kıvırcık ırkına ait; 27 adet homozigot dominant, 3 adet heterozigot, Karayaka ırkına ait; 30 adet homozigot dominant, Morkaraman ırkına ait; 14 adet homozigot dominant, 11 adet heterozigot, 5 adet homozigot resesif, Akkaraman ırkına ait; 16 adet homozigot dominant, 1 adet heterozigot bireye rastlanılmıştır. Pırlak, Sakız, Kıvırcık, Morkaraman ve Akkaraman ırklarına ait homozigot resesif bireye, Karayaka ırkına ait hem heterozigot hemde homozigat resesif bireye rastlanılmamıştır.



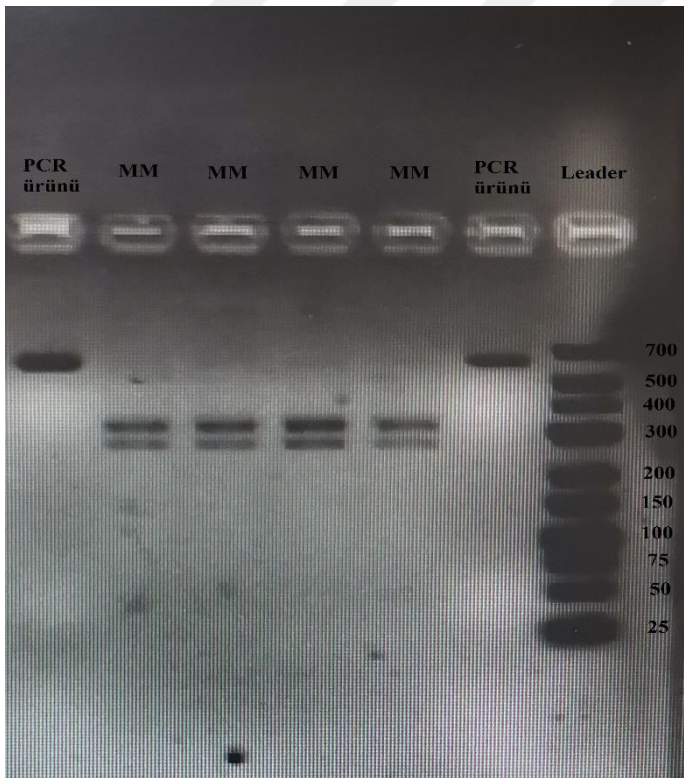
Resim 3.1: LCORL-1 Gen Bölgesi Polimorfizmleri.

3.2. LCORL-2 Gen Bölgesi Polimorfizmleri

LCORL-2 bölgesindeki polimorfizmleri saptamak için Pırlak ırkına ait 30, Sakız ırkına ait 30, Kıvırcık ırkına ait 30, Karayaka ırkına ait 28, Morkaraman ırkına ait 24, Akkaraman ırkına ait 20 olmak üzere toplam 162 kan numunesinden elde edilen DNA örnekleri Dra-I enzimi ile kesilmiştir.

594 baz çifti uzunluğunda olan hedef DNA molekülünün RFLP-PCR da Dra-I enzimi ile kesim uygulandıktan sonra 322 ve 272 baz çifti uzunluğunda fragmentlere ayrılması beklenmiştir.

Kesim sonucu incelenen tüm ırklara ait örneklerin çift bant oluşturarak 322 ve 272 bp uzunluğunda iki fragment oluşturduğu, bireylerin tamamının homozigot dominant özellikte olup, heterozigot ve homozigot resesif hiçbir bireye rastlanılmadığı, bu bölgenin aranılan SNP açısından polimorfik yapıda olmadığı gözlemlenmiştir.



Resim 3.2. LCORL-2 Gen Bölgesi Polimorfizmleri.

3.3. İstatiksel Analiz

Çalışmada incelenen 166 hayvanın kan örneklerinden elde edilen DNA üzerinde çoğalttığımız 495 bp büyüklüğünde LCORL-1 olarak belirlenen gen bölgesinin Hpy188-I enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan 281 ve 214 bp ve kesilmeyen 495 bp büyüklüğündeki fragmentler ile üç genotip belirlenmiştir (MM, Mm, mm).

Çizelge 3.1: LCORL-1 gen bölgesine ait gözlenen genotipler.

IRKLAR		Pırlak	Sakız	Kıvırcık	Karayaka	Morkaraman	Akkaraman
		n: 29	n: 30	n: 30	n: 30	n: 30	n: 17
Genotipler	MM	22	23	27	30	14	16
	Mm	7	7	3	0	11	1
	mm	0	0	0	0	5	0

Çizelge 3.2: LCORL-1 gen bölgesine ait allel frekansı hesaplamaları.

IRKLAR		Pırlak	Sakız	Kıvırcık	Karayaka	Morkaraman	Akkaraman
		n: 29	n: 30	n: 30	n: 30	n: 30	n: 17
Allel	M	0,879	0,883	0,95	1	0,65	0,97
Frekansları	m	0,12	0,116	0,05	-	0,35	0,029

LCORL-1 gen bölgesi için belirlenen allel frekansları tabloda gösterildiği gibidir. Tablodaki verilere göre Karayaka ırkında ‘M’ allelinin frekansı 1 olup, ‘m’ alleleline hiç rastlanmadığı, Morkaraman ırkında allel frekanslarının diğer ırklara nazaran birbirine daha yakın olduğu, Pırlak, Sakız, Akkaraman ve Kıvırcık ırklarında ise ‘M’ alleli frekansları ile ‘m’ alleli frekansları arasında büyük farklar olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.3: LCORL-1 gen bölgesinde gözlenen ve beklenen heterozigotluk düzeyleri.

