



**HOLSTEİN BUZAĞILARDA PİT-1 VE CSN3
GENLERİ POLİMORFİZMİ VE BUZAĞI
DOĞUM AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ**

İsmail FINDIK

**Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Ana Bilim Dalı
Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR
2021**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANA BİLİM DALI

**HOLSTEİN BUZAĞILARDA PİT-1 VE CSN3 GENLERİ POLİMORFİZMİ VE
BUZAĞI DOĞUM AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ**

(Polymorphism of Pit-1 and CSN3 genes in Holstein calves and its effects on calf birth weight)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İsmail FINDIK

Danışman: Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR

Erzurum
Aralık, 2021

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

İsmail FINDIK tarafından hazırlanan “**HOLSTEİN BUZAĞILARDA PİT-1 VE CSN3 GENLERİ POLİMORFİZMİ VE BUZAĞI DOĞUM AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ**” başlıklı çalışması 29/11/2021 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Zootekni** Ana Bilim Dalı, **Biyometri ve Genetik** Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof.Dr. Vecihi AKSAKAL (Bayburt Üniversitesi)	Aslı ıslak imzalıdır
Danışman:	Prof.Dr. Memiş ÖZDEMİR (Atatürk Üniversitesi)	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof.Dr. Nurinisa ESENBÜĞA (Atatürk Üniversitesi)	Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak *Prof.Dr. Memiş ÖZDEMİR* danışmanlığında sunulan “Holstein Buzağlarda Pit-1 ve CSN3 Genleri Polimorfizmi ve Buzağı Doğum Ağırlığı Üzerine Etkileri” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	28	30
Kuramsal Temeller	29	30
Materyal ve Yöntem	10	35
Bulgular ve Tartışma	7	20
Tezin Geneli	16	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
İsmail FINDIK	Prof.Dr. Memiş ÖZDEMİR
14.12.2021	14.12.2021
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yapılan bu çalışma 2021-2022 yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni bölümünde Yüksek Lisans Tez Çalışması olarak hazırlanmıştır. Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi yardımını esirgemeyen ve her türlü desteği gösteren ANNEM, BABAM ve kardeşim MEHMET MUHAMMED FINDIK'a sevgi ve saygılarımı sunarım.

Eğitim dönemi sürecinde bana her türlü desteği sağlayan, laboratuvar çalışmalarında yol gösteren Sayın Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR'e minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında; kendisine her gittiğimde bana yardımcı olan ve kendi ekipmanını kullanmama izin veren Sayın Doç. Dr. Sinan Kopuzlu'ya minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarının her türlü aşamasında bilgisi ve tecrübesiyle bana yardım eden Sayın Dr. Öğretim Üyesi Zeynep SÖNMEZ'e minnet ve teşekkürlerimi sunarım.



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HOLSTEİN BUZAĞILARDA PIT-1 VE CSN3 GENLERİ POLİMORFİZMİ VE BUZAĞI DOĞUM AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

İsmail FINDIK

Danışman: Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR

Amaç: Bu çalışmada, Gümüşhane'nin Kelkit ilçesinde özel bir işletme'de yetiştirilen Holstein ırkı buzağılara ait Pit-1 ve CSN3 genleri polimorfik yapılarının incelenmesi, genotip ve allel frekanslarının dağılımının belirlenmesi, tespit edilen polimorfik yapıların buzağılara ait doğum ağırlığı üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılan kan örnekleri 100 baş Holstein ırkı buzağılardan alınmıştır. Alınan kan örneklerinden izole edilmiş DNA'larda, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak Pit-1 ve CSN3 genlerine ait Hinf1 polimorfizmleri tanımlanmıştır. PCR-RFLP ürünleri elektroforez ortamında yürütülerek sonuçlar ultraviyole (UV) cihazında bantlar halinde görüntülenmiştir. Araştırmada genotip, allel frekans dağılımları ve popülasyonun Hardy-Weinberg genetik denge testleri yapılmıştır. Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 polimorfik yapılarının buzağı doğum ağırlığı üzerine etkileri araştırıldı.

Bulgular: Çalışılan popülasyonda Hardy-Weinberg genetik denge testine göre Pit-1 genine ait Hinf1 polimorfizmi genotip frekansları dağılımının dengede olduğu ($P>0.05$) ancak incelenen CSN3 gen polimorfizmi bakımından dengede olmadığı ($P<0.05$) gözlenmiştir. Popülasyondaki Pit-1 genine ait AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla %13.4, %40.2 ve %46.3, A allelinin frekansı 0.34 ve B allelinin frekansı 0.66 olarak tespit edilmiştir. CSN3 genine ait AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla %24.5, %36.7 ve %38.8, A allelinin frekansı 0.43 ve B allelinin frekansı 0.57 olarak tespit edilmiştir. Yapılan ilişkilendirme analizlerinde hem Pit-1/Hinf1 hemde CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait genotipler ile incelenen buzağı doğum ağırlığı arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı görülmüştür.

Sonuç: Holstein ırkı buzağılardan alınan kan örneklerinden PCR-RFLP yöntemi ile Hinf1 enzimi kullanılarak Pit-1 ve CSN3 genotipleri tespit edilmiştir. İncelenen Holstein buzağı popülasyonunda Pit-1 gen lokusu dağılımının Hardy-Weinberg prensibine göre genetik dengede olduğu, ancak CSN3 gen lokusu dağılımının dengede olmadığı görülmüştür. Pit-1 ve CSN3 gen polimorfizmi bakımından belirlenen genotip ve allel frekansları buzağı popülasyonunun genotip çeşitliliğini ortaya koymada yeterli olduğu görülmüştür. Her iki polimorfik bölge genotipleri ile Buzağı doğum ağırlığı arasında istatistiksel olarak herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Pit-1, CSN3, polimorfizm, PCR-RFLP, Holstein buzağı, Hinf1

Aralık 2021, 44 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

POLYMORPHISM OF PIT-1 AND CSN3 GENES IN HOLSTEIN CALVES AND ITS EFFECTS ON CALF BIRTH WEIGHT

İsmail FINDIK

Supervisor: Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR

Purpose: In this study, it was aimed to examine the polymorphic structures of Pit-1 and CSN3 genes of Holstein calves bred in Gümüşhane, to determine the distribution of genotype and allele frequencies, and to examine the effects of determined polymorphic structures on some performance characteristics of calves.

Method: HinfI polymorphisms of Pit-1 and CSN3 genes were identified in DNA isolated from blood samples of 100 Holstein calves used in the study, using the PCR-RFLP method. PCR-RFLP products were run in electrophoresis medium and the results were visualized as bands in an ultraviolet (UV) device. In the study, genotype, allele frequency distributions and Hardy-Weinberg genetic equilibrium tests of the population were performed. The effects of Pit-1/Hinf1 and CSN3/Hinf1 polymorphism on calf birth weight were investigated.

Findings: According to the Hardy-Weinberg genetic equilibrium test, it was observed that the distribution of genotype frequencies of HinfI polymorphisms of Pit-1 genes in the studied population was in equilibrium ($P>0.05$), but not in equilibrium in terms of CSN3 gene location ($P<0.05$). The AA, AB and BB genotype frequencies of the Pit-1 gene in the population were 13.4%, 40.2% and 46.3%, respectively, the frequency of the A allele was 0.34 and the frequency of the B allele was 0.66. The AA, AB and BB genotype frequencies of the CSN3 gene were found to be 24.5%, 36.7% and 38.8%, respectively, the frequency of the A allele was 0.43 and the frequency of the B allele was 0.57. In the association analysis, there were no statistically significant effects on the calf birth weight examined with the genotypes of both Pit-1/Hinf1 and CSN3/Hinf1 polymorphisms.

Results: Pit-1 and CSN3 genotypes were determined from blood samples taken from Holstein calves by PCR-RFLP method using HinfI enzyme. It was observed that the distribution of Pit-1 gene locus in the examined Holstein calf population was in genetic equilibrium according to the Hardy-Weinberg principle, but the distribution of the CSN3 gene locus was not in equilibrium. Genotype and allele frequencies determined in terms of Pit-1 and CSN3 gene polymorphisms were found to be sufficient to reveal the genotype diversity of the calf population. No statistically significant relationship was found between the genotypes of both polymorphic regions and calf birth weight.

Keywords: Pit-1, CSN3, polymorphism, PCR-RFLP, Holstein calf, Hinf1

December 2021, 44 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
GİRİŞ.....	1
Araştırmanın amacı	3
KURAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR.....	4
MATERYAL ve YÖNTEM.....	13
Yöntem.....	13
Hayvanlardan Kan alımı	13
DNA İzolasyonu.....	13
PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) işlemi	14
Restriksiyon enzimiyle DNA'ların kesimi.....	15
BULGULAR VE TARTIŞMA.....	18
PCR sonuçlarının gözlenmesi	18
PCR-RFLP Sonuçları	18
Gen ve Genotip Frekansları ile Genetik Denge Testi Sonuçları	19
Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 Genleri Fenotiplerinin Buzağı Doğum Ağırlığı Üzerine Etkisi	22
SONUÇ.....	24
KAYNAKÇA	25
ÖZGEÇMİŞ.....	32

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Pit-1 ve CSN3 genlerine ait primer dizilimleri.....	15
Tablo 2. Pit-1 ve CSN3 gen bölgeleri için PCR bileşenleri ve ilgili miktarları	15
Tablo 3. Pit-1 ve CSN3 gen bölgeleri için PCR programı.....	15
Tablo 4. Buzağılara ait Pi-1 ve CSN3 genleri, Genotip ve Allel Gen Frekansları	21
Tablo 5. Hardy-Weinberg genetik denge testi sonuçları	23
Tablo 6. Pit-1/HinfI ve CSN3/HinfI polimorfizmlerinin buzağı doğum ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	24
Tablo 7. Pit-1 ve CSN3 genotiplerinin buzağı doğum ağırlığı (kg) bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Pit-1 PCR ürünlerinin UV altında %1,2'lik agaroz jelde görünümü (M:markör, 1.-10. <i>Pit-1</i> :260 bç).....	19
Şekil 2. CSN3 PCR ürünlerinin UV altında %1,2'lik agaroz jel görünümü (M: markör, CSN3:351 bç).....	19
Şekil 3. <i>Pit-1</i> /Hinf1 polimorfizmine ait PCR-RFLP jel görüntüsü: AA;260 bç, AB;160/190/70 bç, BB;190/70 bç.....	20
Şekil 4. CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait PCR-RFLP jel görüntüsü: AA;131/89 bç, AB;262/131/89 bç, BB;262/89 bç.....	20
Şekil 5. Holstein buzağlarının <i>Pit-1</i> /Hinf1 polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekansları.....	22
Şekil 6. Holstein buzağlarının CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekansları.....	22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm
bç	: Baz çifti
C	: Sitozin
CSN1	: Alfa Kazein
CSN2	: Beta Kazein
CSN3	: Kappa kazein
°C	: Santigrat Derece
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleosid Trifosfat
dATP	: Deoksiadenozin Trifosfat
dCTP	: Deoksisitidin Trifosfat
dGTP	: Deoksiguanozin Trifosfat
dTTP	: Deoksitimidin Trifosfat
DALP	: Direct Amplification of Length Polymorphisms
EDTA	: Etilen DiaminTetra-Asetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromür
g	: gram
G	: Guanin
GH	: Growth Hormon
GHR	: Büyüme hormon reseptörü
GHRH	: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon
GWAS	: Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
Hinf1	: Haemophilus Influenzae RF1
Kb	: Kilo baz
kCn	: Kappa Kazein
Kg	: Kilogram
LALBA	: α -laktoalbumin
LGB	: β laktoglobulin
LEP	: Leptin

MAS	: Marker Asisted Selection
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
ng	: nanogram
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PIT-1	: Hipofiz spesifik transkripsiyon faktörü 1
PRL	: Prolaktin
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RAPD	: Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RE	: Restriksiyon Endonükleaz
SSCP	: Single-stranded conformational polymorphism
SNP	: Single nucleotid polymorphism
STS	: Sequence Tagged Site
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
TBE	: Tris Borik Asit EDTA
QTL	: Kantitatif karakter lokus
UV	: Ultra violet (Ultra viyole)
VNTR	: Variable number of tandem repeats
V	: Volt
µl	: Mikrolitre
<	: küçüktür
>	: büyüktür

GİRİŞ

Sığırların ıslahı esas itibarıyla süt verimi ve et verim özelliklerine yönelik olarak seleksiyonla gerçekleştirilmektedir. İlgili verim özellikleri kantitatif karakterler olup, birden fazla gen tarafından kontrol edilmektedir. Bu özelliklere ait fenotipik değer doğrudan genotipik değer ile hesaplanamamaktadır. Dolayısıyla sadece fenotipe dayalı seleksiyon ile doğru ve güvenilir bir ilerleme sağlanamamaktadır. Bu nedenle üzerinde durulan karakterin genotipik değerinin tahmin edilmesi büyük önem arz etmektedir (Özdemir ve Doğru, 2008).

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, dünyada giderek artan insan ihtiyaçlarını karşılayabilecek daha verimli ve çok yönlü ırklar üzerinde çalışmak amaçlanmaktadır. Çiftlik hayvanlarında kantitatif verim özelliklerini etkileyen, genetik yapıyı tanımlamada ve ıslah programına alınacak hayvanın belirlenmesinde büyük kolaylıklar sağlayan markörler kullanılmakta ve tanımlanmaktadır. Markör Destekli Seleksiyon (MAS; Marker Assisted Selection) olarak tanımlanan bu yeni uygulamada, hayvan ıslahı programlarında kullanılmak üzere farklı moleküler markörler ve çeşitli moleküler genetik yöntemler geliştirilmiştir (Wang, 2012). Benzer genetik çeşitlilik gösteren çok sayıdaki birey ile bu bireylerin kantitatif karakter farklılıkları arasındaki ilişkileri GWAS (Genome-wide association studies; Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) sistemi inceler. Bu sistem organizmaların genom farklılıklarının DNA dizi analizleriyle ortaya konmasını ve geniş SNP (Single Nucleotide Polymorphism; tek nükleotid polimorfizmleri) verilerinin oluşturulması gibi genotipleme teknolojilerinin ilerlemesini sağlamıştır. Böylece tüm genomda genetik ilişkilendirme haritalarının yapılması mümkün olmuş ve birçok karmaşık özelliğin genetiği ile ilgili çalışmaların yapılmasına imkan sağlamıştır (Klein et al., 2005; Höglund et al., 2014).

Generasyon aralığı kısa, döl verimi ve süt verimi bakımından üstün bireyler, süt sığır işletmelerinin karlılığı açısından oldukça önemlidir. Süt verimi, kalıtım derecesi düşük ve poligenik kalıtım yolu izleyen kantitatif bir özelliktir. Bu nedenle süt verimi için klasik seleksiyon yöntemleri ile hedeflenen genetik ilerlemenin elde edilmesi oldukça uzun ve masraflı olmaktadır. Bu tür kantitatif özelliklerin ıslahında klasik seleksiyon yöntemlerinin sahip olduğu dezavantajlar ancak moleküler markörlerden yararlanılmak suretiyle giderilebilir (Erhardt and Weimann, 2007; Özdemir ve Doğru, 2008). Çiftlik hayvanlarında “markör gen” olarak adlandırılan ve incelenen fenotiplerle ilişkisi ortaya konulan bazı genlerden ıslah amaçlı yararlanarak hayvanların bazı önemli verim karakterleri ile birlikte sağlık ve refah gibi özelliklerinde iyileştirilmesinde başarı oranının artabileceği düşünülmektedir.

Çiftlik hayvanlarının seleksiyonunda genetik markör kullanımı, hayvanları değerlendirmek ve bu hayvanların sahip oldukları yararlı özellikleri çalışmayı mümkün kılar. Genetik markörler hem tek bir geni hemde bir özellik veya özellik grubuna ait gen grubunun tanımlanmasında kullanılabilir. Genetik markörlerin diğer avantajı; hayvanları değerlendirme metodunun güvenilirliği, ekonomik olarak bağımsızlığı ve genç yaşta kontrol seleksiyonu ve teknolojik olarak değerli genleri belirlemeye izin vermesidir. Seleksiyonda genetik markör kullanarak seleksiyon sürecini hızlandırabilir, tarımsal üretimin kalitesini artırabilir, üretim maliyetini düşürebilir ve diğer üretici firmalarla rekabete girilebilir.

Birkaç önemli çalışmada, genetik polimorfizmler ve çeşitli çiftlik hayvanlarında verim özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir (Khatami et al., 2005; Zhang et al., 2013). Genetik polimorfizmlerin ve moleküler belirteçlerin kullanılması, çiftlik hayvanı seçimi ve yetiştiriciliğinin hızını ve verimliliğini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Dario et al., 2009). Aday genler genellikle süt verimi ve canlı ağırlık artışı gibi nicel özellikler üzerindeki fizyolojik veya biyolojik etkileri veya bu özellikleri etkileyen genlerle fiziksel ilişkileri nedeniyle seçilmektedir (Unanian et al., 2002). Hayvanların verimliliğini etkileyen özelliklerin çoğu karmaşıktır ve hayvanların beslenmesi ile bakımı gibi çevre faktörlerinden büyük ölçüde etkilenir. Bununla birlikte, moleküler biyoloji ve biyoteknolojideki son gelişmeler, markör destekli seleksiyonun (MAS) verim özelliklerinin daha doğru ve etkili seçimini sağlayacağını göstermektedir (Hua et al., 2009; Litwińczuk and Krol., 2002).

Sığırlar üzerinde yapılan ilişkilendirme çalışmalarında, süt verimi ile ilişkili birçok markör genin olduğu bildirilmiştir (Jiang et al., 2010). Süt veriminin ıslahı ile ilgili yapılan çalışmalarda çoğunlukla kapa-kazein ve beta-laktoglobulin gibi süt protein genleri incelenmiştir (Parmentier ve ark., 1999). Bu genleri, büyüme hormonu (GH) ve hipofiz bezi transkripsiyon faktörü 1 (Pit-1) gibi genler izlemiştir (Dybus et al., 2003; 2005).

Çiftlik hayvanlarında et verimi için bir belirteç görevi görebilecek bir gen, hipofize özgü transkripsiyon faktörü (Pit-I, POU1F1 olarak da bilinir) genidir. POU transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesi olan Pit-I, hayvanlarda büyüme ve gelişmeyi düzenler (Zhang et al., 2009). Sığırlarda 1. kromozomda yer alan Pit-I, memelilerde hipofiz gelişiminde ve somatik hücrelerin çoğalmasında ve büyüme hormonu (GH) ve prolaktin (PRL) hormonunun salgılanmasında rol oynamaktadır (Zhang et al., 2009; Aytakin vd. 2013). Pit-I'in yokluğu veya yetersiz ifadesi, hem insanlarda hem de farelerde cücelikle ilişkili bulunmuştur (Pfaffle et al., 1992). Pit-I geninin meme bezi gelişimine ve süt üretimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Cohen et al., 1997; Mangalam et al., 1989; Moddy et al., 1995). Dünyada ve Türkiye'de süt üretimi için

en önemli sığır ırkı Holstein sığırlarıdır. Holstein sığırlarının toplam sayısı son yıllarda sürekli olarak artmakta ve Holstein ırkı sığırlar ile yapılan melezleme çalışmaları ile de yerli ırkların sayısı azalırken verimlilikleri artmaktadır.

Markör destekli seleksiyon; verim unsurları, hastalığa karşı direnç, abiyotik strese karşı tolerans ve kalite (et ve süt kalitesi) gibi özellikler ile ilişkili bulunan genetik belirleyicilerin (markör) dolaylı olarak seleksiyonda kullanımını içeren bir süreç olarak ifade edilebilir (Özdemir ve Doğru, 2008). İlgili özellik üzerinde veya ona yakın bulunan ve polimorfizm gösteren markörlerden amaç, markör allel frekanslarındaki farklılıklar ile ele alınan verim özelliği arasında bir ilişkinin varlığını ortaya koymaktır. Günümüzün moleküler genetik yöntemleri, gelecek generasyonu oluşturacak yüksek verimli hayvanların seçimi için, üzerinde durulan özelliklerle yüksek bir ilişkiye sahip, hayatın erken dönemlerinde ve cinsiyete bağlı kalmaksızın tespit edilebilen genetik markör ya da karakterlerden yararlanmayı mümkün hale getirmektedir. Böylece, ıslah çalışmalarında, hayvanın genetik değeri daha yüksek bir doğrulukla tahmin edilmekte ve bunun sonucu olarak seleksiyonla elde edilen genetik kazanç artmakta, daha hızlı, ekonomik ve daha doğru seleksiyon yapılmasına imkan sağlanmaktadır (Özdemir ve Doğru, 2008).

Araştırmanın amacı

Bu çalışmada, Gümüşhane’de özel bir işletmede yetiştirilen Holstein ırkı buzağılara ait Pit-1 ve CSN3 (kappa kazein) genleri polimorfik yapılarının incelenmesi, genotip ve allel frekanslarının dağılımının belirlenmesi, ayrıca tespit edilen polimorfik yapılarının buzağı doğum ağırlığı üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

KURAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR

Sığırların genetik değeri sahip oldukları genotip yapılarına ait damızlık değeri ile ölçülür. Yani bir genotipin genetik değerinin en iyi ve doğru şekilde tahmini ölçüsü olarak damızlık değeri kullanılmaktadır. Teoride damızlık değeri, hayvanın sahip olduğu tüm genlerin ortalama etkileri toplamı ile ölçülmektedir. Başka bir ifade ile, damızlık değeri toplanabilir gen etkilerinin bir sonucudur. Seleksiyona tabi tutulan bir populasyonun genetik yapısını ve potansiyelini geliştirmek ancak ve ancak genotipik değere dayalı bir seleksiyon ile sağlanabilir (Vanlı, 1987). Poligenik kalıtıma sahip kantitatif özelliklerde, fenotipik karakter genotipin iyi bir göstergesi olmayabilmektedir. Bu nedenle, fenotipik değer ile yapılan seleksiyon her zaman başarılı olmamakta ve dolayısıyla ele alınan kantitatif özellikle ilgili genotipik değer tahmininde daha sağlıklı sonuç veren yöntemlerden yararlanmak gerekmektedir (Vanlı, 1987).

Markör Destekli Seleksiyon (MAS)

İslah programlarında incelemeye tabi tutulan aday genden kasıt, fonksiyonel bir gene yakın şekilde bağlı ve/veya ilgili özelliğin fonksiyonu üzerine herhangi bir biyolojik etkiye sahip gen olarak tanımlanabilir. Seçilen aday genler içinde veya yakın bölgedeki mevcut genetik farklılıkların etkilerini görmek amacıyla kantitatif özelliklerle olan ilişkileri incelenmekte ve dolaylı seleksiyon programlarında kullanılabilirlikleri araştırılmaktadır (Wu vd. 2005). Bu gibi genlerin düzenleyici yada yapısal bölgelerinde varolan allelik varyasyonlar, verim üzerinde kalitatif yada kantitatif farklılaşmalara yol açabilmektedir (Beckmann and Soller, 1983). Hatta, intron yada genin yan dizilimlerinde meydana gelen varyasyonların da genetik markör olarak değerlendirilebileceği rapor edilmiştir (Beckmann and Soller, 1983).

Klasik seleksiyon yönteminde sığır, koyun, keçi gibi daha uzun generasyon aralığına sahip hayvanlar için genetik ilerleme hızı oldukça yavaş olmaktadır. Geleneksel seleksiyon metodlarına ilave olarak kullanılan markör yardımcı seleksiyonun, generasyon aralığını kısaltabileceği, genetik ilerlemeyi doğru yönde ve hızlı şekilde sağlayabileceği ve kantitatif özellikler için çok etkili olabileceği vurgulanmıştır (Drogemuller et al., 2001).

Kashi et al., (1990), çiftlik hayvanlarında genetik kazanç oranının markör destekli seleksiyon ile %15-30'a kadar arttırılabileceğini bildirmektedir.

Edwards and Page (1994), uygulanan seleksiyon modeline bağlı olarak MAS ile beklenen toplam kazancın % 44.7 den % 99.5'e kadar bir aralıkta seyredebileceğini

belirtmişlerdir. MAS uygulamanın kalitatif özellikler için yapılan seleksiyonun doğruluğunu geliştirilebileceği ifade edilmektedir (Brenneman et al., 1996).

Bishop et al., (1995), yeni teknolojiler ile birlikte MAS kullanmanın, sığırlarda generasyon aralığını 69 aydan 45 aya kadar kısalttığını bildirmişlerdir.