IRKLAR		Pırlak	Sakız	Kıvırcık	Karayaka	Morkaraman	Akkaraman
		n: 29	n: 30	n: 30	n: 30	n: 30	n: 17
Allel	M	0,879	0,883	0,95	1	0,65	0,97
Frekansları	m	0,12	0,116	0,05	-	0,35	0,029
Ho		0,24	0,233	0,1	-	0,36	0,058
He		0,21	0,204	0,096	-	0,456	0,059

Yukarıda verilen tabloya göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk düzeyleri incelendiğinde; Karayaka ırkında heterozigotluk oranının sıfır olduğu, Morkaraman ırkında ise diğer ırklara görece daha yüksek düzeyde bir heterozigotluk oranı görüldüğü, Pırlak, Sakız, Akkaraman ve Kıvırcık ırklarında ise heterozigotluk oranlarının birbirine yakın ve düşük düzeylerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.4: LCORL-1 gen bölgesinin beklenen ve gözlenen genotip frekansları ve hesaplanan χ^2 değerleri

IRKLAR		Pırlak		Sakız		Kıvırcık		Karakaya		Morkaraman		Akkaraman	
		n: 29		n: 30		n: 30		n: 30		n: 30		n: 17	
Genotip		GZ	BK	GZ	BK	GZ	BK	GZ	BK	GZ	BK	GZ	BK
Frekansları		22	22,38	23	23,37	27	27,36	30	-	14	12,66	16	15,99
(GZ:	MM												
Gözlenen	Mm	7	6,09	7	6,12	3	2,85	0	-	11	13,65	1	0,952
BK:	mm	0	0,40	0	0,39	0	0,06	0	-	5	3,66	0	0,013
Beklenen)													
χ^2 Değerleri		0,541		0,521		0,067		-		1,145		0,015	

Popülasyondan elde edilen gözlenen ve beklenen genotip frekansları χ^2 testi ile değerlendirilmiştir. İncelenen polimorfizm açısından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu gözlenen bu popülasyonda beklenen ve gözlenen genotip frekansları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlılığı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Çalışmada incelenen 162 hayvanın kan örneklerinden elde edilen DNA üzerinde çoğalttığımız 594 bp büyüklüğünde LCORL-2 olarak belirlenen gen bölgesinin Dra-I enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan 322 ve 272 bp büyüklüğündeki iki fragment değerlendirilerek bir genotip belirlenmiştir (MM). İncelenen popülasyonun belirlenen gen bölgesinde aranan SNP ye hiç rastlanılmamış ve bu bölgenin çalışılan altı farklı ırktaki toplam 162 bireyinin de aranılan SNP açısından polimorfik yapıda olmadığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.5: LCORL-2 gen bölgesine ait gözlenen genotipler.

IRKLAR		Pırlak	Sakız	Kıvırcık	Karayaka	Morkaraman	Akkaraman
		n: 30	n: 30	n: 28	n: 30	n: 24	n: 20
Genotipler	MM	30	30	28	30	24	20
	Mm	0	0	0	0	0	0
	Mm	0	0	0	0	0	0

Çizelge 3.6: LCORL-2 gen bölgesine ait allel frekansı hesaplamaları

IRKLAR		Pırlak	Sakız	Kıvırcık	Karayaka	Morkaraman	Akkaraman
		n: 30	n: 30	n: 28	n: 30	n: 24	n:20
Allel	M	1	1	1	1	1	1
Frekansları	m	0	0	0	0	0	0

4. TARTIŞMA

Memelilerin doğum öncesi ve sonrası büyüme ve lipid metabolizmasındaki etkileşimde yer alan fizyolojik mekanizmalar ve altında yatan genetik varyasyonlar tam olarak anlaşılmamıştır. Büyüme gibi karmaşık özellikleri modüle eden fizyolojik yollara bağlı genetik varyasyonun belirlenmesi, uzun vadeli seçici üreme, uygun örnek boyutları ve yüksek kaliteli genom dizileri ile hayvan popülasyonları tarafından büyük hayvan modellerinin oluşturulmasını sağlayabilir.

Koyunlarda vücut büyüklüğünü etkileyen gen bölgelerinin tanımlanması hem özelliğin karmaşıklığı hem de popülasyonlar ve kullanılan yaklaşımlar arasındaki farklılıklar göz önünde bulundurulduğunda çalışmaların arasında karşılaştırma yapılamamasından dolayı zorlaşmaktadır. Ayrıca, genel olarak iyi tanımlanmış insan birliktelikleri ile oluşturulan veya ilgisiz bireylerden oluşan örneklemelerin kullanıldığı analizlere kıyasla çiftlik hayvanlarında yapılan çalışmalar genellikle yanlış soy bilgisine sahip saha örneklerine dayanmakta bu durumda genom çapındaki taramaların tasarımında bir dizi engel oluşturmaktadır. Hayvan popülasyonları yüksek düzeyde akrabalık bağları içeren karmaşık bir popülasyon yapısı içermekte olup kullanılan örneklemde birey sayısının az olması, dengesiz allel frekansı dağılımına bu durumda özellik ve belirteçler arasındaki yanlış-pozitif ilişkilerin oranının artıp gerçek ilişkilerin tespitinin zorlaşmasına neden olmaktadır.

Signer-Hasler vd. (2012), 1 151 attan oluşan bir örneklemde elde ettikleri 54 602 SNP'deki kalite filtrelemesinden sonra 1 077 at ve 38 124 SNP ye ulaşmışlardır. Elde ettikleri bu verileri 145 cm ve 165 cm arasında değişen cıdago yüksekliği de dahil olmak üzere 28 farklı konformasyon özelliği ile ilişkilendirmişlerdir. Çalışma sonucunda ECA3 ve ECA9' da cıdago yüksekliği, bacakların konformasyonu ve sırt uzunluğu ile doğrudan genetik korelasyonu olan iki QTL bildirmişlerdir. Bu iki QTL bölgesi içindeki 8 SNP genom çapında anlamlılık düzeyine ulaşmıştır. Cıdago yüksekliği için bildirilen iki QTL bölgesi LCORL/NCAPG ve ZFAT gen bölgelerinin yakınlarında haritalanmıştır.

Lindholm-Perry vd. (2013), sığırlar ile yaptıkları çalışmada LCORL' nin bir hayvanın tükettiği yem miktarının yağ ve kas dokusunda yaptığı değişikliklere etkisi olan yollarda yer aldığını, elde ettikleri SNP' ler ile danaların kas dokusundaki büyümenin ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Kas dokusunda LCORL' nin gen ekspresyonu incelenen hayvan popülasyonlarında cinsiyete, diyet ve yaşa göre değişen faktörlerden birinin veya kombinasyonun yem alımındaki varyasyona yanıt verdiğini göstermişlerdir.

Tetens vd. (2013), 782 Alman Sıcakkan aygırında, Illumina EquineSNP50 Bead Chip kullanarak cidago yüksekliğini etkileyen lokusları bulmak için bir genom boyu ilişkilendirme taraması yapmışlardır. İskelet büyümesi ve iskelet yüksekliği, ağırlık ve karkas kompozisyonu, performans ve konformasyon özellikleri ile LCORL' deki polimorfizmleri ilişkilendirmişler. Atlarda NCAP/LCORL lokusunu cidago yüksekliğini etkileyen bir aday QTL olacağını bildirmişlerdir.

Boyko vd. (2014), at rekürren laringeal nöropati (RLN) hastalığının genetik temellerini incelemek için yaptıkları çalışmada inceledikleri 505 atın cidago yüksekliği ile ECA3' teki LCORL/NCAPG lokusu ile anlamlı bir ilişki ve bu lokusun vücut büyüklüğü bu popülasyonda boy ile önemli bir fenotipik ve genetik korelasyon göstermiştir.

Al-Mamun vd. (2015), 1 781 Avustralya Merinos koyununda orta yoğunluklu Illumina Ovine SNP50 BeadChip kullanarak, 53 862 SNP genotipleri ve doğrusal karışık model yaklaşımı ile SNP haplotip etkilerini tahmin etmek için genotipler hspase ile evrenip tespit edilen QTL bölgeleri ile arasında bağlantı dengesizliği bloklarını tanımlamıştır. Yapılan bu GWAS çalışmasının sonucunda koyunlarda vücut ağırlığı ile ilişkilendirilen 39 SNP tanımlanmış ve OAR6 da 2.41 Mb' lik büyük bir bölgeyi kapsayan QTL tespit edilmiş ve bu QTL bölgesi içinde NCAPG ve LCORL genlerinin vücut ağırlığı için muhtemel aday genler olacağı bildirilmiştir.

Liu (2015), Çin' de Min domuzu popülasyonlarında vücut uzunluğu ile ilişkili bir GWAS çalışması yapmak için NR6A1, PLAG1 ve LCORL bölgelerinin kısmi gen dizilerini doğrudan dizileme yöntemi ile sıralayıp, SNP' leri dizileme tepe haritasını değerlendirerek tespit etmişlerdir. Vücut uzunluğu özelliklerini etkileyen üç genin

haplotipleri, haplotip çıkarımı, bağlantı dengesizliği ve Hardy-Weinberg denge analizi ile belirlerlemişlerdir. LCORL geni üzerinde saptadıkları 4' ü bilinen 17 aday SNP' nin tek başlarına vücut boyutu ile ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Staiger vd. (2016), genetiğin vücut konformasyonuna olan etkisini araştırmak için 282 adet atın belirledikleri 32 farklı vücut ölçüsü parametrelerini ve antrenman bilgilerini topladıktan sonra DNA örneklerini analiz etmişlerdir. EqueneSNP70 BeadChip kullanarak 109 atı genotiplendirilmiş ve işaretleyici ilişkilendirme PC1 puanları kullanılarak veriler değerlendirildiğinde LCORL geninin 3'- ucu ile vücut uzunluğunu ilişkilendirdiklerini belirtmişlerdir. LCORL kodlama dizisinin yukarı akışında bulunan tek nükleotid polimorfizmlerinin, genin ekspresyonunu dolayısıyla da atlarda vücut boyutunu düzenlediğini bildiren çalışmalardan farklı olarak ECA3 q12-q13' te LCORL' nin yüksek düzeyde homolog 5 kb retrogen kopyasının konumunu tanımlamış ve bu atlardaki iskelet boyutu varyasyonu ile yakından ilişkili olan transkriptin kendisi LCORL lokusu içindeki olası nedensel SNP' leri tanımlayan ilk çalışma olduklarını bildirmişlerdir.

Han vd. (2017), sığırlarda karkas ağırlığı, vücut boyu ve vücut uzunluğu gibi kantitatif özellik lokusu kromozom 6' da bildirildiğinden bu bölgenin ekzon ve komşu bölgesindeki mutasyonları tespit etmek için 450 Qinchuan besi sığırını incelemişlerdir. LCORL bölgesindeki SNP leri incelemek için RFLP-PCR tekniğini kullanmışlar ve intron bölgesinde iki, promotör bölgede dört varyans bildirmişlerdir. INT+52098 de A>G SNP sinin karkas ağırlığı ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu, LCORL gen bölgesini besi sığırlarının et performansı için geliştirilmiş markör destekli seleksiyona katkıda bulunabilecek aday gen olarak bildirmişlerdir.

Muhammedabadi vd. (2019), çeşitli at ırklarında vücut büyüklüğü ve LCORL geninin polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için RFLP-PCR tekniği ile Alu enzimi kullanarak 306 atın genotiplerini incelemiştir. Bu çalışma sonucunda, kurye olarak kullanılan ve daha az yiyeceğe ihtiyaç duyup uzun süre yorulmayan orta gövdeli atlar olan İran yerli ırklarında C allelinin nadir bulunması, tarla ve maden işlerinde kullanılan görece daha iri gövdeli ve kuvvetli atlar olan egzotik ırklarda C allelinin sıklığının

artması ile gözlemlenen üç genotipin istatistiksel analiziyle, bu polimorfizm ile vücut büyüklüğü parametreleri arasındaki ilişkiyi bildirmişlerdir.