Çalışmalardan çıkardığımız sonuç, geleneksel seleksiyon yöntemlerine ilave olarak MAS uygulamasına yer verilmesi gerektiği ve bu amaca yönelik olarak yapılacak çalışmalarla genlerin seleksiyona olan katkısı incelenmeli ve mevcut seleksiyon yöntemi içerisinde uygulanan MAS payının ne kadar olabileceği tartışılmalıdır (Özdemir ve Doğru, 2008). Tabiki ilave olarak, günümüz moleküler genetik teknikleri ile MAS amaçlı yararlı genetik markörleri tespit etmek en öncelikli adımdır.

Genetik markörler, direkt gen markörleri ve bağlı gen markörleri olarak iki şekilde değerlendirilmektedir. Direkt gen markörleri, bir gen bölgesi içinde kodlanan yada kodlanmayan DNA sırasındaki varyantlar olarak tanımlanırken, bağlı gen markörleri, aynı kromozom kolu üzerinde bir ya da daha fazla genin yan yana bulunması olarak tanımlanmaktadır (Hetzel, 2004). Populasyonda istenilen genlerin frekansını artırmak suretiyle yapılan seleksiyona dayalı yetiştirme programlarında kullanılabilen genetik markörler, özellikle maliyeti yüksek ve doğru bir biçimde ölçülmesi zor olan, yada yaşamın daha sonraki dönemlerinde veya sadece eşeyin birinde görülebilen kantitatif özelliklerin ıslahı için oldukça yararlıdır.

Günümüzde genetik markör belirleme yöntemleri moleküler genetik teknik alanındaki gelişmelere paralel olarak seyretmektedir. mtDNA, PCR-RFLP, SSCP, VNTR, mikrosatellitler, SNPs, AFLP, RAPD, ve DNA dizilimi gibi bir çok moleküler teknik bunlardan bazılarıdır (Ihara et al., 2004; Özdemir ve Doğru, 2008). Bu yöntemlerden bazıları örneğin mikrosatellit markörler, hem biyoçeşitlilik hemde MAS amacıyla bir çok çalışmada incelenmiş ve tanımlanmıştır (Ashwell et al., 1997; Van Tassell et al., 2000; Ron et al., 2004; Chen et al., 2006). Yaygın kullanım alanına sahip bir diğer yöntem olan PCR-RFLP, sığırlarda genetik farklılığı belirlemek için ucuz, hızlı ve doğru bir metot olarak önerilmekte ve genler üzerindeki yada yakın bölgelerindeki polimorfizmlerin ortaya konması amacıyla çalışmalarda kullanılmaktadır (Özdemir ve Doğru, 2008).

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), çeşitli Restriksiyon endonükleazlar (RE)'lar ile DNA kesimi sonucu oluşan DNA fragmentlerinin büyüklüğü ve sayısını karşılaştırmak esasına dayanır. Bantlanan örnekler, restriksiyon kesim bölgelerinin varlığı veya

yokluğu ile ortaya çıkar ki değişim mutasyon sonucudur. Genetik mesafe, populasyonun varyasyonu, gen akışı, etkili populasyon büyüklüğü, tarihi biyografi örnekleme, akrabalık testi gibi çalışmalarda uygulama alanlarına sahiptir (Meghen et al., 2002).

Çiftlik hayvanlarında özellikle de sığırlarda sütün üretim sürecinde rol oynayan gen ve bu genlerdeki polimorfizmlerin belirlenmesi ve süt verim özelliklerinin ıslahında kullanılması ile ilgili araştırmalar yoğun ilgi görmektedir (Maryam et al., 2014). Bu amaçla farklı ülkelerde ve farklı ırklar üzerinde yapılan çalışmalar sonunda süt proteinlerinden κ -kazein ve β -laktoglobülin, GH, LEP, MYF5, DGAT1, GHR ve Pit-1 genleri gibi bazı hormon ve protein genlerinin süt verimini artırmada aday gen olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Chrenek et al., 2003; Hradecká et al., 2008; Jiang et al., 2010; Komisarek et al., 2011; Thuy et al., 2018; Kızılcı vd., 2019).

CSN3 (Kappa Kazein) geni

Kazein, süt, peynir ve tereyağı kalitesini çeşitli şekillerde etkileyen ve esas olarak ikincil süt ürünlerinin stabilizasyonunu kontrol eden kazein misellerinin oluşumu yoluyla etkileyen bir meme bezi salgısıdır (Masina vd. 2007). Süt proteininin% 80'ini oluşturur ve süt kalitesi, peynir ve tereyağı oluşumunda ve kazein misellerinin pıhtılaşması, stabilizasyonu ve toplanmasında önemli rollere sahiptir (Khaizaran et al., 2014; Kamiński et al., 2007; Gedik, 2009). Kazein dört ana proteinden oluşur: CSN1S1 (α -s1), CSN1S2 (α -s2), CSN2 (β -) ve CSN3 (κ -kazein) (Otaviano et al., 2005; El Nahas et al., 2013). CSN3 geni, sütün kalitesi ve pıhtılaşmasında ve ayrıca kazein misellerinin oluşumu, stabilizasyonu ve agregasyonunda çok önemli bir role sahiptir. Bu nedenle, CSN3'ün genetik varyantları sütün protein içeriği, peynir verimi ve verim sıklığı ile ilişkilidir ve pıhtılaşma süresi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. CSN3'ün süt üretimi üzerindeki büyük etkisi, sığır, keçi, koyun ve bufalo gibi bu gen bölgesi üzerinde çok sayıda çalışmaya yol açmıştır (Othman et al., 2011; Feligini et al., 2005; Ren et al., 2011). Sığır CSN3, kromozom 6 (6q31) üzerinde bulunur ve toplam uzunluğu 13 kb'dir. 5 ekson ve 4 intron içerir ve olgun protein kodlama dizilerinin çoğu 4. ekzondadır (Khaizaran et al., 2014).

Birçok varyantı bulunan CSN3'ün en çok A ve B alleleline rastlanılmakta ve incelenmektedir. 169 aminoasitten oluşan CSN3'ün 136. ve 148. kodonları bu allelik varyasyon için belirleyici olmaktadır. Nitekim, A allelinde 136. kodonda treonin (ACC), 148. kodonda aspartik asit (GAT) varken, B allelinde sırasıyla, izolösin (ATC) ve alanin (GTC) yer almaktadır (Kaminski 1996). Bu allel farklılığı, bazı restriksiyon endonükleazlar (AluI, HindIII, HinfI, TaqI) tarafından kolaylıkla tespit edilebilmektedir (Doğru vd. 2008). Bu allellerin

dışında çoğunun nadir görüldüğü A1, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, H, I, ve J allelleri de tanımlanmıştır (Threadgill and Womack 1990; Caroli et al., 2009; Prinzenberg et al., 1999).

Holstein ırkı boğalar üzerinde PCR-RFLP yöntemiyle belirlenen CSN3 genotiplerinin çeşitli verim özelliklerinin ilişkilendirildiği bir çalışmada, 43 boğa arasında B allelinin frekansı 0.105 ve A allelinin frekansı 0.895 olarak bulunmuştur. Çalışmada AB genotipli boğaların AA genotipli boğalardan süt, protein ve yağ verimi bakımından daha yüksek babalık yeteneğine sahip oldukları tespit edilmiştir (Hu and Mao, 1995). Ayrıca, CSN3 B alleleline sahip sığırlar A alleleline sahip sığırlardan daha yüksek süt protein verimine sahip oldukları ve diğer sütlerin peynir üretiminden daha iyi sonuç verdikleri bildirilmiştir (Hu and Mao, 1995).

Özdemir ve Doğru (2005), Türkiyede yetiştirilen Esmer İsviçre ve Siyah Alaca sığırları üzerinde Nişasta-Jel elektroforezi yöntemi ile CSN3 gen polimorfizmini incelemişlerdir. Çalışmada her iki ırkta da CSN3 genotip grupları ile yağ oranı ve 305 gün yağ verimi arasında önemli ilişkiler tespit ederken, incelediği diğer süt verimi, 305 gün süt verimi, yağ verimi ve laktasyon süresi gibi özellikleri ile genotip grupları arasında anlamlı ilişkiler tespit edilemediğini bildirmişlerdir. İncelenen her iki ırkta da CSN3 B geni frekansının artırılmasıyla sığırlarda önemli verim özelliklerinin ıslahında önemli yol katedilebileceği önerilmiştir (Özdemir ve Doğru, 2005).

Strzalkowska et al., (2002), Polonya’da yetiştirilen 102 Siyah Alaca inekler üzerinde CSN3 genotipleri ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkilerini araştırdıkları çalışmalarında, CSN3 geni A ve B allel gen frekanslarını sırasıyla 0.77 ve 0.23 olarak bildirmişlerdir. Ele alınan süt verim özellikleri üzerine CSN3 lokusu genotip gruplarının etkilerinin anlamlı olduğunu belirlemişlerdir (Strzalkowska et al., 2002). Sonuç olarak, sığırların seleksiyon programlarında CSN3 genotiplerinin değerlendirilmesi gerektiği ve süt verim özelliklerinin ıslahına önemli katkı sağlayabileceği önerilmiştir.

Lunden et al., (1997), CSN3 polimorfizmine bağlı olarak yaptıkları çalışmada, B alleleline sahip sığırların A alleleline sahip sığırlara göre daha yüksek süt verimi, soğutmaya karşı sütün daha iyi stabilize olduğu, daha iyi peynir verimine ve daha kısa sürede peynir oluşumuna sahip olduklarını göstermişlerdir.

Doğru vd. (2008), PCR-RFLP yöntemiyle sığırlarda CSN3 geni polimorfik (A ve B tipleri) yapılarını belirlemek amacıyla AluI, HindIII, HinfI ve TaqI enzimlerini kullandıkları çalışmalarında, kullanılan enzimlerin, verim özellikleri ile ilişkili CSN3 genini genotiplerine doğru ve etkili şekilde ayırdığını bildirmişlerdir.

Caroli et al., (2009), CSN3 geni polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında, heterozigot genotipe sahip sığırların ortalama bir durum seyretmesine rağmen, A alleleline sahip sığırlardan elde edilen sütler göre, B alleleline sahip olan sığırlardan elde edilen sütlerin, peynir mayası ile reaksiyona daha kısa sürede girdiği ve peynir pıhtısı oluşum süresinin kısa olduğunu bildirmişlerdir.

Akyüz vd. (2013), 50 Simmental ırkı hayvanla CSN3 gen polimorfizmlerini belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, CSN3'ün genotiplerini AA (%25,8), BB (%3,8) ve AB (%20,4) olarak belirlemişlerdir. CSN3'e ait allel frekanslar ise %72 değeri ile en yüksek A allelinde ve %28 değeri ile B allelinde saptanmıştır. Bu ırka ait genotip frekans dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre dengede ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir (Akyüz et al. 2013)

Akyüz ve Çınar (2014), Simmental ırkla CSN3 gen polimorfizmini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada, ırka ait CSN3 geninin AA, AB ve BB genotiplerinin frekansları sırasıyla 0,500, 0,343 ve 0,157, A ve B allel gen frekansları ise 0,671 ve 0,329 olarak belirlenmiştir. Ayrıca genotip frekans dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre dengede ($P>0.05$) olduğu bildirilmiştir.

Soyudal (2017) tarafından Holstein ırkı ineklerde CSN3 gen polimorfizmi ile laktasyon süt verimi ve 305-günlük süt verimi arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Yapılan çalışmada aynı sürüde bulunan 189 baş Holstein inekte CSN3 gen polimorfizmi ile laktasyon süt verimi arasında ilişki bulunmazken, 305-günlük süt verimi arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ($P<0.005$). CSN3 için AA, AB ve BB genotipleri belirlenmiş ve 305-gün süt verimi ortalamaları bakımından en yüksek 305 gün süt verimine heterozigot yapıda olan AB genotipine sahip (8633 kg) ineklerde rastlanırken, en düşük 305-gün süt verimine BB genotipine sahip (8287 kg) ineklerde rastlanmıştır.

Hipofiz spesifik transkripsiyon faktörü 1 (Pit-1) geni

Hipofiz spesifik transkripsiyon faktörü 1 (Pit-1), memelilerde hipofiz gelişimi ve hormon üretiminden sorumludur (Othman et al., 2011; Misrianti et al., 2011). Büyüme hormonu ve PRL ekspresyonunu düzenleyen ve somatotropik ve laktotrofik hücrelerde hormona özgü aktivatörlerin ekspresyonunda rol oynayan bir gendir (Scully et al., 2000). Prolaktin geninin, büyüme hormonu geninin, tiroid stimülasyon hormonu b-alt biriminin, büyüme hormonu salgılayan hormon reseptör genlerinin ve Pit-1 geninin ekspresyonunu düzenler. Pit-1, büyüme,

karkas ve süt verimi özellikleri için aday bir genetik belirteçtir (Othman et al., 2011; Khaizaran et al., 2014).

Sığırlarda yaklaşık 33 kDa ağırlığında ve 291 amino asitten oluşan hipofiz spesifik transkripsiyon faktör-1 (pituitary specific transcription factor-1, Pit-1 veya POU1F1), hipofiz bezinin gelişimi ve hipofiz bezinin hormon salgılamasından sorumlu, hipofiz spesifik bir transkripsiyon faktörüdür (Renaville et al., 1997). Sığır karyotipinin 1. kromozomunda (BTA1) bulunan ve 5 intron ile 6 eksona sahip olan PIT-1 genindeki bazı mutasyonların hipofiz tarafından salınan büyüme, prolaktin ve tiroid uyarıcı hormonlarının (TSH) üretiminin durmasına veya az üretilmesine sebep olduğu bildirilmiştir (Renaville et al., 1997; Thuy et al., 2018). Bu görevlerinden dolayı Pit-1 geninin çiftlik hayvanlarında süt üretiminin artırılması, büyüme ve gelişmenin düzenlenmesinde iyi bir aday gen olduğu düşünülmüştür (Zhang et al., 2009; Heidari et al., 2012).

Pit-1 (pituitary-specific transcription factor Pit-1): GH faktör-1 ya da POU1F1 olarak da ifade edilmektedir ve GH, PRL ve TSH-beta alt biriminin salgılanmasında pozitif düzenleyici bir rol üstlenmektedir. PRL ve GH, meme bezi gelişimi ve süt verimi için gerekli olduğundan (Bauman et al., 1985; Peel and Bauman., 1987) dolayı, Pit-1 geni genetik varyasyonunun verim özellikleri ile ilişkili olabileceği ve markör olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür.

Sığırlarda, Pit-1 ekson 6 üzerindeki bir SNP, restriksiyon endonükleaz HinfI ile karakterize edilebilen bir A'dan G'ye mutasyona sahiptir. Bu polimorfizm sessiz bir mutasyondur ve Pit-1 A ve Pit-1 B allellerini saptamak için birçok çalışmada kullanılmıştır.

Renaville et al., (1997) İtalyan Holstein Frisian boğaları üzerinde yaptıkları çalışmada Pit-1 A allelinin, süt ve protein verimi üzerine etkili olduğu ve ayrıca vücut derinliği, kalça dolgunluğu ve arka bacak yapısı üzerine pozitif etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir.

Oprzadek et al., (2003) Holstein sığır ırkı üzerinde yaptıkları araştırmada, karkas özellikleri üzerine Pit-1 genotiplerinin önemli etkileri olduğunu göstermişlerdir.

Etçi sığırlar üzerine yapılan bir ilişkilendirme çalışmasında, Pit-1 geni ve et verimi özellikleri arasında anlamlı ilişkiler bulunamamıştır (Di Stasio et al., 2002).

Angus sığırlarında Pit-1 geni polimorfizmi ile gelişme ve karkas özellikleri arasında herhangi bir önemli ilişki bildirilmemiştir (Zhao et al., 2004).

Zhao et al., (2001), Angus sığırları üzerinde Pit-1/Hinf1 polimorfik yapılarını inceledikleri çalışmalarında, polimorfik yapılar ile doğum ağırlığı ($p=0.03$) ve sütten kesim ağırlığı ($P<0.01$) arasında önemli ilişkiler bildirmişlerdir. Pit-1 geninin Angus ırkı sığırlarda seleksiyon için aday gen olabileceğini belirtmişlerdir.

Dybus et al., (2003a), Limousine ırkına ait 130 buzağı üzerinde PCR-RFLP metodu kullanarak ortaya koydukları Pit-1 geni polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekanslarını sırasıyla, AA-0.0692, AB-0.4077, BB-0.5231 ve A-0.2731, B-0.7269, olarak tespit ederken, tespit edilen polimorfik yapılar ile buzağılara ait verim özellikleri arasında anlamlı ilişkiler olduğunu bildirmişlerdir.

Romanya Simmental sığırları üzerinde PCR-RFLP metodu kullanılarak Pit-1/Hinf1 polimorfizminin incelendiği çalışmada, Pit-1/Hinf1 AA genotipi 0.07, AB genotipi 0.53 ve BB genotipi 0.40, Pit-1/Hinf1 allel gen frekansları A ve B alleli için sırasıyla 0.33 ve 0.67 olarak bildirilmiştir. Çalışmada Pit-1 genotipleri ile incelenen süt verim özellikleri arasında önemli ilişki tespit edilememiştir (Vlaic et al., 2003).

Groza et al., (2005), Romanya süt inekleri üzerinde CSN3 ve Pit-1 polimorfik yapılarını incelemişler ve Pit-1 AA genotipi ve A allelinin yüksek süt verimi ve protein içeriğiyle ilişkili olduğu, κ -Cn BB genotipinin ise yüksek protein içeriğiyle ilişkili bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada, süt ırkı sığırların ıslahı ve seleksiyonunda genetik markör kullanmanın yararlı olacağı önerilmiştir.

Curi et al., (2006), et ırkı sığırlar üzerinde POU1F1/Hinf1 polimorfizmi allel ve genotip frekanslarını tahminleme ve fedlot yöntemiyle elde edilen büyüme ve karkas özelliklerine mevcut polimorfizmin etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, POU1F1/Hinf1 polimorfizminin hayvanların incelenen verim özellikleri üzerine önemli bir ilişkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

Xue et al., (2006), 100 Nanyang sığırının büyüme özellikleri üzerine etkili olan POU1F1 geni genetik varyasyonunu inceledikleri çalışmalarında, Hinf1 enzimi kesimi sonrası polimorfik bölgenin allel frekansları; A alleli 0.465 ve B alleli 0.535 olarak tespit edilirken, populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir. Büyüme özellikleriyle yapılan ilişki analizlerinde ise; doğum ağırlığı, sütten kesim süresi ağırlık artışı, 12 aylık canlı ağırlık, kesim zamanı canlı ağırlık, vücut uzunluğu, ve 6. ve 12. ay göğüs derinlikleri bakımından BB genotipli sığırları AA genotipli sığırlara göre daha üstün olduklarını

bildirmişlerdir ($P<0.05$). Çalışma sonucunda, B allelinin sığırlarda büyüme özelliklerini pozitif yönde etkilediği belirtilmiştir.

Cosier (2006), Romanya’da yetiştirilen Simmental ırkı sığırlar üzerinde Pit-1 geni RFLP/Hinf I polimorfizmini incelemiş, A ve B allel gen frekanslarını 0.22 ve 0.78 olarak, genotip frekanslarını ise; AA genotipi 0.118, AB genotipi 0.20 ve BB genotipi 0.69 olarak bildirmiştir. Çalışmada ayrıca, A alleleline sahip olan ineklerin B alleleline sahip olanlardan daha yüksek süt ve protein verimine sahip oldukları ve daha iyi vücut konformasyon skoru gösterdikleri belirtilmiştir.

Bufalolar üzerinde yapılan bir çalışmada, sığır Pit-1 polimorfizminin süt verimi ve süt konformasyon özellikleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Othman et al., 2011).

181 Holstein ve 71 Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) sığırda, Pit-1/HinfI geni polimorfizmi PCR-RFLP yöntemleriyle genotiplendiği bir çalışmada, Pit-1 geninde AA, AB ve BB genotiplerinin frekanslarını DAK için sırasıyla %14, %54, %32 ve Holstein için % 4, % 31, % 65 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca her iki ırkın Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bildirilmiştir (Özdemir, 2012).

Aytekin ve Boztepe (2013), 301 Esmer İsviçre sığırı üzerinde Pit-1 polimorfizmini araştırdıkları çalışmada, Pit-1 genotipleri ile 305 gün süt verimi, test günü süt verimi, yağ, protein, laktoz, yoğunluk gibi özellikleri arasındaki ilişkileri değerlendirmişlerdir. Pit-1 geni polimorfizminde A alleli 0.374 ve B alleli 0.626 frekansında bulmuşlardır. Hardy-Weinberg dengesinde olan çalışmalarında, Pit-1 polimorfizmlerinin Esmer İsviçre popülasyonunda süt verimi ve kompozisyonu üzerine etkisini önemsiz olarak gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında süt özelliklerinin seçilmesinde aday bir gen olarak Pit-1 polimorfizminin kullanılamayacağını ifade etmişlerdir.

Pit-1 genlerindeki polimorfizmlerin saptanması ve Slovak Simmental inek popülasyonundaki süt performansı özelliklerinin etkileşimine bakılan çalışmada, Pit-1 geni için baskın allel olarak 0.77 frekansla B alleli ve BB genotipi için frekansı 0.60 olarak hesaplamışlardır. BB genotipinin süt performansına etkisinin anlamlı bulunduğu çalışmada, genotip’in süt verimi üzerinede olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Trakovička et al., 2015).

Irak bölgesinde yetiştirilen melez ineklerde Pit-1 geninin genetik polimorfizmleri araştırmak amacıyla yapılan çalışmada, Hardy-Weinberg dengesine göre hesaplanan allellik

frekansları A alleli 0.16 ve B alleli 0.84 olarak bulunmuş ve AA genotipinin süt verimine olumlu katkısı olduğu ifade edilmiştir (Hussain, 2016).

Bayram vd. (2017), Türkiye'de Kayseri civarında yetiştirilen Holstein ırk sığırlarda (n=352) Pit-1 genlerinin polimorfizmlerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmalarında, Pit-1/HinfI polimorfizmlerini PCR-RFLP metoduyla belirlemişlerdir. En yüksek frekans A allelinde 0,87 olarak görülmüş olup ve AA genotplerinin süt verimine olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir

181 Holstein sığırlar üzerinde yapılan bir çalışmada, Pit-1/HinfI polimorfik bölgeleri ile incelenen bazı verim zellikleri (Gerçek süt verimi, 305gn süt verimi, Eriřkin Süt verimi, Pik süt verimi, Pik Süt verimi süresi ve laktasyon uzunluğu) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkilerin bulunmadığu bildirilmiştir (zdemir vd. 2018).

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Gümüşhane ili Kelkit ilçesinde faaliyet gösteren Doğan Organik Ürünler A.Ş. işletmesinden aynı yıl ve mevsimde doğan 100 Holstein ırkı buzağılara ait bireysel kan örnekleri ile doğum ağırlığı kayıtları materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmanın laboratuvar aşamaları Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Moleküler Genetik Laboratuvarında yürütülmüştür.

Yöntem

Hayvanlardan Kan alımı

Gümüşhane ili Kelkit ilçesinde faaliyet gösteren Doğan Organik Ürünler A.Ş. işletmesinden aynı yıl ve mevsimde doğan 100 Holstein ırkı buzağıdan 10 ml'lik K3 EDTA(Etilen DiaminTetra-Asetik Asit)'lı vakumlu tüplere kan örnekleri alınmış, numaralama ve etiketleme işlemleri tüp üzerine kaydedildikten sonra bu tüpler +4 °C buz kalıplarının bulunduğu soğutucu taşıma çantaları ile Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarına taşınmıştır.

DNA İzolasyonu

Holstein ırkı buzağılardan elde edilen kan örneklerinden aşağıdaki DNA izolasyon (Qiagen Purgene DNA isolation kit) prosedürü uygulanarak genomik DNA'lar elde edilmiştir. İşlemler Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

2 ml'lik tüp hazırlandı. Üzerine 900 µl RBC eklendi. Üzerine 300 µl kan eklendi. Oda ısısında 10-15 dk bekletildi(arada bir alt üst edildi). 13000 g'de 1 dk santrifüj edildi, süpernatant (üst kısım) bir pipet yardımıyla tüpün dibinde 5-10 µl kalacak şekilde atıldı ve tam homojen olması için vorteks yapıldı. Üzerine 300 µl cell lysis eklendi ve alt üst edildi. Üzerine 100 µl protein precipitation eklendi ve vorteks yapıldı. 13000 g'de 2 dk santrifüj edildi. 2. bir tüp hazırlandı ve üzerine 300 µl (2- propanol) izopropanol eklendi. 1. Tüpteki süpernatant 2. tüpe eklendi ve iyice alt üst edilerek DNA'nın görülmesi sağlandı. 13000 g'de 2 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.(Süpernatantı atarken alkolü döküp, DNA'nın dökülmemesine dikkat edilir. Birsüre alkol için tüpün ağzı açık tutuldu. Sonra üzerine 300 µl % 70'lik etanol eklendi. 13000 g'de 2 dk santrifüj edildi, süpernatant 5-10 dk açık havada kuruması için bekletildi. DNA miktarına göre 100 µl dehidrasyon solusyonu eklendi. 5 dk kadar 65 °C'de bekletildi. DNA

çözöldükten sonra (kısa, orta ve uzun vade için +4,-20 ve -80'de depolandı (çözölmemişse 37 °C'de 15 dk bekletilerek pipetaj yapıldı).