Plassais vd. (2019), ırk oluşumu ve bakımı sırasında meydana gelen seçim baskısından ileri gelen genomik değişiklikleri tanımlamak için evcil köpekler, vahşi köpekler, yerli ve köy köpeklerinden oluşan 722 adet bireyden elde ettikleri 91 milyon varyant bulunan bir veri seti geliştirmişlerdir. Hem seçici tarama analizleri hem de yaptıkları GWAS çalışması sonuçlarını mevcut verilerle birleştirdiklerinde köpeklerde vücut büyüklüğü varyasyonunun yaklaşık olarak % 90' ını açıklayabilecek 16 varyant tanımlamışlardır ve LCORL lokusunun köpeklerde vücut büyüklüğünün yanı sıra yaşam süresi ile de ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Signer-Hasler vd. (2019), popülasyon yapısını karakterize etmek için İsviçre koyun ırklarına ait 939 hayvana ait genotipleri analiz etmişlerdir. Irkların genetik yapısındaki farkları belirleyip, ırk farklılaşmasından sorumlu ilgili aday genler gösterilmiştir. Bu aday genlerden vücut büyüklüğü ile ilgili olanlar NCAPG, LCORL, LAP3, SPP1, PLAG1 olarak bildirilmiştir.

Said vd. (2020), yaptıkları çalışmada Pakistan' a özgü farklı keçi ırklarına ait havuzlanmış heterozigotluk istatistiklerini kullanarak 749 seçim imzası gözlemlemişlerdir. Bu seçim imzalarından biri LCORL geni üzerinde idi ve üç büyük boy ve iki orta boy ırkta gözlemlenmiştir. Ancak köpekler ve keçiler arasındaki paralellikler ışığında, LCORL' nin: c.828_829insA, keçilerinde boyutu artıran QTL için gerçek nedensel varyant olabileceğini, cins ortalamalı fenotiplere dayanan bu çalışmanın hipotez için kesin kanıt sağlamasa da bu ön bulguyu doğrulamak için, bazı orta büyüklükteki keçi ırkları görünüşe göre LCORL lokasyonunda sabitlenmediğinden, her iki aleli de ayıran bir cinsten c.828_829insA' daki genotiplerle ayrı ayrı ölçülen boy fenotiplerini ilişkilendiren bir cins içi ilişki çalışması yapılması gerektiği görüşünü bildirmişlerdir.

Krutikova vd. (2020), Rusya' daki ana evcil Ren geyiği ırklarının et verimliliğini arttırmak için boyut ve vücut ağırlığı ile ilgili aday genlerde polimorfizmler

aramışlardır. LCORL geninin yedinci ekzonunu sıraladıkları çalışmada daha önce altı tanesi saptanmamış proteinin aminoasit bileşiminde değişikliğe yol açtığını tespit ettikleri yedi SNP bildirmişlerdir. İnceledikleri üç popülasyonda (yabani ren geyiği, Nenets ırkı, Evenk ırkı) LCORL gen bölgesindeki vahşi ve mutant allellerin miktarında önemli bir fark olduğunu gözlemlemiş, Ren geyiği boy ve boyutundaki diğer fenotipik değişkenler için bu lokusun polimorfizmlerinin seçim baskısı olduğunu bildirmişlerdir.

Graber vd. (2022), daha önceden tüm genom dizilemesi yapılmış Boer keçilerinde boy yüksekliği ile ilgili bir ilişkilendirme çalışması yapmak için İsviçre keçi ırklarının bireylerinde bulunan VarGoats projesi varyant kataloğunda yer alan beş ek kesme varyantını (p.Leu539fs in Grisons Striped (BST), p.Ala663fs ve Chamois Colored (GFG)' de p.Phe1486fs, Nera Verzasca (NER) ve Peacock'da (PFA) p.Arg1089 ve Saanen (SAN) keçilerinde p.Glu1457fs) değerlendirmişlerdir. Boer keçilerinde, SAN, NER ve PFA' da bulunan iki varyant dışında p.Ser277fs ve p.Phe1486fs varyantlarını içeren dört çerçeve kayması varyantı, diğer çeşitli ırklarda da düşük frekanslarda meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmaya ek olarak 190 adet Boer ırkına ait bireyin yanısıra beş farklı İsviçre keçi ırkından (140 BST, 110 GFG, 151 SAN, 32 NER, 94 PFA) 12 aylıktan büyük toplam 717 adet dişi keçinin kan örnekleri toplayıp PCR ve Sanger dizilim teknikleri kullanarak LCORL gen bölgesinin genotiplemesini gerçekleştirmişlerdir. Vücut büyüklüğü ile ilişkiyi araştırmak için tüm bireylerin beş farklı fenotipik verileri (cidago yüksekliği, vücut uzunluğu, göğüs derinliği, sağrı yüksekliği ve pelvis genişliği) elde edilmiştir. Sonuç olarak, çerçeve kaydırma varyantı p.Leu539fs, beş fenotipik veriden dördü ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

LCORL lokusunun daha önce en az altı memeli hayvan türünde yükseklik ile ilişkili olduğunun bulunması, bu lokusun koyun ırkları arasında da seçim altında olmasının şaşırtıcı olmayacağını göstermektedir. LCORL lokusundaki genetik varyasyonların memeli türlerinde boy ve vücut boyutunun belirlenmesinde rol oynadığına dair giderek artan kanıtlar bulunsada, bu durumun altında yatan moleküler mekanizma halen belirsizliğini korumaya devam etmektedir. Diğer memeli türlerinden sağlanan vücut büyüklüğü ile ilgili genomik belirteçlerin bilgileri, farklı türlere özgü seçim imzalarını

ve özelliklerini de araştırmak için kullanılabilir ve bu daha verimli araştırma stratejileri oluşturmaya yardımcı olabilir.