% 1,2'lik agaroz jeli hazırlama;

0,60 gr agaroz üzerine 150 ml TBE(1X) eklenir ve çalkalanır. 4 dk mikrodalgada kaynatılır. Mikrodalgadan çıkardıktan sonra üzerine 10µl Etbromür eklenir. Tablaya dökülür ve donması beklenir.

% 2'lik agaroz jeli hazırlama;

3,1 gr agaroz üzerine 155 ml 1X TBE buffer eklenir ve çalkalanır. 4 dk mikrodalgada kaynatılır. Mikrodalgadan çıkardıktan sonra üzerine 10µl EtBr eklenir. Tablaya dökülür ve donması beklenir.

PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) işlemi

Genomik DNA'dan ilgili gen bölgelerinin çoğaltılması için uygulanan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) işleminde kullanılan primerler Tablo 2'de, PCR için gerekli malzemeler ve miktarları Tablo 3'de ve ilgili PCR programları Tablo 4'de sunulmuştur.

Tablo 1. Pit-1 ve CSN3 genlerine ait primer dizilimleri

	Primerler	Boyut	Referans
Pit-1	F: 5'-ACT CGC TAT TAC ACA ATA GGA GCC T-3' R: 5'-TCC TGC CAA CTC CTC ACC TCC C-3'	260 bç	(Özdemir, 2012)
CSN3	F: 5'- ATT TAT GGC CAT TCC ACC AA-3' R: 5'- ATT AGC CCA TTT CGC CTT CT-3'	351 bç	(Doğru vd. 2008)

Tablo 2. Pit-1 ve CSN3 gen bölgeleri için PCR bileşenleri ve ilgili miktarları

Malzeme	Hacim
dNTP	1 µl
Taq	0.5 -1 U
MgCl ₂ (25 mM)	1 µL
10x buffer	3 µL
Primer F	1 µL
Primer R	1 µL
Genomik DNA	100-150 ng
distile su	15ul

Her bir gen bölgesi için PCR işlemleri, her bir genomik DNA örneklerinden 0,2ml’lik tüplere ayrı ayrı 3–5 μ l alınmış ve üzerine Tablo 2’de belirtilen miktarlarda malzeme eklenerek, tüpler flashing santrifüjleme ile santrifüj edilmiştir. Sonrasında tüpler dikkatlice

PCR cihazına yerleştirilmiş ve Tablo 3’de belirtilen PCR programı ile PCR işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. Pit-1 ve CSN3 gen bölgeleri için uygulanan PCR programı

Bölge	Sıcaklık	Süre	Döngü	Basamak
Pit-1	94 °C	5 dk	33 Döngü	Başlangıç
	94 °C	45 sn		Ayrılma
	60 °C	45 sn		Bağlanma
	72 °C	50 sn		Uzama
	72 °C	5 dk		Son uzama
CSN3	94 °C	5 dk	30 Döngü	Başlangıç
	94°C	45 sn		Ayrılma
	60 °C	45 sn		Bağlanma
	72 °C	60 sn		Uzama
	72 °C	7 dk		Son uzama

PCR ürünlerinin gözlenmesi

PCR işlemi sonrasında amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek için %1’lik agaroz jelde her bir PCR ürünü yürütülmüştür. Bu amaç için her bir PCR ürününden 8 µl aldıktan sonra parafin kâğıt üzerinde bulunan yükleme tamponu ile karıştırılmış sonra otomatik pipet aracılığı ile 1XTBE tamponuyla dolu olan elektroforez tankındaki jel kuyucuklarına yüklemesi yapılmış ve 80 Watt’da 20 dakika yürümeye bırakılmıştır. Daha sonra jeldeki bantları UV ışığı ile görüntülenmiştir. Amplifikasyonu gerçekleşmiş olanlar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

PCR-RFLP Metodu

Restriksiyon enzimiyle DNA’ların kesimi

Çalışmada hem Pit-1, hem de CSN3 gen bölgeleri polimorfizmini tespit etmek için kullanılan restriksiyon enzimi HinfI olup, 5’-3’ tanıma bölgesi GA[^]TC dizilimidir. PCR-RFLP için, PCR işlemi tamamlanan her bir örnekten yaklaşık 8-10 µl alınıp 0,2 ml’lik steril tüplere konularak üzerine 6-8 U ilgili bölge için restriksiyon enzimi olan HinfI, 6-8 µl RE tamponu (Buffer Tango ve Buffer R), 5-7 µl distile saf su eklendi ve üzerine 6-8 µl Mineral oil eklenerek yüzeyi kapatıldı. Daha sonra etüvde 37 °C’de 12 saat inkübasyon işlemi gerçekleştirildi.

Hinf1 ile kesilen ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi ve genotipleme

Hinf1 ile DNA'ların kesim işlemleri tamamlandıktan sonra sucunu gözlemlemek için; etüvden çıkarılan restriksiyon kesimi uygulamış örneklerin her birine, 3 µl yükleme tamponu olan bromfenol boyası ilave edildi. Mineraloil'den arındırılması için mikropipet yardımıyla parafilm üzerinde tüm ürünler gezdirildi. Daha önceden hazırlanan %2'lik agaroz jele ayrı ayrı yüklenerek 1XTBE tamponuyla doldurulmuş olan elektroforez tankına jel yerleştirildi. Daha sonra 45 V'da 90 dak süreyle elektroforez işlemine tabi tutuldu. Elektroforez işlemi sonrasında jel alınarak UV ışığı altında herbir ürün standart markör yardımıyla genotiplendi. Her bir buzağıya ait genotipler belirlendikten sonra sonuçlar bilgisayara kaydedildi.

İstatistiksel analizler

Buzağı popülasyonundaki genotip ve allel sayıları jel görüntülerine bakılarak tespit edilmiştir. Genotip frekansları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$f(CC)=p^2=\sum(AA)/N$$

$$f(CT)=2pq=\sum(AB)/N$$

$$f(TT)=q^2=\sum(BB)/N$$

Denklemden;

N:İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Popülasyonların genotip frekanslarına göre allel frekansları aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$f(C)=p=(2n_{AA} + n_{AB})/2N$$

$$f(T)=q=(2n_{BB} + n_{AB})/2N$$

$p+q=1$ eşitliğine göre

Eşitliklerde ;

$f(C)=p$ =A allelinin frekansını,

$f(T)=q$ =B allelinin frekansını,

N:İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Gen frekanslarının standart hataları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$St. Hata=\sqrt{q(1-q)/2N}$$

Burada;

q =Verilen bir allel genin frekansını

N =İncelenen toplam birey sayısı

Verimle ilişkilendirme analizlerinde, elde edilen veriler Varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve bu amaçla SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır. Buzağılara ait verim özelliklerinden doğum ağırlığı özelliği esas alınmış ve genotip farklılıkları ortaya konmaya çalışılmıştır.

Araştırmadaki verim özelliklerine göre aşağıdaki istatistiksel model kullanılmıştır.

$$Y_{ij} : \mu + a_i + e_{ij}$$

Y_{ij} : Herhangi bir buzağının ele alınan performans (doğum ağırlığı, yaşama gücü) özelliklerine ait değeri

μ : popülasyon ortalaması

a_i : i.Genotip etkisi (i:1-3; AA:1 ,AB:2 , BB:3)

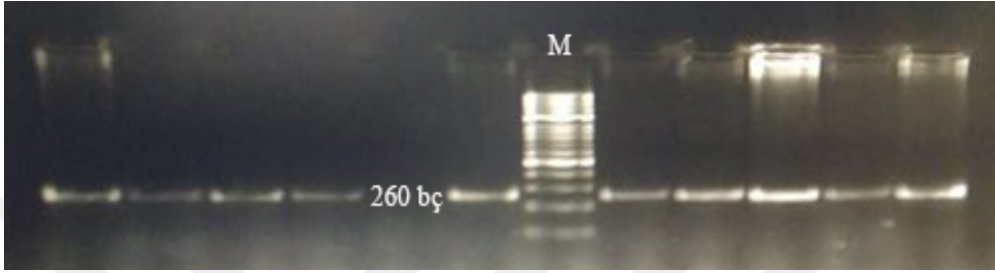
e_{ij} : Hata payı

Kullanılan modelde, genotip sabit hata ise şansa bağlı olarak kabul edilmiştir.

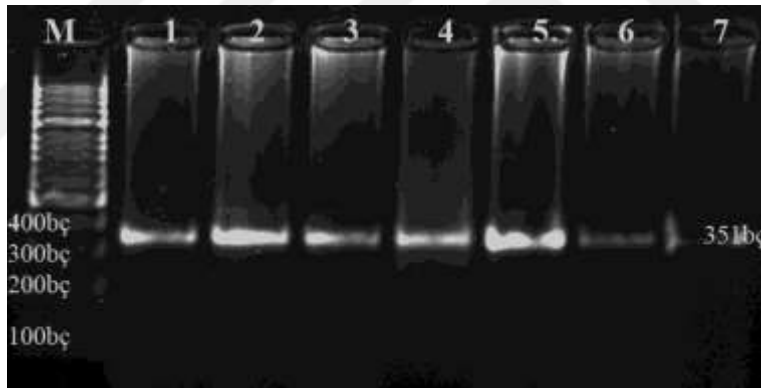
BULGULAR VE TARTIŞMA

PCR sonuçlarının gözlenmesi

Holstein buzağı kanlarından elde edilen genomik DNA örneklerinin her birine Pit-1 ve CSN3 gen bölgeleri için ayrı ayrı PCR yapılarak %1,2'lik agaroz jelde yürütülmüş ve DNA bantları elde edilmiştir. Şekil 1 ve 2'de PCR ürünlerine ait UV ışığı altındaki agaroz jel görüntüsü görülmektedir.



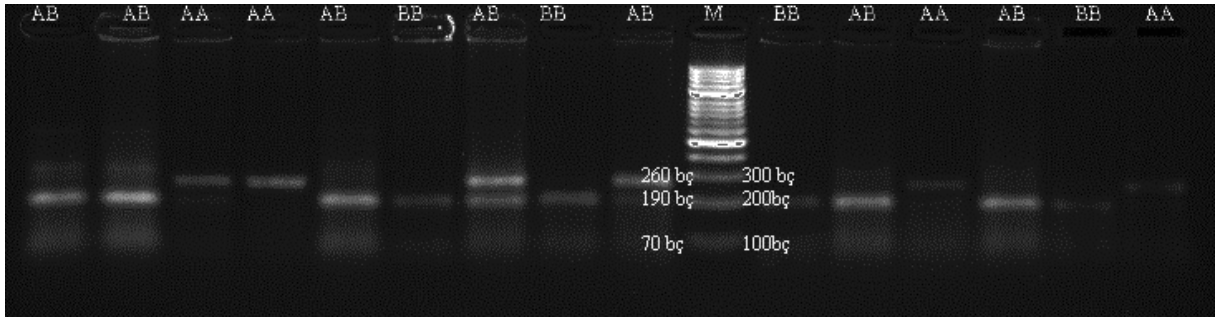
Şekil 1. Pit-1 PCR ürünlerinin UV altında %1,2'lik agaroz jel görünümü (M:markör, 1.-10. Pit-1:260 bç)



Şekil 2. CSN3 PCR ürünlerinin UV altında %1,2'lik agaroz jel görünümü (M: markör, CSN3:351 bç)

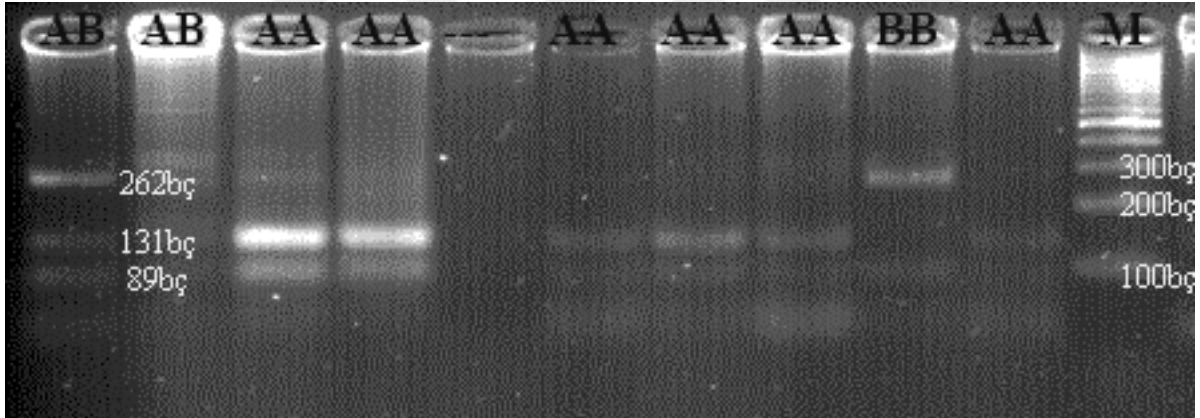
PCR-RFLP Sonuçları

Holstein buzağılardan elde edilen DNA örnekleri Pit-1 ve CSN3 genleri için ayrı ayrı PCR cihazında çoğaltılmış ve *HinfI* Restriksiyon Endonükleaz enzimiyle kesilmesiyle Pit-1 ve CSN3 genleri polimorfik bölgeleri tespit edilmiştir. Teorik olarak Pit-1 genotipleri; AA:260 bç, BB:190/70 bç ve AB:260/190/70 bç uzunluğunda bantlar vermektedir. Şekil 3'de UV ışığı altında Pit-1/*HinfI* polimorfizmi PCR-RFLP sonucuna ait örnek bir agaroz jel görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 3. *Pit-1/Hinf1* polimorfizmine ait PCR-RFLP jel görüntüsü: AA;260 bç, AB;160/190/70 bç, BB;190/70 bç.

Holstein ırkı buzağılardan elde edilen DNA örnekleri PCR cihazında çoğaltılmış ve *HinfI* Restriksiyon Endonükleaz enzimiyle kesilmesiyle *CSN3* geni polimorfik bölgeleri tespit edilmiştir. teorik olarak; BB; 262-89, AA;131-89 ve AB;262-131-89 bç uzunluğunda bantlar vermektedir. 131. bç bölgesindeki kesim yeri polimorfik olarak tanımlanırken, 262 bç'deki kesim bölgesi standart kesim yeri olarak görülmüştür. Şekil 4'de *CSN3/Hinf1* polimorfizmine ait PCR-RFLP sonucunun örnek bir agaroz jel görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 4. *CSN3/Hinf1* polimorfizmine ait PCR-RFLP jel görüntüsü: AA;131/89 bç, AB;262/131/89 bç, BB;262/89 bç.

Gen ve Genotip Frekansları ile Genetik Denge Testi Sonuçları

Araştırmada hem *Pit-1/Hinf1* ve hem de *CSN3/Hinf1* gen bölgeleri üzerinde 3 farklı genotip AA, AB ve BB tanımlanmıştır. Tespit edilen genotipler ve allel gen frekansları Tablo 4'de, Hardy-Weinberg Genetik Denge Testi ve χ^2 bağımsızlık testi sonuçları Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo 4. Buzağılara ait Pit-1 ve CSN3 genleri, genotip ve allel gen Frekansları

Genotip	PİT-1		CSN3	
	n	%	n	%
AA	11	13.4	24	24.5
AB	33	40.2	36	36.7
BB	38	46.3	38	38.8
Allel Gen Frekansı (%)	A	B	A	B
	34	66	43	57

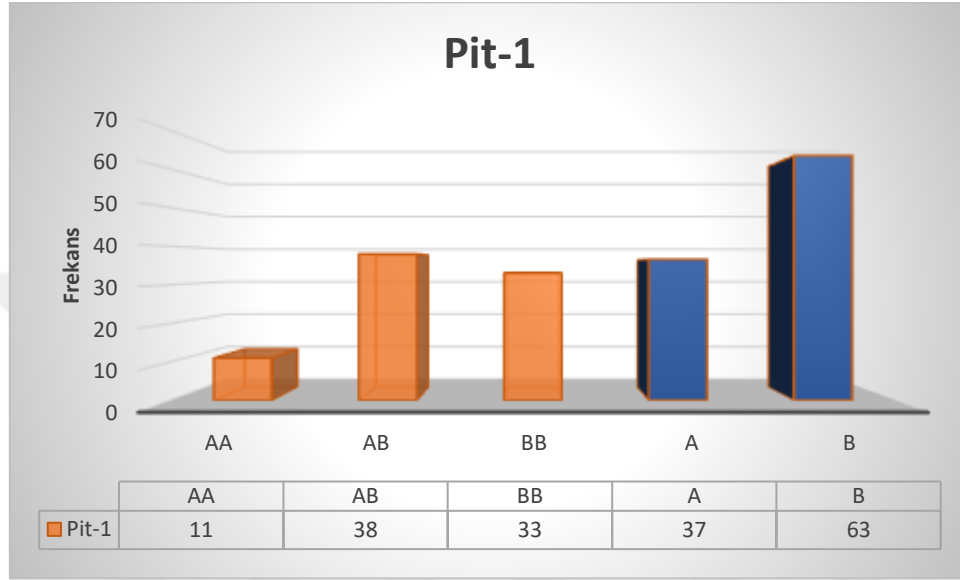
Buzağı popülasyonu Pit-1/Hinf1 polimorfizmi allel gen frekansları bakımından incelendiğinde A allelinin 0.34 ve B allelinin 0.66 frekansında olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). Irkta B allelinin yüksek frekansta görüldüğü gözlemlenirken, genel olarak AA genotipi % 13.4, AB genotipi %40.2 ve BB genotipi %46.3 oranında tespit edilmiştir. CSN3/Hinf1 polimorfizmi allel gen frekansları bakımından incelendiğinde A allelinin 0.43 ve B allelinin 0.57 frekansında olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). Sürüde B allelinin yüksek frekansta görüldüğü gözlemlenirken, genel olarak AA genotipi % 24.5, AB genotipi %36.7 ve BB genotipi %38.8 oranında tespit edilmiştir. Her iki polimorfik bölgeye ait allel gen frekansları ve genotip frekansları değerlendirildiğinde hem Pit-1/Hinf1 polimorfizmi hemde CSN3/Hinf1 polimorfizmi bakımından sürüde görülen heterozigot birey oranının yüksek olarak değerlendirildiği ve ıslah programları için sürünün yeterli biyolojik çeşitliliğe sahip olduğu söylenebilir.

Pit-1/Hinf1 geni ile ilgili daha önce farklı Holstein sığırları üzerinde (Renaville et al., 1997; Jia et al., 2011; Özdemir, 2012; Bayram vd. 2017; Özdemir vd., 2018), Esmer İsviçre sığırı üzerinde (Aytekin ve Boztepe 2013), Siyah-Beyaz sığırlar üzerinde (Zwierzchowski et al., 2002; Dybus et al., 2004), Simmental sığırı (Viorica, 2006; Vlaic et al., 2007; Trakovicka et al., 2015) üzerinde yapılan çalışmalarda üç genotipinde tespit edildiği bildirilmiştir. Bayram vd. (2017) dışında BB genotipinin ve B allel gen frekansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar çalışma sonucumuzla uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

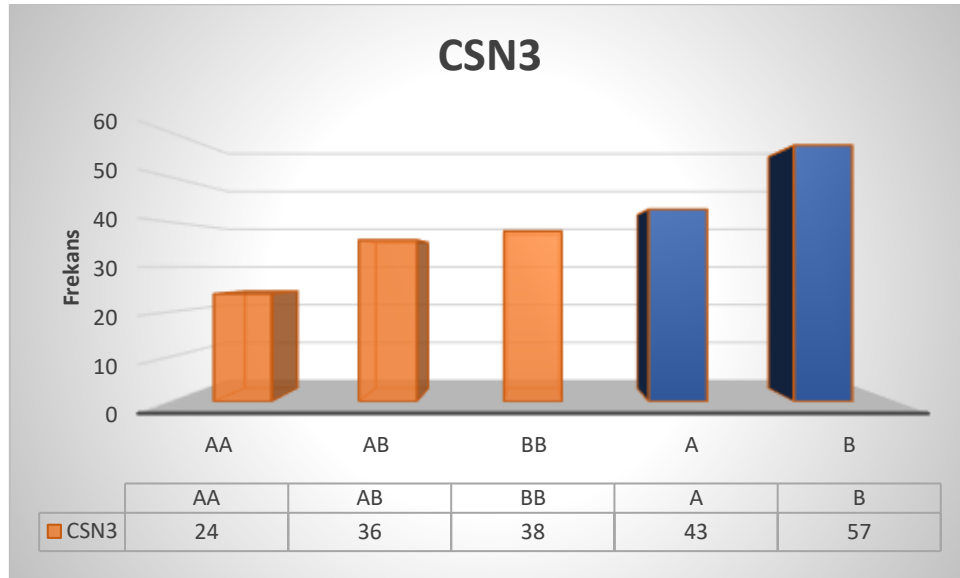
CSN3/Hinf1 polimorfizmi bakımından daha önce farklı sığır ırkları üzerinde; Esmer İsviçre sığırlarda (Özdemir ve Doğru 2005; Akyüz 2011) ve Holstein/Siyah Alaca sığırlarda (Kaygısız ve Doğan 1999; Gürcaan 2001; Özdemir ve Doğru 2005; Gedik 2009; Akyüz 2011; Demirel 2019; Ünal, 2020) ve Simmental sığırlarda (Akyüz 2011; Akyüz et al. 2013; Akyüz ve Çınar 2014) çalışmalar yapılmış ve CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait AA, AB ve BB genotiplerinin tespit edildiği ve çoğu çalışmada B allel gen frekansının daha yüksek frekansta

bulunduğu bildirilmiştir. İlgili çalışmalar incelendiğinde, gen ve genotip frekansına ait bulguların çalışma sonuçlarımızla uyumlu oldukları görülmektedir.

Holstein buzağlarının Pit-1/Hinf1 polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekansları Şekil 5’de, CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekansları Şekil 6’da görülmektedir.



Şekil 5. Holstein buzağlarının Pit-1/Hinf1 polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekansları



Şekil 6. Holstein buzağlarının CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait genotip ve allel gen frekansları

Holstein buzağlarının Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 polimorfizmlerine ait Hardy-Weinberg genetik denge test sonuçları Tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 5. Gen bölgelerine ait Hardy-Weinberg genetik denge testi sonuçları

BÖLGE	n	Gözlenen			Beklenen			X ² testi	P
		AA	AB	BB	AA	AB	BB		
Pit-1	82	11	33	38	9.2	36.3	36.2	0.78	ÖS
CSN3	98	24	36	38	18.0	48.0	32.0	6.13	*

ÖS: önemsiz (P>0.05), *:P<0.05,

Holstein buzağlarının Pit-1/Hinf1 polimorfizmine ait genotip frekansları dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre dengede (P>0.05) olduğu, ancak CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait genotip frekansları dağılımının dengede olmadığı (P<0.05) saptanmıştır (Tablo 5). Bu durum muhtemelen sürüde ıslah uygulanıyor olmasından ya da yapılan örnekleme hatasından kaynaklanmış olabilir.

Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 Genleri Fenotiplerinin Buzağı Doğum Ağırlığı Üzerine Etkisi

Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 polimorfizmine ait genotipler ile buzağı doğum ağırlığı arasındaki ilişkiler incelenmiş ve varyans analiz sonuçları Tablo 6’da verilmiştir. Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 genotiplerinin buzağı doğum ağırlığına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları Tablo 7’de sunulmuştur.

Tablo 6. Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 polimorfizmlerinin buzağı doğum ağırlığına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ort.	F	P
Pit-1 Genotipi	2	12.467	1.477	ÖS
Hata	79	8.441		
CSN3 Genotipi	2	12.838	1.736	ÖS
Hata	95	7.397		

ÖS: Önemsiz (P>0.05)

Tablo 7. Pit-1 ve CSN3 genotiplerinin buzağı doğum ağırlığı (kg) bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.