Bu çalışmada incelenen popülasyonun LCORL-1 gen bölgesi için; Karayaka ırkında heterozigotluk oranının sıfır olduğu, Morkaraman ırkında ise diğer ırklara görece daha yüksek düzeyde bir heterozigotluk oranı görüldüğü, Pırlak, Sakız, Akkaraman ve Kıvırcık ırklarında ise heterozigotluk oranlarının birbirine yakın ve çok düşük düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu, beklenen ve gözlenen heterozigotluk düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir. LCORL-2 olarak belirlenen gen bölgesinde ise aranan SNP ye hiç rastlanılmamış ve popülasyonun bu SNP açısından polimorfik yapıda olmadığı gözlemlenmiştir.

İrk ortalamalı fenotiplere dayanan çalışmalar ile vücut boyutuyla alakalı en güçlü ilişkiler genellikle LCORL lokusuyla kuruluyor olmasına rağmen genin invivo işlevi tam olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle hem genotiplerle ayrı ayrı ölçülen boy fenotiplerinin ilişkilendirildiği hem de bu çalışmadaki gibi polimorfizmlerin saptandığı ve diğer tüm ön bulgularında karşılaştırıldığı daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde giderek artan insan nüfusunun beslenme ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için gerekli olan en değerli protein kaynaklarından biri et üretimidir ve koyun yetiştiriciliği et üretimi endüstrisinde azımsanamayacak bir öneme sahiptir. Koyun yetiştiriciliğinde elde edilecek et verimini arttırmanın yolu karkas ağırlığını arttırmayı sağlayacak; hayvanların canlı ağırlığı, cıdago yüksekliği, vücut büyüklüğü, kas kütlesi, kas içi yayılan yağ miktarı gibi birtakım parametrelerden geçmektedir ve bu parametreleri etkileyen gen lokuslarının tespit edilip bu genomik bilgilerin istenilen fenotipte bireyler oluşturularak hayata geçirilmesi için daha çok çalışma yapılmasının gerektiği öngörülmektedir.

Sonuç olarak;

Bildiğimiz kadarıyla koyun ırklarında vücut büyüklüğüne bağlı seçim imzalarını bildiren ilk çalışmalar yapılmaktadır. Sağlanan havuzlanmış heterozigotluk istatistikleri, diğer ırka özgü seçim imzalarını ve özelliklerini araştırmak için de kullanılabilir. Bu, daha verimli yetiştirme stratejileri oluşturmaya yardımcı olmalıdır,

LCORL lokusunun en az altı memeli türlerinde yükseklik ile ilişkili olduğu bulunduğu için bu lokusun koyun ırklarında da seçim altında olması muhtemeldir,

LCORL lokusundaki genetik varyasyonun, memeli türlerinde boy ve vücut boyutunun belirlenmesinde rol oynadığına dair biriken kanıtlar varken moleküler mekanizma halen belirsizliğini korumaya devam etmektedir,

İrk ortalamalı fenotiplere dayanan bu tip çalışmalar hipotezi doğrulamak için kesin kanıt sağlayamadığından, genotiplerle ayrı ayrı ölçülen boy fenotiplerini ilişkilendiren bir ırk içi ilişki çalışması yapılması ve çalışmamızdan elde edilen bu ön bulguların bu şekilde değerlendirilmesi önerilir.

6. KAYNAKLAR

- Akyüz, B., Şahin, C. (2017). Türkiye’ de yetiştirilen beş sığır ırkında MYF5 gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi, *Mediterr Agric Sci*, 30 (1): 35 – 38.
- Al-Mamun, H., Kwan, P., Clark, S. A., Ferdosi, M. H., Tellam, R., Gondro, C., (2015). A genome-wide association study of body weight in Australian Merino sheep reveals a region orthologous to human and bovine genomic regions in OAR6 that affects height and weight. *Genet Sel Evol*, 14(47): 66.
- Anonim, 2009. TAGEM, Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Katalogu, s: 70-71, Ankara.
- Atasoy, F., Ünal, N., Akçapınar, H., Mundan, D. (2003). Karayaka ve Bafra (Sakız X Karayaka G1) koyunlarında bazı verim özellikleri. *Turk J Vet Anim Sci*, 27(1): 259- 264.
- Başpınar, H., Batmaz, S. (1995). T.C. Hayvancılık Bilgisi Ders Kitabı. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:856 Açıköğretim Fakültesi Yayınları, s: 452.
- Behnke, M., Bang, S., Robin, H. (2017). QTL Mapping and CRISPR/Cas9 Editing to Identify a Drug Resistance Gene in *Toxoplasma gondii*. QTL Mapping and CRISPR/Cas9 Editing published for the identification of a Drug Resistance Gene: June 22, 2017 doi: 10.3791/551851 State Key Agricultural Microbiology Laboratory, College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University. Louisiana.
- Boyko, A. R., Brooks, S. A., Behan-Braman, A., Castelhana, M., Corey, E., Oliveira, K. C., Ainsworth, D. M. (2014). Genomic analysis establishes correlation between growth and laryngeal neuropathy in Thoroughbreds. *BMC genomics*, 15(1): 259.
- Charty, C.L., Johnson, N.A., Hutter, C.M., Reiner, A.P., Peters, U., Tang, H., & Kooperberg, C. (2012). Genome-wide association study of body height in African Americans: The women’ s health initiative SNP health association resource (share). *Hum Mol Genet*, 21(3): 711- 720.
- Chen, S. Y., Duan, Z. Y., Sha, T. Xiangyu, J., Wu, S. F. and Zhang, Y. P. (2006). Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Genet*, 376: 216– 223.

- Daetwyler, H. D., Hickey, J. M., Henshall, J. M., Dominik, S., Gredler, B., Van der Werf, J. H. J., Hayes, B. J. (2010). Accuracy of estimated genomic reproduction values for wool and meat traits in a multi-breed sheep population. *Genet Sel Evol*, 50: 1004– 1010.
- Doğru, Ü., Özdemir, M. (2002). Sığırlarda Süt Protein Polimorfizmi'nin Anlam ve Önemi, *Atatürk Univ., J. of the Agricultural Faculty*, Erzurum, 33(4): 457- 464.
- Dorman, K., Shen, Z., Yang, C., Ezzat, S., & Asa, S. L. (2012). CtBP1 interacts with Ikaros and modulates pituitary tumor cell survival and response to hypoxia. *Mol Endocrinol*, 26(3): 447- 457.
- Ebrahimi, M.T.V., Mohammadabadi, M., Esmailizadeh, A. (2017). Using microsatellite markers to analyze genetic diversity in 14 sheep types in Iran. *Arch Anim Breed*, 60(3): 183- 189.
- Eliçin, A., Okuyan, R. (1975). Entansif Besiye Alınan 7-8 Aylık Anadolu Merinosu ve Akkaraman Kuzuların Karkas Özelliklerine Farklı Enerji Düzeylerinin Etkileri Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı*, 25(3): 548- 562.
- Emsen, E., Koyceyiz, F. (2004). İvesi ve Morkaraman dişi kuzularında büyüme eğrilerinin karşılaştırılması. 4.Ulusal Zootekni Bilim Kongresi. 1-3 Eylül 2004, Isparta, s: 139.
- Ertuğrul, M., Akman, N., Dellal, G., Goncagül, T. (2000). Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları, Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi Yayın No:38, Ankara.
- Ertuğrul, M., Dellal, G., Soysal, İ., Elmacı, C., Akın, O., Arat, S. (2009). Türkiye Yerli Koyun Irklarının Korunması, *Bursa Uludag Üniv Ziraat Fak Derg*, 23(2): 97-119.
- Esenbuğa, N., Macit, M., Karaoglu, M., Aksakal, V., Aksu, M.I., Yoruk, M.A., Gul, M. (2009). Effect of breed on fattening performance, slaughter and meat quality characteristics of Awassi and Morkaraman lambs, *Livest Sci*, 123(2): 255-260.
- Fatima, S. (2006). Study of genetic variability among Gohilwadi, Surti and Zalawadi Goats using microsatellite analysis. Master of Veterinary Science in Animal Genetics and Breeding. Department of Animal Genetics and Breeding, College of Veterinary Science & Animal Husbandry Anand Agriculture University, Master Thesis, Anand. DOI:10.13140/2.1.4660.7040
- Geist, V. (1991). On the taxonomy of giant sheep (*Ovis ammon* Linnaeus, 1766). *Can J Zool*, 69 (3): 706–723.

- Georges, M. (2007). Mapping, Fine Mapping, And Molecular Dissection Of Quantitative Trait Loci In Domestic Animals. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 8: 131-162.
- Graber, J. K., Signer-Hasler, H., Burren, A., Drögemüller, C. (2022). Evaluation of truncating variants in the LCORL gene in relation to body size of goats from Switzerland. *Anim Genet*, 53(2): 237- 239.
- Han, R., Wei, Y., Kang, X., Chen, H., Sun, G., Li, G., Huang. Y. (2012). Novel SNPs In The PRDM16 Gene And Their Associations With Performance Traits In Chickens. *Mol Biol Rep*, 39(3): 3153- 3160.
- Han, Y. J., Chen, Y., Liu, Y., Liu, X. Y. (2017). Sequence variants of the LCORL gene and its association with growth and carcass traits in Qinchuan cattle in China, *J Genet*, 96: 9–17.
- Harley, E. H., Baumgarten, I., Cunningham, J., Ryan, C. O. (2005). Genetic variation and population structure in remnant populations of black rhinoceros, *Diceros bicornis*, in Africa. *Mol Ecol*, (14)10: 2981- 2990.
- HAYGEM, (2022). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Hayvancılık Genel Müdürlüğü. [https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Menu/7/Koyun Yetistiriciligi](https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Menu/7/KoyunYetistiriciligi)]. 22.08.2022
- Horikoshi, M., H, Yaghootkar., DO M. K., U, Sovio., HR Taal. (2013). New loci associated with birth weight identify genetic links between intrauterine growth and adult height and metabolism, *Nat Genet*, 45(1): 76- 82.
- Hu Z. L., Park, C. A., Wu, X. L., Reecy, J. M. (2013). Animal QTLdb: a database tool developed for dissemination of livestock QTL/troop data in the post-genome era. *Nucleic Acids Res*, 41: 871– 9.
- Hu, Z. L., Park, C. A., Fritz, E. R., Reecy, J. M. (2010). 9. Invited Lecture at the World Congress of Applied Genetics in Livestock Production, QTLdb: A Comprehensive Database Tool Building Bridges Between Genotypes and Phenotypes. 1–6 August 2010, Leipzig, Germany.
- İnt. Kay. 1, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize>, 15.08.22
- İnt. Kay. 2, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kirmizi-Et-Uretim-Istatistikleri-2020-2021> 15.08.2022
- İnt. Kay. 3, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/101104320>, 15.08.2022

- Jonas, E., Thomson, P. C., Raadsma, H. W. (2010). Genome-wide association study and fine mapping of QTL in OAR 21 for body weight in sheep. Proceedings of the 9th World Congress of Genetics Applied in Livestock Production: 1-6 August 2010, Leipzig.
- Karaca O., Cemal İ. (1998). Batı Anadolu Koyuncululuğunda Genetik Kaynakların Korunma ve Kullanımı, Ege Bölgesi 1.Tarım Kongresi, Bildiriler (II), 573-582. 7-11 Eylül 1998, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Aydın.
- Kaymakçı, M., Eliçin, A., Tuncel, E., Pekel, E., Karaca, O., Işın, F., Taşkın, T., Aşkın, Y., Emsen, H., Özder, M., Selçuk, E., Sönmez, R. (2000). Türkiye’ de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, 17-21 Ocak 2000, Ankara.
- Kaymakçı, M., Ün, O. C., Bilgen, G., Taşkın, T. (2001). Basic Characteristics of Some Turkish Indigenous Sheep Breeds. *J Anim Prod*, 4(7): 916- 919.
- Kırıkçı, K. (2017). Karakaya Koyun Irkının Genetik Karakterizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s: 5, Samsun.
- Koçak, S., Çelikeloglu, K., Çelik, H. A., Bozkurt, Z., Tekerli, M. (2018). Some lactation traits, somatic cell count and udder characteristics of Pırlak sheep, *Eurasian J Vet Sci*, 34(1): 36- 42.
- Kotze, A., Muller, G. H. (1994). Genetic relationship in South African cattle breeds. In: Proceedings of the 5th world congress on genetics applied to livestock production, Guelph, Canada. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, 21: 413– 416.
- Krutikova, A., Dementieva, N., Nikitkina, E. (2021). Polymorphism of the LCORL gene in PSXIV-23 reindeer, *Anim Sci J*, 99(3): 256– 257.
- La, Y., Zhang, X., Li, F., Zhang, D., Li, Ç., Mo, F., Wang, W. (2019). Molecular Characterization and Expression of SPP1, LAP3 and LCORL and Their Association with Growth Traits in Sheep, *Genes*, 2019, 10(8): 616.
- Lie, R., Sun, T., Zhao, G., Wang, F., Wu, D., Zheng, M., Chen, J., Zheng, L., Hu, Y., Wen, J. (2013). Genome-Wide Association Study Identifies Loci and Candidate Genes for Body Composition and Meat Quality Traits in Beijing-You Chickens, *PLoS ONE*, 8(4): 18.
- Lindholm-Perry A. K., Kuehn, L. A., Oliver, W. T., Sexten, A. K., Miles, J. R., Rempel, L. A., Cushman, R. A., Freetly, H. C. (2013). Adipose and Muscle Tissue Gene Expression of Two Genes (NCAPG and LCORL) Located in a Chromosomal Region Associated with Cattle Feed Intake and Gain. *PLoS ONE*, 8(11): 20.

- Liu, D. (2015). Analysis of haplotype and linkage disequilibrium of the NR6A1, PLAG1 and LCORL genes in the min pig population, Northeast Agricultural University, Master Thesis, 27s, Harbin.
- Maijala, K. (1983). Genetic diversity of European Livestock Breeds. eds: Simon D. L., Boucehuquer D., Wageningen Pers Wageningen, Netherlands, s: 66.
- Makvandi-Nejad, S.; Hoffman, GE; Allen, JJ; Chu, E.; Gu, E.; Chandler, AM; Lored, AI; Bellone, RR; Mezey, JG; Brooks, SA; et al. (2012) Four loci account for 83% of the size variation in the horse. *PLoS ONE*, 2012(7): 7.
- McClure, M. C., Morsci, N. S., Schnabel, R. D., Kim, J. W., Yao, P., Rolf, M. M., McKay, S. D., Gregg, S. J., Chapple, R. H., Northcutt, S. L., Taylor, J. F. (2010). A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, postnatal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. *Anim Genet J*, 41(6): 597 -607.
- Metzger, J., Schimpf, R., Philipp, U., Distl, O. (2013). Expression levels of LCORL are associated with body size in horses. *PLoS ONE*, 8(2), doi: 10.1371/journal.pone.0056497.
- Mostafavi, A., Fozi, M. A., Koshkooieh, A. E., Mohammedabadi, M., Babenko, O. I., Klopenko, N. I. (2020). Effect of LCORL gene polymorphism on body size traits in equine populations, *Acta Scientiarum. Anim Sci*, 42, <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v42i1.47483>.
- Mularoni, L., Ledda, A., Toll-Riera, M., Alba, M. M. (2010). Natural selection allows amino acid tandem repeats to accumulate in human proteins, *Genome Res*, 20: 745– 754.
- Nishimura, S., Watanabe, T., Mizoshita, K., Tatsuda, K., Fujita, T., Watanabe, N., Sugimoto, Y., Takasuga, A. (2012). Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. *BMC Genetics*, 13: 40.
- Nuzhdin, S.V., Harshman, L.G., Zhou, M., & Harmon, K. (2007). Genome-Enabled Hitchhiking Mapping Identifies QTLs For Stress Resistance In Natural *Drosophila*. *Comparative Study, Heredity*, 99(3): 313- 321.
- Olsen, H. G., Meuwissen, T. H., Nilsen, H., Svendsen, M., Lien, S. (2008). Fine mapping of quantitative trait loci on bovine chromosome 6 that influence calving challenge. *J Dairy Sci*, 91(4312): 22.

- Öner, Y., Elmacı, C. (2007). Keçilerde Süt Proteinleri Polimorfizmi. *J Anim Prod*, 48(2): 49-54.
- Perera, B. M. A. O., Abeygunawardena, H., Vale, W. G., Chantalakhana, C. (2005). Buffalo. In: “Livestock and Wealth Creation-Improving the Husbandry of Animals Kept by Poor People in Developing Countries”. Nottingham University Press, 451- 471, United Kingdom.
- Plassais, J., Kim, J., Davis, BW., Karyadi, D. M., Hogan, A. N., Harris, A. C., Decker, B., Parker, H. G., Ostrander, E. A. (2019). Whole genome sequencing of canids, genomic regions under selection, and morphology revealing variants, *Nat Commun*, 10: 1489.
- Reed, C. (1960). A review of the archaeological evidence on animal domestication in the prehistoric near east, in prehistoric investigations in Iraqi kurdistan, *Studies In Ancient Oriental Civilization*, s: 119– 145.
- Rubin, C. J., Megens, H. J., Bariio, A. M., Maqbool, K., Sayyab, S., Schwochow, D., et al. (2012). Strong signatures of selection in the domestic pig genome, *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 19529 – 19536.
- Ryder, M, L., Mason, S, L. (1984). Sheep. In: *Evolution of domesticated animals* London: Longman, s: 63– 85.
- Saatchi, M., Schnabel, R. D., Taylor, J. F., Garrick, D. J. (2014). Large-acting pleiotropic or closely related QTL splits within and among ten US cattle breeds. *BMC Genomics*, 15: 442.
- Safari, E., Fogarty, N. M., Gilmour, A. R. (2005). A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproductive traits in sheep. *Live Prod Sci*, 92(3): 271– 289.
- Said, R., Henkel, J., Jagannathan, V., Drögemüller, C., Flury, C., Leeb, T. (2020). The LCORL Locus Is under Selection in Large-Sized Pakistani Goat Breeds. *Genes*, 11(2): 168.
- Salako, A., Ngere, L. (2002). Application Of Multifactorial Structural Discriminant Analysis In The Morphometric Structural Differentiation Of West African Dwarf And Yankassa Sheep In South West Nigeria. *Niger. J Anim Pro*, 29(2): 163- 167.
- Schröder, W. (2010). Athletic performance and conformation in Hanoverian warmblood horses Population Genetic and Genome-wide Association Analyses Cumulative Thesis. Hannover University of Veterinary Medicine. 18s, Hannover.
- Setoguchi, K., Watanabe, T., Weikard, R., Albrecht, E., Kühn, C., Kinoshita, A., Sugimoto, Y., Tagasuka, A. (2011). The SNP c.1326T>G in the non-SMC condensin I complex,

- subunit G (NCAPG) gene encoding a p.Ile442Met variant is associated with an increase in body frame size at puberty in cattle, *Anim Genet J*, 42: 650 – 655.
- Signer-Hasler, H., Burren, A., Ammann, P., Drögemüller, C., Flury, C. (2019). Runs of homozygosity and signatures of selection: A comparison among eight local Swiss sheep breeds. *Anim Genet J*, 50: 512– 525.
- Signer-Hasler, H., Flury, C., Haase, B., Burger, D., Simianer, H., Leeb, T., Reeder, S. (2012). A Genome-Wide Association Study Reveals Loci Influencing Height and Other Conformation Traits in Horses. *PLoS ONE*, 7(5), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037282>.
- Soysal, M.İ., Özkan, E. (2004). Zooteknik Anlamda Irk. Türkiye Yerli Hayvan Genetik Kaynaklarımız Ders Kitabı, s: 1.
- Sönmez, R., Kaymakçı, M., Eliçin, A., Tuncel, Erdoğan., Wassmuth, R., Taşkın, T. (2009). Türkiye Koyun Islahı Çalışmaları, *Bursa Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg*, 23(2): 43- 65.
- Staiger, E, A., Al Abri, M, A., Pflug, K, M., Kalla, S, E., Ainsworth, D, M., Miller, D., Raudsepp, T., Sutter, N, B., Brooks, S, A. (2016). Skeletal variation in Tennessee Walking Horses maps to the LCORL/NCAPG gene region, *Pysiol Genom*, 48(5): 325-335.
- Şahin, A., Ulutaş, Z. (2010). Amasya hayvancılığının mevcut durumu, *Hasad*, 26(305): 50- 57.
- Tautz, D. (1993). Notes on the the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences. DNA Fingerprinting: State of the Science, Part of the series Progress in Systems and Control Theory, s: 21-28.
- Tetens, J., Widmann, P., Kühn, C., Thaller, G. (2013). A genome-wide association study identifies LCORL/NCAPG as a candidate locus for wither height in German Warm-blooded horses. *Anim Genet J*, 44: 467– 471.
- Ulutas, Z., Sezer, M., Aksoy, Y., Sirin, E., Sen, U., Kuran, M., Akbas, Y. (2010). The Effect of birth types on growth curve parameters of Karayaka lamb, *J Anim Vet Adv*, 9(9): 1384-1388.
- Vinayagam, A., Stelzl, U., Foulle, R., Plassmann, S., Zenkner, M., Timm, J., Wanker, E, E. (2011). A directed protein interaction network for investigating intracellular signal transduction. *Sci Signal*, 4(189), doi: 10.1126/scisignal.2001699.

- Wang, J., Li, Z.J., Lan, X.Y., Hua, L.S., Huai, Y.T., Huang, Y.Z., Wang, J.Q. (2010). Two Novel SNPs In The Coding Region Of The Bovine Prdm16 Gene And Its Associations With Growth Traits. *Mol Biol Rep*, 37(1): 571- 577.
- Wood, A. R., Esko, T., Yang, J., Vedantam, S., Pers, T. H., Gustafsson, S., et al. (2014). Defining the role of common variation in the genomic and biological architecture of adult human height, *Nat Genet*, 46: 1173 – 1186.
- Yalcin, B.C. (1986). Sheep And Goats in Turkey. Fao Animal Production and Protection Paper, 60. Roma.
- Yang, J., Hu, C., Hu, H., Yu, R., Xia, Z., Ye, X., & Zhu, J. (2008). QTLNetwork: Mapping And Visualizing Genetic Architecture Of Complex Traits In Experimental Populations. *Bioinformatics*, 24(5): 721- 723.
- Yilmaz, M., Altin, T., Karaca, O., Cemal, I., Bardakcioglu, H.E., Yilmaz, O., Taskin, T. (2011). Effect of body condition score at mating on the reproductive performance of Kivircik sheep under an extensive production system. *Trop Anim Health Prod*, 43(8): 1555-1560.
- Zeder, M.A. (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(33): 11597– 11604.
- Zhang, L., Liu, J., Zhao, F., Ren, H., Xu, L., Lu, J., Zhang, S., Zhang, X., Wei, C., Lu, G. (2013). Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep. *PLoS ONE*, 8(6), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066569>.
- Zhang, W., Li, J., Guo, Y., Zhang, L., Xu, L., Gao, X., Zhu, B., Gao, H., Ni, H., Chen, Y. (2016). Multi strategy genome-wide association studies identify the DCAF16-NCAPG region as a susceptibility locus for average daily gain in cattle. *Sci Rep*, 6(38073), doi: 10.1038/srep38073.