Pit-1				CSN3			
Genotip	n	$\bar{x}$	$\pm S\bar{x}$	n	$\bar{x}$	$\pm S\bar{x}$	
AA	11	41.45	0.813	24	42.29	0.738	
AB	33	41.09	0.375	36	41.06	0.376	
BB	38	42.26	0.563	38	41.95	0.399	
Genel	82	41.68	0.323	98	41.70	0.277	

Holstein buzağlarında, Pit-1/Hinf1 polimorfizminin doğum ağırlığına ait genel ortalaması 41.68 ± 0.323 kg olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre doğum ağırlığı açısından Pit-1 genotiplerinden en yüksek ortalama BB genotipinde (42.26 ± 0.563 kg) ve en

düşük ortalama AB genotipinde (41.09 ± 0.375 kg) belirlenmiştir. AB genotipli buzağılara ait doğum ağırlığı ortalaması AA ve BB genotipli buzağılardan sırasıyla 360 g ve 1170 g kadar daha az bulunmuş (Tablo 7), ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($P>0,05$) (Tablo 6). Xue et al., (2006), Nanyang sığırlarda Pit-1/Hinf1 polimorfizmine ait BB genotiplilerin AA genotipli buzağılara göre buzağı doğum ağırlık ortalamalarının daha üstün olduklarını bildirmişlerdir ($P<0.05$). Her iki çalışmada da BB genotiplilerin doğum ağırlığı ortalamalarının yüksek olarak bulunması, B allelinin sığırlarda büyüme özelliklerini pozitif yönde etkilediği sonucunu vermektedir.

CSN3/Hinf1 polimorfizminin doğum ağırlığına ait genel ortalaması 41.70 ± 0.277 kg olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre doğum ağırlığı açısından CSN3/Hinf1 genotiplerinden en yüksek ortalama AA genotipinde (42.29 ± 0.738 kg) ve en düşük ortalama AB genotipinde (41.06 ± 0.376 kg) belirlenmiştir. AB genotipli buzağılara ait doğum ağırlığı ortalaması AA ve BB genotipli buzağılardan sırasıyla 1230 g ve 890 g kadar daha az bulunmuş (Tablo 7), ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($P>0,05$) (Tablo 6).

Daha önce bu konuda yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde, CSN3/Hinf1 polimorfizmi ile buzağı doğum ağırlığı arasındaki ilişkinin incelendiği farklı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

SONUÇ

Gümüşhane ili Kelkit ilçesinde faaliyet gösteren özel bir işletmeden aynı yıl ve mevsimde doğan 100 Holstein ırkı buzağılara ait bireysel kan örnekleri üzerinde, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, Pit-1/Hinf1 polimorfizmine (AA, AB ve BB genotipleri) ve CSN3/Hinf1 polimorfizmine (AA, AB ve BB genotipleri) ait genotipler tespit edilmiştir.

Popülasyondaki Pit-1/Hinf1 polimorfizmi için AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla %13.4, % 40.2 ve % 46.3, A allelinin frekansı 0.34 ve B allelinin frekansı 0.66 olarak bulunurken, CSN3/Hinf1 polimorfizmi için ise AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla %24.5, %36.7 ve %38.8 ve A allelinin frekansı 0.43 ve B allelinin frekansı 0.57 olarak tespit edilmiştir. Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 polimorfizmleri açısından belirlenen genotip ve allel frekansları ırkın genotip çeşitliliğini ortaya çıkarmada yeterli olarak görülmüştür.

Holstein ırkı buzağılarda tespit edilen Pit-1/Hinf1 ve CSN3/Hinf1 polimorfizmlerine ait genotipler ile buzağı doğum ağırlığı arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunamamıştır.

Bu ve benzeri çalışmalar yapılarak tespit edilen polimorfik yapıların, farklı bölgelerde farklı ırklar üzerinde ve daha farklı performans özellikleriyle ilişkilendirmek suretiyle hayvan ıslahında kullanılabilirliğinin ortaya konması önerilmektedir.

KAYNAKÇA

- Akyüz, B., ve Çınar, M. U., 2014. Analysis of prolactin and kappa-casein genes polymorphism in four cattle breeds in Turkey. *Annals of Animal Science*, 14(4), 799-806.
- Akyüz, B., 2011. Kayseri ve Civarında Yetiştirilen Holştayn, İsviçre Esmeri ve Simmental Sığır Irklarında κ -Kazein, Büyüme hormonu ve Prolaktin Gen Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Kayseri.
- Akyüz, B., Arslan, K., Bayram, D., and İşcan, K. M., 2013. Allelic frequency of kappa-casein, growth hormone and prolactin gene in Holstein, Brown Swiss and Simmental cattle breeds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(3), 439-444.
- Ashwell, M. S., Rexroad, Jr., C.E., Miller, R.H., Van Raden, P. M. and Da, Y., 1997. Detection of loci affecting milk production and health traits in an elite US Holstein population using microsatellite markers. *Animal Genetics*, 28,216-222.
- Aytekin, İ., and Boztepe, S., 2013. Associations of Pit-1 gene polymorphism with milk yield and composition traits in brown swiss cattle. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(5), 1281-1289.
- Bauman, D.E., Eppard, P.J., DeGeeter, M.J. and Lanza, G. M., 1985. Response of high producing dairy cows to long term treatment with pituitary- and recombinant-growth hormone. *J. Dairy Sci.*, 68,1352.
- Bayram, D., Arslan, K., Akyüz, B., İşcan, K.M., 2017. Identification of pituitary-specific transcription factor-1 (PIT-1) and leptin gene (LEP) polymorphism of Holstein cattle reared in Turkey ,Ankara Üniv Vet Fak Derg, 64, 337-343.
- Beckmann, J.S. and Soller, M. 1983. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs. *Theoretical and Applied Genetics*, 67, 35-43.
- Bishop, M.D., Hawkins, G.A., and Keener, C.L., 1995. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology*, 43,61- 70.
- Brenneman, R.A., Davis, S.K., Sanders, J.O., Burns, B.M., Wheeler, T.C., Turner, J.W. and Taylor, J.F., 1996. The polled locus maps to BTA1 in a Bos indicusx Bos Taurus cross. *J. Hered*, 87,156-161.
- Caroli, AM., Chessa, S., Erhardt, GJ., 2009. Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *J of Dairy Sci*,92, 5335-5352.
- Chen, H.Y., Zhang, Q., Yin, C.C., Wang, C.K., Gong, W.J. and Mei, G. 2006. Detection of quantitative trait loci affecting milk production traits on bovine chromosome 6 in a Chinese Holstein population by the daughter design. *J. Dairy Sci.* 89(2),782-790.
- Chrenek, P., Huba, J., Vasicek, D., Peskovicová, D., Bulla, J. 2003. The relation between genetic polymorphism markers and milk yield in Brown Swiss cattle imported to Slovakia. *AsianAustralasian Journal of Animal Sciences*, 16(10), 1397-1401.
- Cohen, LE., Wondisford, FE., Radovick, S., 1997. Role of Pit-I in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocrinol Metab Clin N Am*, 25, 23-540.
- Cosier, V., 2006. RFLP/HinfI polymorphism between exon 5 and exon 6 of the Pit-1 gene in Romanian Simmental cattle. *Buletinul Universitatii de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara Cluj-Napoca, Seria Zootehnie si Biotehnologii, România*.

- Curi, R.A., Palmieri, D.A., Sugisawa, L., de Oliveira, H.N., Silveira, A.C. and Lopes, C.R., 2006. Growth and carcass traits associated with GH1/AluI and POU1F1/HinfI gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 29(1), 56-61.
- Dario, C., Selvaggi, M., Carnicella, D., et al., 2009. Bufano G: STAT5A/Aval polymorphism in Podolica bulls and its effect on growth performance traits. *Livest Sci*, 123, 83-87.
- Demirel, F., 2019. Siyah Alaca Sığırlarda Alfa-Kazein, Beta-Kazein Ve Kappa-Kazein Gen Polimorfizminin Süt Verimi ve Süt Bileşenlerine Etkisinin Pcr-Rflp Yöntemiyle Araştırılması. Doktora Tezi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Di Stasio, L., Sartore, S., Albera, A., 2002. Lack of association of GH1 and POU1F1 gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. *Animal Genetics*. 33, 61-64.
- Doğru, U., Ozdemir, M. and Ercisli, S., 2008. Genetic polymorphism in Kappa-casein gene detected by PCR-RFLP in cattle. *J. Appl. Anim. Res.* 33(1), 65-68.
- Drogemuller, C., Hamann, H. and Distl, O., 2001. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.* 79, 2565-2570.
- Dybus, A., Grzesiak, W., Kamieniecki, H., Szatkowska, I., Sobek, Z., Blaszczyk, P., Czerniawska-Piatrowska, E., Zych, S., Muszynska, M., 2005. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Archives Animal Breeding*, 48, 149-156.
- Dybus, A., Kmiec, M., Sobek, Z., Pietrzyk, W., Wisniewski, B., 2003. Associations between polymorphisms of growth hormone releasing hormone (GHRH) and pituitary transcription factor 1 (PIT1) genes and production traits of limousine cattle. *Archives Animal Breeding*, 46(6), 527-534.
- Dybus, A., Szatkowska, I., Czerniawska-Piatkowska, E., Grzesiak, W., Wojcik, J., Edyta, R., Zych, S., YCH., 2004. PIT1-HinfI gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle *Arch. Tierz., Dummerstorf* 47 (2004) 6, 557-563 Department of Ruminant Science, Agricultural University of Szczecin, Poland.
- Edwards, M.D., and Page, N.J., 1994. Evaluation of marker-assisted selection through computer simulation. *Theor. Appl. Genet.*, 88, 376-382.
- El Nahas, SM., Bibars, MA., Taha, DA., 2013. Genetic characterization of Egyptian buffalo CSN3 gene. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11 (2), 123-127. doi: 10.1016/j.jgeb.2013.08.003
- Erhardt, G. and Weimann, C., 2007. Use of molecular markers for evaluation of genetic diversity and in animal production. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 15(supl 1), 63-66.
- Feligini, M., Vlado, S., Curik, VC., Parma, P., Greppi, G., et al., 2005. A single nucleotide polymorphism in the sheep κ -casein coding region. *Journal of Dairy Research*, 72(3), 317-321. doi: 10.1017/S0022029905000932
- Gedik, Y., 2009. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Siyah Alaca Sığır Populasyonlarında Beta-Laktoglobulin ve Kappa-Kazein Genotiplerinin Pcr-Rflp Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

- Groza, I., Pamfil, D., Cenariu, M. and Chereji, R., 2005. Genetic markers in dairy cattle milk production. *Buletinul Universitatii de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara ClujNapoca, Seria Medicina Veterinara* 62, 422-426. (Abst.).
- Gürçan, K., 2001. Siyah Alaca Süt Sığırlarında Çeşitli Süt ve Kan Protein Polimorfizmi ve Bu Özelliklerle Bazı Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ.
- Heidari, M., Azari, MA., Hasani, S., Khanahmadi, A., Zerehdaran, S., 2012. Effect of polymorphic variants of GH, Pit-1, and β -LG genes on milk production of Holstein cows. *Russian Journal of Genetics*, 48(4), 417-421.
- Hetzel, J., 2004. Delivery of gene marker technology to the beef industry. The John M. Airy Beef Cattle Symposium, Visions for genetics and breeding, 15- 17 May 2003, Iowa State University, CAB International, AgBiotechNet Proceedings 004 Paper 6, p.1-4
- Hradecká, E., Citek, J., Panicke, L., Rehout, V., Hanusova, L. 2008. The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*, 53(6), 238-245.
- Höglund, JK., Sahana, G., Brondum, RF., Guldbrandtsen, B., Buitenhuis, B., Lund, MS., 2014. Fine mapping QTL for female fertility on BTA04 and BTA13 in dairy cattle using HD-SNP and sequence data. *BMC Genomics*, 15-790. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/15/790>.
- Hu, C.C., and Mao, F.C., 1995. Kappa-casein genotyping and its correlation with milk producing ability of Holstein bulls. *Taiwan journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandary*, 65-3, 247-254, (Abst.).
- Hua, GH., Chen, SL., Yu, JN., et al., 2009. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. *Meat Sci*, 81, 391-395.
- Hussain, A.D., 2016. Genetic Structure analysis of Pit-1/HinfI Gene and Its Relationships with someone Productive Traits in Iraq and Hybrid Cows Populations İnstitu of Genetic Engineering and Biyotechnology University of Baghdad/Iraq, 5(7),226-235.
- Ihara, N., Takasuga, A., Mizoshita, K. and Takeda, H., 2004. A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome Research*, 14, 1987-1998.
- Jia, B., Zheng, X.C., Chen, HY., Zhao, Z.S., 2011. İdentification of SNP within the sheep PROP 1 gene and their effects on wool traits. *Molecular Biology*, 38,2723-2728.
- Jiang, L., Liu, J., Sun, D., Ma, P., Ding, X., Yu, Y., Zhang, Q., 2010. Genome wide association studies for milk production traits in Chinese Holstein population. *Plos ONE*, 5(10), e13661.
- Kaminski, S., 1996. Bovine kappa-casein (CASK) gene –molecular nature and application in dairy cattle breeding. *J of Applied Genetics*, 37, 176-196.
- Kamiński, S., Cieślińska, A., Kostyra, E., 2007. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *Journal of Applied Genetics*, 48(3), 189-198. doi: 10.1007/ bf03195213
- Kashi, Y., Hallerman, E. and Soller, M., 1990. Marker asisted selection of candidate bulls for progeny testing programs. *Anim. Prod.*, 52,21-31.
- Kaygısız, A., and Doğan, M., 1999. Siyah Alaca İneklerde süt protein polimorfizminin genetiği ve süt verim özellikleriyle ilişkisi. *Turk J Vet Anim Sci*, 23(3), 447-454.

- Khaizaran, Z.A., Al-Razem, F., 2014. Analysis of selected milk traits in Palestinian Holstein-Friesian cattle in relation to genetic polymorphism. *Journal of Cell and Animal Biology*, 8(5), 74-85. doi: 10.5897/jcab2014.0409
- Khatami, S.R., Lazebnyĭ, O.E., Maksimenko, V.F., et al., 2005. Association of DNA polymorphisms of the growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black and White cattle. *Genetika*, 41, 229- 236.
- Klein, R.J., Zeiss, C., Chew, E.Y., Tsai, J.Y., Sackler, R.S., Haynes, C., 2005. Complement Factor H Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration. *Science*, 308(5720), 385-389. Doi:10.1126/science.1109557.
- Kıyıcı, J.M., Arslan, K., Akyuz, B., Kaliber, M., Aksel, E.G., Çınar, M.U., 2019. Relationships between polymorphisms of growth hormone, leptin and myogenic factor 5 genes with some milk yield traits in Holstein dairy cows. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 1-7.
- Komisarek, J., Michalak, A., Walendowska, A., 2011. The effects of polymorphisms in DGAT 1, GH and GHR genes on reproduction and production traits in Jersey cows. *Animal Science Papers and Reports*, 29(1), 29-36.
- Litwinczuk, Z. and Krol, J., 2002. Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. *Anim Sci Pap Rep*, 1, 33-40.
- Lundén, A., Nilsson, M., Janson, L., 1997. Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *J Dairy Sci*, 80, 2996-3005.
- Mangalam, H.J., Albert, V.R., Ingraham, H.A., et al., 1989. A pituitary POU domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Gene Dev*, 3, 946-958.
- Maryam, J., Babar, M.E., Bao, Z., Nadeem, A., 2016. A novel selection signature in stearoyl-coenzyme A desaturase (SCD) gene for enhanced milk fat content in *Bubalus bubalis*. *Tropical Animal Health and Production*, 48(7), 1343-1349.
- Masina, P., Rando, A., Di Gregorio, P., Cosenza, G., Mancusi, A., 2007. Water buffalo kappa-casein gene sequence. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2), 353-355.
- Meghen, C., Machugh, D.E., Bradley, D.G., 2002. Genetic characterization and West African cattle. (Online) Erişim:www.fao.org/docrep/t1300t/genetic%20characterizati on (2004).
- Misrianti, R., Sumantri, C., Farajallah, A., 2011. Polymorphism identification of Pit1 gene in Indonesian buffaloes (*Bubalus bubalis*) and Holstein-Friesian cows. *Media Peternakan* 33(3), 131-136. doi: 10.5398/medpet.2010.33.3.131
- Moddy, D.E., Pomp, D., Barendse, W., 1995. Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1. *Anim. Genet.* 26,45- 47.
- Oprzadek, J., Flisikowski, K., Zwierzchowski, L., Dymnicki, E., 2003. Polymorphisms at loci of Leptin (LEP), Pit1 and STAT5A and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black-and White bulls. *Animal Science Paper and Reports*, 21(3), 135,145.
- Otaviano, A.R., Tonhati, H., Sena, J.A.D., Cerón, Muñoz M.F. 2005. Kappacasein gene study with molecular markers in female buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Genetics and Molecular Biology*, 28(2), 237-241. doi: 10.1590/s1415-47572005000200010

- Othman, O.E., Zayed, FA., El Gawead, AA., El-Rahman, MRA. 2011. Genetic polymorphism of three genes associated with milk trait in Egyptian buffalo. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9(2), 97-102. doi: 10.1016/j.jgeb.2011.09.002
- Özdemir, M. ve Doğru, Ü., 2008. Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Önemli Moleküler Markörler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 39(1), 127-135.
- Özdemir, M. ve Doğru, Ü., 2005. Relationship between kappa-casein polymorphism and production traits in brown swiss and holstein, *journal of applied animal research*, 27(2), 101-104.
- Özdemir, M., 2012. Determination of Pit-1/Hinf1 polymorphism in Holstein and Native Ear cattle raised as genetic resource in Turkey. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(1), 25-28.
- Özdemir, M., Topal, M., Vecihi, A., 2018. The relationships between performance traits and the bGH/Alu I and Pit-1/Hinf I polymorphisms in Holstein cows. *Indian Journal of Animal Research*, 2018.
- Parmentier, I., Portetellea, D., Gengler, N., Prandi, A., Bertozzi, C., Vleurick, L., Gilson, R., Renaville, R., 1999. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection. *Domestic Animal Endocrinology*, 17, 139-148.
- Peel, C. J., and Bauman, D. E., 1987. Somatotropin and lactation. *J. Dairy Sci*, 70,474.
- Pfaffle, RW., Dimattia, GE., Parks, JS., et al., 1992. Mutation of the Pou-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science*, 257, 1118-1121.
- Prinzenberg, E.M., Krause, I., Erhardt, G. 1999. SSCP analysis at the bovine CSN3 locus discriminates six alleles corresponding to known protein variants (A, B, C, E, F, G) and three new DNA polymorphisms (H, I, A(1)). *Animal Biotech*, 10(1-2), 49-62.
- Ren, DX., Miao, SY., Chen, YL., Zou, CX., Liang, XW., et al., 2011. Genotyping of the k-casein and β -lactoglobulin genes in Chinese Holstein, Jersey and water buffalo by PCR-RFLP. *Journal of Genetics*, 1-5.
- Renaville, R., Gengler, E., Vrech, A., Prandi, S., Massart, S., Corradini, C., Bertozzi, C.F., Mortiaux, Burny, P. 1997. Pit-1 Gene Polymorphism, Milk Yield, and Conformation Traits for Italian Holstein-Friesian Bulls Author links open overlay panel. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3431-3438.
- Ron, M., Feldmesser, E., Golik, M., Tager-Cohen, I., Kliger, D., Reiss, V., Domochofsky, R., Alus, O., Seroussi, E., Ezra, E., Weller, J.I. 2004. A complete genome scan of the Israeli Holstein population for quantitative trait loci by a daughter design. *J. Dairy Sci*, 87(2), 476-490.
- Scully, KM., Jacobson, EM., Jepsen, K., Lunyak, V., Viadiu, H. et al. 2000. Allosteric Effects of PIT-1 DNA Sites on Long-Term Repression in Cell Type Specification. *Science*, 290(5494), 1127- 1131. doi: 10.1126/science.290.5494.1127.
- Soyudal, B., 2017. Holstein Irkı Sığırlarda Süt Verim Özelliklerinin İşaretleyici Yardımlı Seleksiyonu. *Doktora Tezi*, Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Bursa.
- Strzalkowska, N., Krzyzewski, J., Zwierzchowski, L., Ryniewicz, Z., 2002. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 20,21-35.

- Threadgill, DW. and Womack, JE., 1990. Genome analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Res*, 18, 6935-6942.
- Thuy, N.T.D., Thu, N.T., Cuong, N.H., Ty, L.V., Nguyen, T.T.B., Khoa, D.V.A., 2018. Polymorphism of PIT-1 and Prolactin Genes and Their Effects on Milk Yield in Holstein Frisian Dairy Cows Bred in Vietnam. *Russian Journal of Genetics*, 54, 346-352.
- Trakovička, A., Moravcikova, N., Minarovič, T., Navratilova, T., 2015. SNPs analyses of the bovine LEP and PIT-1 genes by multiplex PCR-RFLP method and their effect on milk performance traits in Slovak Simmental cattle 015, 16(1), p.65-75 *Journal of Central European Agriculture*, 2015, 16(1), p.65-75 *Journal of Central European Agriculture*, 2015, 16(1), 65-75.
- Unanian, MM., Barreto, CC., Cordeiro, CMT., et al., 2002. Possible associations between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. *Braz Arch Biol Techn*, 45, 293-299.
- Ünal, H., 2020. Simmental Irkı Sığırlarda K-Kazein (Csn3) Geni Polimorfizmi Ve Bazı Performans Özellikleri Arasındaki İlişkileri, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Van Tassell, C.P., Ashwell, M.S., Sonstegard, T.S., 2000. Detection of putative loci affecting milk, health, and conformation traits in a US Holstein population using 105 microsatellite markers. *J Dairy Sci*, 83(8), 1865-72.
- Vanlı, Y., 1987. Atatürk Üniversitesi Koyun Sürülerinde Beta-Globulin Polimorfizminin Genetiği ve Kantitatif Karakterlerle Bağlantısı. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Zootečni Böl. (Profesörlük Takdim Tezi), Erzurum.
- Viorica, C., 2006. RFLP/HinfI Polymorphisms Between Exons 5 and Exon 6 of the Pit-1 gene in Romanian Simmental Cattle. *USAMV Journal*, CN 63,26(219-222).
- Vlaic, A., Pamfil, D.C., Gaboreanu, I., Vlaic, B. and Renaville, R., 2003. Increasing milk production in cattle using DNA marker assisted selection (Pit-1). *Buletinul Universitatii de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara Cluj-Napoca, Seria Zootehnie si Biotehnologii* 59, 188-191. (Abst.).
- Vlaic, A., Coiser, V., Gaboreanu, I., 2007. HinfI Polymorphisms of K- Casein and Pit-1 genes in Romanian Simmental Cattle. *University of Agriculture Sciences and veterinary medicine Cluj-Romania vol* (40).
- Wang, X., 2012. Identification and Characterization of Candidate Genes for Complex Traits in Cattle. PhD thesis, Chair of Animal Breeding, Technische Universität München.
- Wu, X.L., MacNeil, M.D., De S. and Xiao, Q.J., 2005. Evaluation of candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection. *Genetica* 125, 103-113.
- Xue, K., Chen, H., Wang, S., Cai, X., Liu, B., Zhang, C-F., Lei, CZ., Wang, X-Z., Wang, Y-M. and Niu, H. 2006. Effect of genetic variations of the POU1F1 gene on growth traits of nanyang cattle. *Acta Genetica Sinica*, 33(10) 901-907.
- Zhang, C., Liu, B., Chen, H., Lan, X., Lei, C., Zhang, Z., Zhang, R. 2009. Associations of a HinfI PCR-RFLP of POU1F1 gene with growth traits in Qinchuan cattle. *Animal Biotechnology*, 20(2), 71-74.
- Zhang, L., Liu, J., Zhao, F., et al., 2013. Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep. *PloS one*, 8, e66569.

- Zhao, Q., Davis, M.E. and Hines, H.C., 2001. Relationships of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth traits in beef cattle. Research and Reviews: Beef and Sheep, Special Circular, 181-01.
- Zhao, Q., Davis, M.E., Hines, H.C., 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. J. Anim. Sci, 82, 2229-2233.
- Zwierzchowski, L., Kizyzeewski, J., Strzalkowska, N., Siadkowska, E., Ryniewicz, Z., 2002. Effects of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition. Animal science papers and reports vol.20 2002 no:4, 213-227 institute of genetics and animal breeding, Poland.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	İsmail FINDIK
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Erzurum Lisesi
Lisans:	Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Biyometri ve Genetik Bilim Dalı (2021)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta