

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
2016-YL-025

YERLİ KIL KEÇİLERİNDE BÜYÜME
HORMONU GEN POLİMORFİZMİ VE BÜYÜME
ÖZELLİKLERİ İLE İLİŞKİSİ




Özge Saniye METE

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. İbrahim CEMAL

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Zootekni Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Özge Saniye METE tarafından hazırlanan “Yerli Kıl Keçilerinde Büyüme Hormonu Gen Polimorfizmi ve Büyüme Özellikleri ile İlişkisi” başlıklı tez, (15.04.2016) tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr.Güldehen BİLGEN	Ege Üniv.	
Üye :	Prof. Dr. Orhan KARACA	ADÜ	
Üye :	Prof. Dr. İbrahim CEMAL	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY
Enstitü Müdürü

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

.../...../2016

Özge Saniye METE

ÖZET

YERLİ KIL KEÇİLERİNDE BÜYÜME HORMONU GEN POLİMORFİZMİ VE BÜYÜME ÖZELLİKLERİ İLE İLİŞKİSİ

Özge Saniye METE

Yüksek Lisans Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim CEMAL

2016, 58 sayfa

Kıl keçilerinde yapılan bu çalışmada, büyüme hormonu geni GH1 ve GH2 bölgeleri bakımından mevcut olan polimorfizmin tanımlanması ve oğlakların büyüme özellikleri bakımından genotipler arası farklılıkların ortaya konması amaçlanmıştır. Analizler Aydın ve Denizli illeri köylerinde bulunan 8 farklı işletmedeki 297 baş Kıl keçisi oğlağında yürütülmüştür. Oğlakların büyüme özelliklerinin genotiplere göre değişimini saptamak üzere doğum ağırlığı, 3.5 ve 5.5 aylık yaşlardaki canlı ağırlıklar ile doğumdan 3.5 ve 5.5 aylık yaşa kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışları tespit edilmiştir. GH1 ve GH2 gen bölgelerine özgü tasarlanan primer çiftleri ile sırasıyla 422 ve 116 bp'lik PCR ürünleri elde edilmiştir. PCR ile çoğaltılan iki farklı bölgedeki nükleotid polimorfizmini ortaya koymak üzere PCR ürünleri *HaeIII* enzimiyle kesime tabi tutulmuştur. Enzim kesimi sonrası oluşan PCR-RFLP ürünü DNA bantları jel elektroforezinde boyutlarına göre ayrıştırılıp görüntülenmiştir. Görüntülerden elde edilen genotip verilerinin analizi sonucunda GHI gen bölgesine ait AA, AB ve BB genotiplerinin frekansları sırasıyla 0.19, 0.65 ve 0.16 olarak bulunmuş ve bunun sonucunda A ve B allellerinin frekansları sırasıyla 0.51 ve 0.49 olmuştur. GHII bölgesi bakımından ise belirlenen CC, CD ve DD genotiplerinin frekansları sırasıyla 0.16, 0.68 ve 0.16 olarak bulunmuş, C ve D allellerinin frekansları ise 0.50 ve 0.50 olarak belirlenmiştir. Oğlak büyüme özelliklerine yönelik yapılan analizlerde ise incelenen iki gen bölgesi için elde edilen genotiplerin büyüme özellikleri üzerinde önemli fark yaratacak bir etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kıl keçisi, büyüme hormonu geni, polimorfizm, PCR-RFLP

ABSTRACT

GROWTH HORMONE GENE POLYMORPHISMS IN NATIVE HAIR GOATS AND ITS RELATIONSHIP WITH GROWTH TRAITS

Özge Saniye METE

M.Sc. Thesis, Department of Animal Sciences

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim CEMAL

2016, 58 pages

This study was carried out on Hair goat kids to determine polymorphism for two different region of growth hormone gene (GH1 and GH2) and to determine difference between GH1 and GH2 genotypes for growth traits of kids. Animal material of study consisted of 297 head of kids from 8 farm at villages of Aydın and Denizli provinces. Birth weight, live weight at 3.5 and 5.5 months of age, and average daily gains between birth and 3,5 and 5.5 months of age were recorded for all kids to determine change of growth traits of kids according to genotypes. PCR products of 422 and 116 bp were obtained for GH1 and GH2 regions of GH gene, respectively, by use of spesifically designed primers. Then, both PCR products were digested with same restriction endonucleases enzyme, *HaeIII*, to determine nucleotide polymorphisms. DNA fragments of PCR-RFLP products obtained from enzyme digestion were separated by gel electrophoresis and visualized. As a result of analysed genotype data that obtained from images, genotype frequencies of 0.19, 0.65 and 0.16 were obtained for AA, AB and BB genotypes of GH1 region and allele frequencies of 0.51 and 0.49 were obtained for A and B alleles, respectively. Genotype frequencies of 0.16, 0.68 and 0.16 were obtained for CC, CD and DD genotypes of GH2 region and allele frequencies of 0.50 and 0.50 were obtained for C and D alleles, respectively. Analysis of growth performances of kids according to GH1 and GH2 genotypes have shown that there are no statistically significant effects of the nucleotide polymorphism at investigated regions of growth hormone gene on growth performances of kids from birth to age of 5.5 months.

Keywords: Hair Goat, Growth Hormone Gene, Polymorphism, PCR-RFLP

ÖNSÖZ

Öncelikle, tüm yüksek lisans eğitim sürecinde beni yönlendiren, tez çalışmamı planlayan, altyapı dahil tez çalışmam için gerekli hertürlü desteği sağlayan danışman hocam sayın Prof. Dr. İbrahim CEMAL'e sonsuz teşekkür ediyorum.

Sahada geniş çapta hayata geçirilen “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamındaki yerli Kıl keçisi ırkımıza yönelik Aydın ve Denizli illerinde Prof. Dr. İbrahim CEMAL liderliğinde devreye konan alt projeler ile bu çalışmamı rahat bir şekilde yapmamı olanaklı kılan Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'ne ve bu alt projelerin lideri danışman hocam yanında özellikle bu alt projelerde proje teknik elemanı olarak sahada verdikleri yoğun emek ile keçi ve oğlaklara ait fenotip verilerini elde eden ve kan örneklerinin alınmasında öncü ve destek olan Zir. Yük. Müh. Zekai ÇOBAN ve Zir. Müh. Halil KANBER'e ne kadar teşekkür etsem azdır. Tez projem kapsamındaki tüm laboratuvar çalışmalarımda özveri ile yardımcı olan, laboratuvar analizleri ilgili pratik kazanmamı sağlayan ve laboratuvar da karşılaştığım birçok sorunun çözümünde bana yol gösteren, mesai harcayarak destek olan çok değerli arkadaşım Arş. Gör. Nezih ATA'ya minnettarım. DNA analizi laboratuvar sonuçlarının istatistiksel değerlendirme aşaması başta olmak üzere tez çalışmamda yaptığı özverili katkılarından dolayı Öğr. Gör. Dr. Onur YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Eleştirileri ve değerli görüşleri ile tezimin şekillenmesine yapmış oldukları katkıdan dolayı tez savunma sınavı jüri üyelerim sayın Prof. Dr. Güldehen BİLGİN ve sayın Prof. Dr. Orhan KARACA hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Analizlerim için her türlü laboratuvar altyapı ve olanağını barındıran Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin (TARBİYOMER) kurulmasına öncü olan ve yoğun emekleri ile bu noktaya getirenlere ve bu çalışmamı gerçekleştirmek üzere altyapı kullanım izni veren mevcut yönetimine teşekkür ederim. Ayrıca, Prof. Dr. Orhan KARACA tarafından yönetilen 109G014 nolu TÜBİTAK projesi ile Ziraat Fakültesi Zootehni Bölümü bünyesinde Moleküler Genetik Laboratuvarı oluşturulmasına öncü olan ve bu altyapıdaki cihazları da analizlerimde kullanmamı olanak sağlayan hocalarıma çok teşekkür ederim. Desteğini benden esirgemeyen ve tanımaktan büyük mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım Neval Gül ÖĞRETMEN ve Yavuz ÖZVATAN'a teşekkür ediyorum.

Kızları olmaktan gurur duyduğum, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem ve babam Nezahat-Ercan METE'ye ve her konuda desteğini benden esirgemeyen kız kardeşim Buket METE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özge Saniye METE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
EKLER DİZİNİ.....	xxi
1 . GİRİŞ	1
2 . KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 . Keçi Türüne Ait Genel Bilgiler.....	5
2.2 . Kıl Keçisi ve Özellikleri.....	5
2.3 . Büyüme Hormonu ve Keçi Büyüme Hormonu Geni Genel Özellikleri.....	9
2.4 . Keçi Büyüme Özelliklerine İlişkin Çalışmalar	11
2.5 Keçide Büyüme Hormon Genine Yönelik Yapılan Çalışmalar	12
2.6 . Farklı Hayvan Türlerinde Büyüme Hormonu Genine Yönelik Yapılan Araştırmalar.....	15
3 . MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 . Hayvan Materyali.....	21
3.2 . Yöntem.....	23
3.2.1 . Performans Verilerinin Alınması Ve Kan Örneklerinin Toplanması.....	23
3.2.2 . Laboratuvar Analizleri İçin Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması	24
3.2.3 . DNA Ekstraksiyonu, Miktar Ve Kalite Tayini.....	24
3.2.4 . PCR ile DNA Çoğaltımı.....	24
3.2.5 . PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimi Ile Kesimi	27
3.2.6 . Elektroforez ile DNA Bantlarının Ayırıştırılması ve Genotipleme.....	27
3.2.7 . Verilere Yönelik İstatistikî Değerlendirmeler.....	30
4 . BULGULAR ve TARTIŞMA.....	31
4.1 . GH1 ve GH2 Bölgelerine ait Elektroforez Sonuçları.....	31

4.2 . Moleküler Genetik Analiz Verilerine Ait Popülasyon İstatistikleri	33
4.3 . Oğlak Büyüme Özelliklerinin GH1 ve GH2 Genotiplerine Göre Değişimi..	38
5. SONUÇ	42
KAYNAKLAR.....	46
EKLER.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µl	Mikrolitre
AA	Arif ABAŞ
bç	Baz Çifti
bGH	Bovine Growth Hormone: Sığır Büyüme Hormonu
BH	Büyüme Hormonu
CA	Canlı Ağırlık
CE	Capillary Electrophoresis: Kapiller (Kılcal) Elektroforez
cGH	Chicken Growth Hormone: Tavuk Büyüme Hormonu
D	Delesyon
dATP	Deoxyadenosine Triphosphate
dCTP	Deoksisitidin Triphosphate
ddH ₂ O	Double Distilled H ₂ O: Çift Damıtık Saf Su
dGTP	Deoxyguanosine Triphosphate
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoxynucleotide Triphosphate: Deoksinükleotit Trifosfat
dTTP	Deoksitimidin Triphosphate
EDTA	Etilendiamin tetraasetik Asit
HCl	Hydrochloric Asid: Hidroklorik Asit
HS	Hüseyin SALIN
I	İnsersiyon
IE	İbrahim ERMIŞ
IGF-I	İnsülin Like Growth Factor-I: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I
MAS	Marker Assisted Selection: Markör Destekli Seleksiyon
MgCl ₂	Magnesium Chloride: Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
NaCl	Sodium Chloride: Sodyum Klorür
ng	Nanogram
NK	Nazmi KOŞAR
OGCAA	Ortalama Günlük Canlı Ağırlık Artışı

PCR	Polymerase Chain Reaction: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QTL	Quantitative Trait Loci: Kantitatif Karakter Lokusu
RE	Restriction Endonuclease: Restriksiyon Enzimi
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism: Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği
RY	Ramazan YAĞMUR
SA	Sami ABAŞ
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate: Sodyum Dedosil Sülfat
SH	Süleyman HOŞ
SSCP	Single-Strand Conformation Polymorphism: Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi
T ₁₀ E ₁₀	Tris-EDTA
TAGEM	Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TARBIYOMER	Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi
TBE	Tris-Borat-EDTA
TUIK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviolet: Ultraviyole
VC	Veli ÇOLAK
χ^2	Ki-kare

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Türkiye keçi varlığının illere göre dağılımı	2
Şekil 2.1. Denizli ilinde yetiştirilen Kıl keçilerinde renk/renk deseni tanımlamalarının oransal (%) dağılımı.....	6
Şekil 2.2. Keçi büyüme hormonu geninin yapısı	11
Şekil 3.1. Denizli ilindeki Kıl keçilerine ait fotoğraflar	22
Şekil 3.2. Büyüme hormonu geninin PCR ile çoğaltılan GH1 bölgesinin dizilimi	25
Şekil 3.3. Büyüme hormonu geninin PCR ile çoğaltılan GH2 bölgesinin dizilimi	25
Şekil 3.4. DNA bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan DNA boy markörü(ladder).....	28
Şekil 3.5. Fragman analizörü ve çalışma sistemine ait görseller.....	29
Şekil 4.1. GH1 gen bölgesi bakımından bazı bireylere ait agaroz jel görüntüsü ...	31
Şekil 4.2. GH2 gen bölgesi bakımından bazı bireylere ait agaroz jel görüntüsü ...	31
Şekil 4.3. GH1 gen bölgesi PCR-RFLP ürünlerinin fragman analizöründeki elektroforez görüntüsü.....	32
Şekil 4.4. GH2 gen bölgesi PCR-RFLP ürünlerinin fragman analizöründeki elektroforez görüntüsü.....	32
Şekil 4.5. GH1 ve GH2 gen bölgeleri bakımından genotip frekanslarının illere göre dağılımı	34
Şekil 4.6. Keçi büyüme hormonu geninin GH1 bölgesine ait A ve B allellerinin frekanslarının işletme bazlı dağılımı	36
Şekil 4.7. Keçi büyüme hormonu geninin GH2 bölgesine ait C ve D allellerinin frekanslarının işletme bazlı dağılımı	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Denizli ilinde yetiştirilen Kıl keçilerinde canlı ağırlık ve vücut ölçülerine ait tanımlayıcı değerler	7
Çizelge 2.2. Türkiye keçi varlığında son yıllarda gözlenen sayısal değişim.....	9
Çizelge 3.1. Çalışmaya Aydın ve Denizli illerinden dahil edilen işletmeler ve işletmelere göre örnek sayıları.....	21
Çizelge 3.2. PCR ile çoğaltılan hedef gen bölgelerine ve çoğaltmada kullanılan primerlere ait bilgiler	25
Çizelge 3.3. GH1 ve GH2 bölgeleri için PCR reaksiyonu bileşenleri.....	26
Çizelge 3.4. Hedef DNA bölgesi çoğaltımı için PCR (termal çevirici) cihazında kullanılan program.....	26
Çizelge 3.5. GH1 ve GH2 gen bölgesi PCR ürünlerinin kesiminde kullanılan bileşenler.....	27
Çizelge 3.6. Genotiplerin belirlenmesinde esas alınan DNA bant boyları.....	29
Çizelge 3.7. Araştırmada ele alınan özellikler ve etkisi incelenen etmenler.....	30
Çizelge 4.1. GH1 ve GH2 gen bölgeleri bakımından genotip ve allel frekanslarının iller ve tüm popülasyon bazında dağılımı.....	34
Çizelge 4.2. GH1 ve GH2 gen bölgelerine ait genotip frekanslarının yetiştirici işletmelerine göre dağılımı	35
Çizelge 4.3. İller ve popülasyon bazında GH1 ve GH2 gen bölgelerine ait genotiplerin gözlenen ve beklenen sayıları ile Hardy-Weinberg denge şartlarına yönelik ki-kare analiz sonuçları	37
Çizelge 4.4. Büyüme hormonu geni GH1 ve GH2 bölgeleri için ayrı ayrı iller bazında ve genel bazda gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri	38
Çizelge 4.5. Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerine ait basit istatistikler	38
Çizelge 4.6. Oğlak büyüme özelliklerine ait performans verilerinin etkili faktörlere göre varyans analizi ile elde edilen en küçük kareler ortalama ve standart hataları.....	41

EKLER DİZİNİ

EK 3.1. DNA ekstraksiyonunda kullanılan çözeltiler	52
EK 3.2. Elektroforez aşamasında kullanılan çözeltiler	53
EK 3.3. Kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu için uygulanan protokol.....	54
EK 3.4. Keçi (<i>Capra hircus</i>) büyüme hormonu geninin baz dizilimi ve bu tezde polimorfizmi incelenen GH1 ve GH2 bölgeleri.....	56

1. GİRİŞ

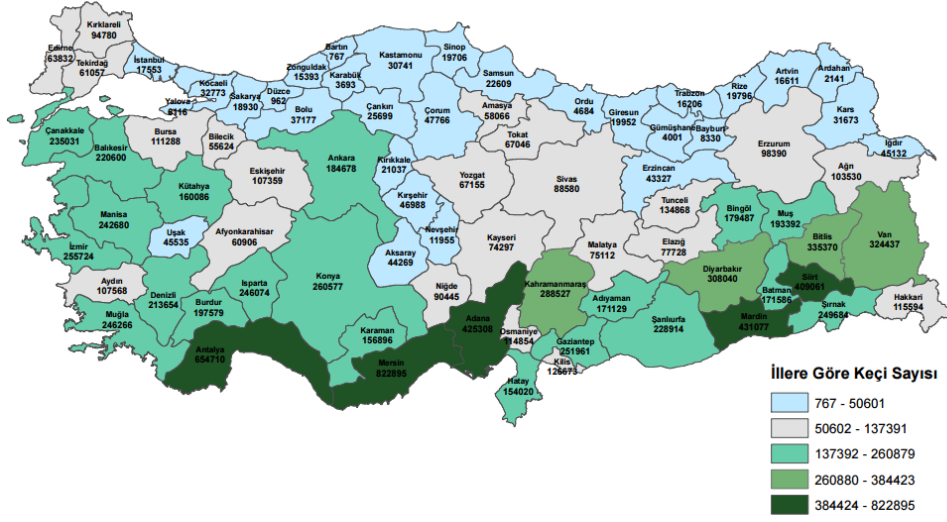
Küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, genel olarak zayıf meralar ile nadas, anız ve bitkisel üretime uygun olmayan alanları değerlendirerek et, süt, yapağı, kıl ve deri gibi ürünlere dönüştüren bir üretim faaliyetidir. Türkiye'nin doğal kaynaklarının, genellikle çayır-meraların koyun ve keçi türlerinin yetiştirilmesine daha uygun oluşu, kırsal kesimdeki halkın tüketim alışkanlıkları gibi sebepler, küçükbaş hayvan yetiştiriciliği için uygun bir ortam yaratmaktadır. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin bu önemine karşılık son yıllarda koyun ve keçi sayısında önemli ölçülerde gözlemlenen düşüşler, üretimde azalmaya neden olmuştur (Kaymakçı ve ark., 2006).

Keçi yetiştiriciliği genellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yapılan geleneksel bir hayvansal üretim koludur. Kırsal ve ormanlık bölgelerdeki dar gelirli aileler için önemli bir geçim ve besin kaynağı oluşturmaktadır. Bir özelliği de başka bir şekilde değerlendirilemeyen dağlık, fundalık ve taşlık arazilerin keçi yetiştiriciliği ile süt ve et gibi ürünlerin elde edilmesinde kullanılmasıdır (Kaymakçı ve Aşkın, 1997).

Keçi süt verimiyle ön plana çıkan, ancak ürünlerinin neredeyse tamamı değerlendirilen çok verim yönlü bir çiftlik hayvanıdır. Başta Asya ve Afrika kıtaları olmak üzere, geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde protein dolayısıyla et açığının kapatılması için çok önemli bir kaynaktır. Dünyada keçi varlığı 800 milyon baş civarında olup, bunun yaklaşık olarak % 90'ı Avrupa ve Asya kıtalarında yetiştirilmektedir. Bu oran içerisinde %18,8 ve % 16,4'lük pay ile Hindistan ve Çin ilk sıralarda yer alan ülkeler konumundadır (Anonim, 2015b).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK, 2015) 2015 yılı istatistiklerine göre Türkiye'de toplam 10.416.166 baş keçi baş keçi bulunmaktadır. İstatistiklere göre bunun 10.210.338 başı Kıl keçisinden geriye kalan 205.828 başı ise Tiftik keçisinden oluşmaktadır. Türkiye'deki keçi varlığının illere göre sayısal dağılımı Şekil 1.1.'de verilmiştir (Anonim, 2014c). Aydın ilinde 107 bin 568 baş keçi, Denizli ilinde ise 213 bin 654 baş keçi bulunmaktadır.

Türkiye'de Kıl keçisi yetiştiriciliği, Ege, Akdeniz, Marmara, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgelerinde yapılmaktadır. Genellikle yoğun olarak Akdeniz Bölgesi'nde yapılmakta ve toplam Kıl keçisi varlığının yaklaşık % 27.58'i bu bölgede bulunmaktadır (Dellal vd., 1997; Ertuğrul vd., 2000).



Şekil 1.1. Türkiye keçi varlığının illere göre dağılımı (Anonim 2014c)

Türkiye de keçi yetiştiriciliği denildiğinde genel olarak akla, neredeyse 11 milyon baş civarında olan keçi varlığının yaklaşık % 90'nını oluşturan Kıl keçileri gelmektedir (Anonim, 2014). Büyük bir popülasyona sahip olan Kıl Keçileri, hem genotip hemde bakım ve beslemeden kaynaklanan yetersizliklerinden dolayı düşük verimli olarak nitelenmektedir. Ancak, yetiştirildikleri koşullar düşünüldüğünde bu nitelme Kıl keçilerine haksızlık olarak değerlendirilebilir. Populasyondaki çok geniş varyasyon verimlerin geliştirilebilme potansiyeline işaret etmektedir. Potansiyelden gereğince yararlanmak için keçi başına verimi yükseltmek gerekmektedir. Buda mevcut varyasyonu değerlendirecek ıslah çalışmaları ve aynı zamanda gerekli bakım ve besleme şartlarının sağlanması ile mümkündür.

Büyüme hormonu (GH) geninin ürünü olan ve hipofiz ön loobu somatotropik hücreleri tarafından salgılanan anabolik bir hormon olan büyüme hormonu; hayvanların büyüme ve gelişmelerinde, dokuların büyümesinde, emzirme ve üreme döneminde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca protein, yağ ve karbonhidrat metabolizması için önemli olan, kemik, kas ve yağ dokusu gibi çeşitli dokularda büyüme üzerindeki etkileri gözlenen, meme dokusunun büyümesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir hormundur.

Büyüme başta olmak üzere birçok özelliğin şekillenmesinde görevli olan büyüme hormonunun salgılanmasında görevli olan büyüme hormonu geni çiftlik hayvanlarında süt üretimi, büyüme regülasyonu, karkas ve immun sistemi ile ilgili

genetik markör tanımlamak için iyi bir aday gen olarak düşünülmektedir (Yao vd., 1996; Ge vd., 2003). Büyüme hormonu geni, sığırdaki olduğu gibi keçide de 19. Kromozomda yer almakta (Dettori vd., 2013), 5 ekson ve 4 introndan oluşmaktadır (Wickramaratne vd., 2010).

Hayvanlarda genetik yapılarını tanımlamaya yönelik moleküler genetik yöntemlerin kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Genetik farklılıklar ancak DNA düzeyinde yapılan tanımlamalarla sağlıklı bir şekilde ortaya konabilmektedir. Elde edilen genotipler ile fenotipik verilerin ilişkilendirilmesi ise verimlerden sorumlu genlerin belirlenmesine ve genotiplerin etki düzeylerinin tanımlanmasına, dolayısıyla da bu bilgilerin ıslah programlarında kullanılabilmesine olanak tanımaktadır. Son yıllarda çiftlik hayvanlarında genetik çeşitliliğin ortaya konması ve artırılması amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Sığır, koyun, domuz gibi çiftlik hayvanlarında bu çalışmalar fazla yapılmasına rağmen, keçi ile ilgili çalışmaların ancak son zamanlarda artış göstermeye başladığı görülmüştür.

Klasik ıslahta genotip tayini fenotipe dayalı yapılmaktadır. Moleküler genetik analizlerin etkin kullanımı daha hızlı ve doğru bir genotip tayini yapılmasına olanak tanımıştır. Verim özellikleri çok sayıda gen tarafından belirlendiklerinden ve çevre şartlarından büyük ölçüde etkilendiklerinden dolayı doğrudan fenotipten yola çıkarak bu tür özelliklerde genotip ve çevre etkilerini birbirinden ayırmak hem zor hem de düşük duyarlılıkta olmaktadır. Bu yüzden, gen etkilerinin moleküler genetik yöntemlerle belirlenmiş olması ve bunlara ait genotip bilgilerinin ıslah programlarına dahil edilmesi özellikle zamandan tasarruf sağlayarak ve damızlık değer isabet derecesini artırarak genetik ilerleme hızını yükselmektedir (Cemal ve Karaca, 2006)

Keçilerde ve ülkemiz anlamında düşünüldüğünde özellikle Kıl keçilerinde verim özellikleri üzerine etkili gen ve genotiplerin tanımlanması ve ıslah programlarında bunlardan yararlanması gerekmektedir. Bu anlamda, büyüme hormonu geni önemli bir aday genidir. Gen kapsamındaki polimorfizmin ortaya konması ve başta büyüme özellikleri olmak üzere verimlerle ilişkilendirilmesi bu genden ıslah programlarında yararlanma olanağını ortaya koyacaktır.

Aydın ve Denizli illerinde yetiştirilen Kıl keçilerinde yapılan bu çalışmada, büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 bölgeleri bakımından mevcut olan

polimorfizmin tanımlanması ve oğlakların büyüme özellikleri bakımından genotipler arası farklılıkların ortaya konması amacıyla yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Keçi Türüne Ait Genel Bilgiler

Keçi, milattan önce 6000–7000 yıllarında evciltilmiş olup evcil keçi ırkları Orta Avrupa'nın doğu bölgesinde *Capra prisca*, Afganistan'da *Capra falconeri* ve Anadolu ve İran'ın dağlık bölgelerinde yaşayan *Capra aegagrus* yaban keçi ırklarından köken almıştır (Şengonca ve Koşum, 2005).

Keçi ilk evcilleştirilen hayvanlardandır. Evcil keçi *Capra hircus* olarak bilinmektedir. Evcil keçinin iki ayrı yaban keçi türü olan *Capra aegagrus* ve *Capra falconeri*'den köken aldığı tahmin edilir (Dong vd., 2012).

Süt hayvanları arasında önemli bir yeri olan keçiler, bazı ülkelerde büyük önem kazandığı halde, dünya keçi varlığının neredeyse yarısının yaşadığı Asya ülkelerinde, keçilerin ilkel şartlarda yetiştirildiği bilinmektedir. Ayrıca, Asya ülkelerinde keçilerin et kaynağı olarak değerlendirilmeleri oldukça yüksek orandadır (Sönmez vd, 1970).

Keçiler, yem kaynakları potansiyelinin sınırlı olduğu ve özellikle sulama imkânlarının kısıtlı bulunduğu yörelerde, mevcut yem kaynaklarını en iyi biçimde değerlendirerek, yetiştiricilerin gereksinimi olan et ve süt gibi ürünleri en ekonomik şekilde sağlayan hayvanlardır (Gall, 1988).

Keçi, yetiştiren kişiler açısından önemli avantajlar sağlar. Keçiler, kaba yemleri ve mutfak artıklarını çok iyi değerlendirebilmektedir. Bakım masraflarının diğer hayvanlara göre az oluşu, fazla özen gerektirmemesi, işletmenin kurulması ve gerekli hayvan materyalinin sağlanması için ihtiyaç duyulacak sermayenin diğer hayvan türlerinden daha az oluşu, keçi yetiştiriciliğini cazip hale getirmektedir. Ayrıca keçi sütünün diğer sütlerden daha az mikroorganizma ve pestisit içermesi, keçi sütlerinin yağ ve proteininin daha kolay sindirilebilmesi ve bileşenlerinin anne sütüne yakın oluşu da önemini arttırmaktadır (Güney ve Kaymakçı, 1997).

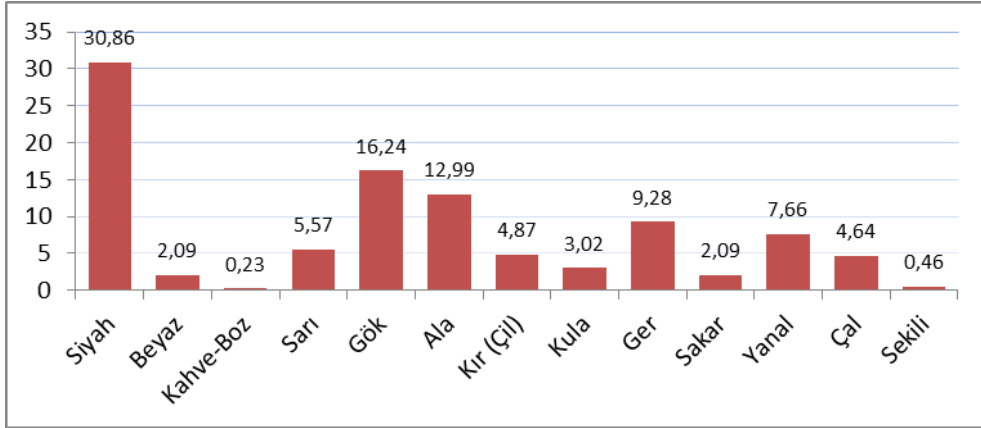
2.2. Kıl Keçisi ve Özellikleri

Kıl keçisi Türkiye'de en yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan keçi ırkıdır. Halk arasında 'Karakeçi' olarak bilinir. Tüm bölgelerde yayılmış olmakla birlikte, denize yakın ormanlık, çalılık bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Ege ve

Akdeniz Bölgesi sahil kesimi, Marmara Bölgesi, Güneydoğu ve İç Anadolu Bölgesinde daha yaygın olarak yetiştirilir. Fundalık ve makiliklerden iyi faydalanabilen, meyilli ve kayalık arazilere tırmanabilen ve sert iklime dayanıklı bir ırktır. Kıl keçisi; çalı formundaki bitkiler, orman içi meralar, anızlar ve nadasa bırakılmış alanlardaki otlarla neredeyse masrafsız bir şekilde yetiştirilir (Anonim, 2015a). Yetiştiricilik sistemi tamamen ekstansiftir. Süt, et ve kılı için yetiştirilen bir ırktır.

Kıl keçisi; sağlam yapılı, hastalıklara dayanıklı ve kanaatkâr olarak bilinmektedir. Sürülerde geniş varyasyon olmakla birlikte verim yönünden sürü ortalamaları arzulanan düzeyin altındadır. Genellikle vücut orta irilikte olmakla birlikte yörelere göre cüsse büyüklüğü bakımından ciddi farklar gözlenebilmektedir.

Kıl keçilerinin, renkleri genellikle siyah olmakla birlikte çok farklı renk veya renk tonlarında bireylere rastlanmaktadır. Denizli ilindeki Kıl keçi popülasyonuna yönelik yapılan bir tanımlama çalışmasında (Varol, 2014) 13 fark renk tanımlanmıştır (Şekil 2.1.). Renklerin oransal dağılımları sürülere yetiştirici tercihlerine göre değişmektedir.



Şekil 2.1. Denizli ilinde yetiştirilen Kıl keçilerinde renk/renk deseni tanımlamalarının oransal (%) dağılımı (Varol, 2014)

Vücudu örten kıllar kısa ya da uzun olabilmektedir. Derileri de koyu renklidir. Keçilerde ve tekeler boynuzludur. Kıl keçilerinde vücut oldukça dayanıklıdır. Baş orta büyüklükte ve düzgün profile sahiptir. Geniş bir varyasyon görülmekle birlikte genellikle iri ve sarkık kulaklılardır. Ancak daha kısa kulaklı olanlarına da

rastlanır. Her iki cinsiyette de sakal bulunmaktadır. Kúpeli olanlarına pek rastlanmaz. Vücudu kaplayan kıl örtüsü üstte kaba ve uzun örtücü kıllar, altta ise ince yumuşak alt kıllardan oluşur. İlkbaharda taranarak toplanabilen bu ince alt kıllar kaşmir yünü tipindedir (Anonim, 2015c).

Erkekler ve dişiler çoğunlukla boynuzlu olarak görülür. Boynuzlar erkeklerde daha çok gelişmiş, boynuz uçları arasındaki mesafe 60-70 cm'ye ulaşabilmektedir. Boynuz, dişilerde geriye doğru kıvrılmaktadır. Bazen bu kıvrım bir iki kıvrım yapabilmektedir. Ayrıca bu kıvrım Kıl kerkeklerinininkine göre daha zariftir. Boynuz kesiti oval veya yuvarlaktır. Denizli ilindeki Kıl keçi popülasyonuna yönelik yapılan bir morfolojik tanımlama çalışmasında (Varol, 2014) teke ve keçilerin ergin canlı ağırlık ve vücut ölçüleri için elde edilen tanımlayıcı değerler Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Denizli ilinde yetiştirilen Kıl keçilerinde canlı ağırlık ve vücut ölçülerine ait tanımlayıcı değerler (Varol, 2014)

Değişkenler	Dişi (Ortalama yaş: 4.5 yıl)		Erkek (Teke) (Ortalama yaş: 3 yıl)	
	n	Ortalama±ss	n	Ortalama±ss
Canlı Ağırlık	408	58.49±9.988	67	73.89±15.430
Alın Genişliği	421	12.70±1.072	72	14.71±1.338
Kulak Uzunluğu	421	21.27±3.087	72	21.45±2.971
Kafa Uzunluğu	421	18.08±1.720	72	18.79±2.218
Göğüs Genişliği	421	20.16±2.089	72	20.90±2.036
Sağrı yüksekliği	421	78.62±4.694	72	85.79±5.672
Cidago Yüksekliği	421	81.08±4.906	72	90.28±7.330
Sırt Yüksekliği	421	76.51±4.743	72	83.39±5.757
Göğüs Derinliği	421	34.12±2.213	72	38.49±3.742
Göğüs Çevresi	421	90.52±6.068	72	98.81±8.520
Vücut Uzunluğu	421	75.22±4.616	72	80.47±7.146

Kıl keçileri için laktasyon süresi ve laktasyon süt verimi sırasıyla 143.7 gün ve 80.4 kg olarak bildirilmiştir (Şengonca vd., 2003). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından hazırlanan Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu'nda (Anonim, 2009) Kıl keçileri için yapılan ırk tanıtımında oğlak verimi 1.1, dişi ve erkek oğlak doğum ağırlığı sırasıyla 2.5 ve 3.4 kg, oğlaklarda günlük canlı ağırlık artışı 160 gr, erkekler için ergin canlı ağırlık 45-90 kg, dişiler için ergin canlı ağırlık 40-65 kg, laktasyon süt verimi 98 kg, laktasyon

süresi 183 gün, üst kaba kıl ve kaşmir verimleri sırasıyla 410 ve 46 gram, cidago yüksekliği 68 ve vücut uzunluğu 69 cm olarak belirtilmiştir.

Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin diğer yetiştiriciliklerin yanında ayrı bir yeri vardır. Çünkü koyun ve keçiler verimsiz yerlerde bile başka türlerin yararlanamadığı alanları değerlendirerek bu dezavantajı et, süt, yapağı, kıl ve deri gibi ürünlere dönüştürerek avantaja çevirme yeteneğine sahiptirler. Türkiye küçükbaş hayvan varlığı bakımından dünyada önde gelen ülkelerden biri olmasına rağmen gerekli ıslah çalışmaları son zamanlara kadar devreye sokulmadığından hayvan başına sağlanan verim açısından arzulanan gelişmeler sağlanamamıştır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından son yıllarda devreye sokulan “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamında sahada yürütülmeye başlanan ve Kıl keçilerini de kapsayan tanımlama ve ıslah çalışmaları bu anlamda umut vadetmektedir.

Et verimi, diğer etinden yararlanılan hayvanlarda olduğu gibi, keçilerde de döl verimiyle ölçülür ve başta gelişme (canlı ağırlık artışı) hızı olmak üzere, yemden yararlanma yeteneğinin ve günlük yem tüketiminin etkisindedir. Damızlık seçiminde et veriminin ve gelişmenin başlıca parametreleri, doğum ağırlığı, süttan kesim ağırlığı ve kesim öncesi ağırlığıdır. Doğum ağırlığı, genetik yapıyla birlikte gebelik dönemine ilişkin çeşitli dış faktörlerin etkisi altında değişen ve kalıtsallık düzeyi yüksek olmayan bir özelliktir. Nitekim keçilerin doğum ağırlığının kalıtım derecesini 0.29 ile 0.55 arasında değiştiğini bildirmektedir (Gall, 1981). Bu parametrelerden elde edilen ve gelişme hızının kriteri olan günlük ortalama canlı ağırlık artışı kalıtsal bir özelliktir. Canlı ağırlık artışı da yem kalitesi ile yemden yararlanma yeteneği gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Şengonca vd., 2005).

Türkiye küçükbaş hayvancılığında; büyük oranda düşük verimli yerli ırklardan meydana gelen populasyonun yetiştiriciliği ekstansif yapıda olup neredeyse tamamı otlatmaya dayalı besleme koşulları ile üretim hedeflenmektedir. Sektörün bu özelliklerine; işletmelerin küçük ve yetersiz bir yapıya sahip olması, girdilerin temin edilmesi, ürün pazarlama ve değerlendirme olanaklarının yetersizliği, buna bağlı olarak üreticinin pazar fiyatından çok düşük pay alması, üretimin büyük oranda geçimlik olarak yapılması da eklenebilir (Ertuğrul vd., 2010).

Ülkemizde, 1990 yılında 10 milyon baş dolayındaki keçi sayısı zaman içerisinde önemli bir kayba uğramış, 2010 yılının başında neredeyse yarıya düşmüş; alınan tedbirlerle 2010 yılı sonrasında yeniden artış sergilemiştir. Yıllara göre Tiftik ve Kıl keçisi varlığı Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Türkiye keçi varlığında son yıllarda gözlenen sayısal değişim (Anonim, c)

Yıllar	Ankara keçisi (bin baş)	Kıl keçisi (bin baş)
1980	3.658	15.385
1990	1.279	9.698
2005	233	6.284
2010	153	6.141
2011	151	7.127
2012	158	8.199
2013	166	9.059
2014	178	10.167
2015	206	10.210

2.3. Büyüme Hormonu ve Keçi Büyüme Hormonu Geni Genel Özellikleri

Büyüme hormonu (BH), hipofiz ön lobundaki eozinofilik hücrelerden salgılanan, protein yapısında bir hormondur. Hipofiz bezi çıkartılmış olan hayvanlarda büyümenin durduğunun ve dışardan BH verilmesi ile büyümenin devam ettiğinin tespit edilmesi ile büyüme hormonunun büyüme üzerinde esas görevi olduğu belirlenmiştir.

Postnatal büyüme dışında hipofiz bezinden salınan büyüme hormonunun, vücutta kemik, kas, yağ dokusu üzerinde etki ederek; glikoz, protein, lipid metabolizmaları, azot ve mineral dengesi üzerinde de görevlere sahip olduğu belirlenmiştir. Büyüme hormonu sentez ve salınımı yaş, cinsiyet, fizyolojik kondisyona göre değiştiği bilinmektedir (Moller vd., 2009).

Postnatal büyüme dışında hipofiz bezinden salınan büyüme hormonu, vücutta kemik, kas, yağ dokusu üzerinde etki göstererek glikoz, protein, lipid

metabolizmaları, azot ve mineral dengesinin sağlanmasında da görev alır. Büyüme hormonunun laktasyon, meme gelişimi, üreme, et ve süt verim özellikleri üzerine etkisi olduğu görülmüştür. Bu yüzden başta sığır olmak üzere birçok öneme sahip hayvanda büyüme hormonunun et ve süt verim özellikleri ile ilişkisi konusunda pek çok çalışma yapılmıştır.

Büyüme hormonu seviyesinin hayvanın yaşına, cinsiyetine, fizyolojik durumuna bağlı olmakta ve bazen gün içerisinde bile değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle hormon seviyelerinin ölçümüne göre yapılacak bir seleksiyon yanıtıcı olacağı için genellikle çalışmalar hormon özelliklerini belirleyen büyüme hormonu geninde yoğunlaşmıştır. Bu nedenle büyüme hormonu gen polimorfizmleri verim özellikleri açısından yapılacak olan seleksiyonlar için önemli bir ölçüt olabilecektir.

Büyüme hormonu da pek çok hücre tipinin büyümesini, metabolizmasını ve farklılaşmasını kontrol etmekle birlikte doğrudan veya dolaylı olarak oldukça geniş fizyolojik işlevlere sahiptir. Metabolik etkileri arasında yağ moleküllerinin trigliseridlere parçalanmasını sağlamak ve dolaşımında birikmesini baskılamak, protein anabolizmasını düzenlemek böylece protein sentezini ve aminoasit tutulumunu arttırmak anti-insülin etkisi ile karaciğerden glikoz salınımını düzenlemeye yardımcı olmak ve kan şekerini normal sınırlarda tutmak sayılabilir. Dolaylı olarak karaciğerden IGF-I (Insülin Like Growth Factor-I) salınımını kontrol ederek kemik gelişimi üzerinde etki gösterdiği bilinmektedir (Secchi ve Borromeo, 1997).

Büyüme Hormonu(GH) geninin ürünü olan büyüme hormonu, memelilerde doğum sonrası büyüme ve metabolizmanın ana düzenleyicisidir. Büyüme Hormonu, büyüme hızını, vücut kompozisyonunu, sağlığı, süt verimini ve bu işlemlerde görev alan birkaç genin ekspresyonunu düzenleyerek yaşlanmayı etkilemektedir (Ge vd., 2003). Bu nedenle GH geni çiftlik hayvanlarında süt üretimi, büyüme regülasyonu, karkas ve immun sistemi ile ilgili genetik markör tanımlamak için iyi bir aday gen olarak düşünülmektedir (Yao vd., 1996; Ge vd., 2003).

Büyüme hormonu geni, sığırdaki olduğu gibi keçide de 19. Kromozomda yer almaktadır (Dettori vd., 2013). 5 ekson ve 4 introndan oluşan büyüme hormonu geninin yapısı (Wickramaratne vd., 2010) Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Keçi büyüme hormonu geninin yapısı (Wickramaratne vd., 2010)

2.4. Keçi Büyüme Özelliklerine İlişkin Çalışmalar

Laes ve Peters (1995), Baladi, Zeraibi ve Damascus oğlaklarında yaptıkları çalışmada doğum ağırlığı ile büyüme arasında önemli bir ilişki olduğunu ve doğum tipi, cinsiyet ve ananın canlı ağırlığının büyüme hızını önemli ölçüde etkilediğini tespit etmişlerdir. Oğlakların 14. hafta sonundaki canlı ağırlık ortalamalarını sırasıyla 7.50, 10.97 ve 8.38 kg olarak bulmuşlardır.

Wladron vd. (1996), kasaplık melez keçi üretmek amacı ile İspanyol ve Ankara keçilerini kullanmışlardır. Büyüme ve yem değerlendirme oranı bakımından karşılaştırdıkları çalışmalarında Ankara, İspanyol ve Boer tekelerinden elde edilen erkek oğlaklarda söz konusu olan özellikleri değerlendirmişlerdir. Ankara keçisi melezi oğlaklar diğerlerinden 13.1kg daha hafif gelmiştir. Melez oğlaklarda doğum, süttten kesim 100. gün ve 8 ay canlı ağırlıkları aynı bulunmuştur.

Saithanoo vd. (1993), Yaptıkları çalışmada 6 baş yerli Thai, 15, 21, 16 baş %25, 50 ve 75 Anglo-Nubian melezi oğlağın doğum, 6.hafta ve 12.haftadaki büyüme hızları karşılaştırmışlardır. Verileri en küçük kareler yöntemiyle analiz etmişlerdir. Doğumdan 12. haftaya kadar olan büyüme hızı ortalamaları sırasıyla 26,6, 27,3, 28,8 ve 30,2 kg olarak bulmuşlardır.

Alçiçek vd. (1996), farklı protein düzeylerinin oğlaklarda gelişmeye etkisini araştırdıkları çalışmada, günlük canlı ağırlık artışının 150g düzeyinde olduğunu belirtmişlerdir.

Çağraş vd. (1999), çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım işletmesinde yetiştirilen (1 ve 7 Ocak) 1997 yılında doğan Saanen ırkı oğlaklarda yürütülmüştür. Farklı iki sürede süttten kesilen Saanen oğlaklarının büyüme özelliklerini araştırmışlardır. Araştırmada elde edilen sonuçlar, 60 ve 90. günde süttten kesilen erkek ve dişi oğlaklarda doğum ağırlıklarını 4.21 ve 4.01 kg,

4.62 ve 3.60kg saptarken sütten kesim ağırlığını da sırasıyla 26,6 ve 29,80 kg, 32,30 ve 24,10 kg olarak belirtmişlerdir.

Güney vd. (1984), Saanen x Kıl birinci geriye melez erkek oğlaklar üzerinde yaptıkları çalışmada, doğumdan sonraki haftada kastre edilmiş erkek oğlakların kastre edilmemiş oğlaklara göre daha yavaş geliştikleri ortaya konulmuştur.

Güney ve Çayan (1987), tarafından gerçekleştirilen çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde yürütülmüştür. Sütten kesilen iki aylık yaşlı Kıl oğlaklarda iki ay süre ile entansif besi yapmışlardır. Araştırmacılar, Kıl keçisi oğlaklarda doğum ağırlığını 4.1kg, besi başı yaşını 63 gün, canlı ağırlığını, 18.7kg, besi sonu ağırlığını 29,2kg, toplam canlı ağırlık kazancını 10,5kg, günlük canlı ağırlık artışını 183,9g, günlük yem tüketimini 466g/gün, yem değerlendirme oranını ise 2,8 olarak hesaplamışlardır.

Koşum vd.(2005), yaptıkları çalışmada sınırsız yoğun yem uygulamaları(ad-libitum) ile oğlakların günlük canlı ağırlık artışları 200g' ı geçememiştir. İngiliz Saanenleri ve Saanen x Ankara keçisi melezi oğlakların entansif yoğun yem besisindeki canlı ağırlık artışları ise 209g ile 128g arasında saptanmıştır.

Yargıcı vd. (1991), Ak keçilerde erken ve yarı erken sütten kesimin etkileri üzerine yaptığı araştırmada oğlakları erken (beşhafta) ve yarı erken (yedi hafta) dönemlerde sütten kesimin canlı ağırlık artışı ve vücut ölçüleri ve yaşama gücü üzerine etkilerini araştırmışlardır. 5. ve 7. haftalarda sütten kesiminin oğlaklarda vücut ölçüleri, büyüme özellikleri ve yaşama gücü üzerine önemli bir etkisinin olmadığını saptamışlardır. Ak keçi oğlaklarında doğum ağırlığını erkekte 3.459kg ve dişilerde 3.118kg, 49 günlük sütten kesim ağırlıklarını da sırasıyla 9.583kg ve 9.808kg, 29–49 gün arası ortalama günlük ağırlık artışını ise erken ve yarı erken grupların erkeklerinde 153,2 ve dişilerinde 144.6g/gün olarak saptamışlardır.

2.5 Keçide Büyüme Hormon Genine Yönelik Yapılan Çalışmalar

Hua vd. (2009) yaptıkları çalışmada büyüme hormonu geninin polimorfik olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada, 2064 bç'lik olan büyüme hormonu genine ilişkin PCR ürünleri *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanarak fragmentlere ayrılmıştır. Farklı keçi ırkları ile yaptıkları bu çalışmanın amacı; 11 aylıkken sütten kesilen keçilerin doğum, büyüme, vücut ağırlığı ve boyutu gibi özelliklerinin genotip ile bir ilişkisini kurmak olmuştur. Büyüme hormonu

genindeki polimorfizmin sütteki, yağ ve protein verimi, yağ ve protein oranlarına ve büyüme üzerine ne şekilde etkilendiğini gözlemlemişlerdir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlar; Kesim sonrası 4 allel (A, B, C ve D) ve yalnız 4 genotip (AA, AB, CC ve CD) gözlemlenmiştir. Bulunma frekansları sırayla; 0,1623, 0,8377, 0,8571 ve 0,0974. AB genotipli keçiler AA genotipli keçilere göre 2 kg daha ağır ölçülmüştür. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda büyüme hormonu geninin süttan kesimden sonra büyüme oranını etkilediğinden dolayı markör gen olarak kullanılabilceğini ifade etmektedirler.

Kurdistan vd. (2013) yaptıkları bir çalışmada; İnsülin benzeri büyüme faktörü gen polimorfizmini ele almışlardır. İran'da yetiştirilen keçilerin (Markham ve Kurdi) farklı ırklarına ait toplam da 296 baş keçi kullanmışlardır. Keçilerden alınan kanlarda PCR-RFLP yöntemini kullanmışlardır. Yapılan PCR-RFLP yöntemlerinde, polimorfizmi ve ekonomik özelliklerin arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde *HaeIII* enzimini kullanmışlardır. Bunların sonucunda, insülin benzeri büyüme hormonunun 422 baz çifti üzerinde 4. İntronda A₂→G görülen mutasyon meydana gelmiştir. Polimorfizminin hayvanlar üzerinde bazı etkileri olduğu görülmüştür. Hayvanın yün ağırlığı ile 3, 6, 9 ve 12 aylık hayvanlarda ortalama süt miktarı kazancı ile ve kırkımlar arasındaki ağırlık ile ilişkili olduğunu görmüşlerdir. Görülen mutasyonlar sonucunda GG genotipine sahip hayvanlarda belirtilen tüm özellikler için potansiyel bir değişim söz konusu olmuştur. Bu çalışmaların sonucu doğrultusunda Markham keçilerine ait bulguların büyüme özellikleri ve toklu hayvanların yapağı ağırlığı ile ilişkili olduğunu düşündürmektedirler.

Zhang vd. (2011) yaptıkları çalışmada; Büyüme hormonunun süperovulasyon üzerindeki etkiyi araştırmışlardır. Büyüme hormonu genindeki ve aynı anda doğanların büyüklükleri ile ilişkisi araştırılmışlardır. Toplamda 583 baş keçide gerçekleştirilen bu çalışmada PCR-RFLP yöntemleri kullanılarak yüksek verimli (Matou, n = 182) ve düşük verimli (Boer, n = 352) ırklar araştırılmıştır. Ana hayvan sayısı 57 baştır. Süperovulasyondaki tepki üzerinde, GH geninin farklı genotiplerinin etkisini değerlendirmek hedeflemiştirler. A → G üzerinde gerçekleşen mutasyon bulmuşlardır. Mutasyonlar sonucunda her ırkta AA ve AB, CC ve CD genotipleri bulunmuştur. Fakat BB ve DD homozigot genotipler gözlenememişlerdir. AB ve CD genotipik frekanslar AA ve CD genotipik frekanslarına göre daha yüksek bulunmuştur. ABCD genotipine sahip hem matou ve hemde boer annelerinin fazla yavruleme sayısına sahip olduğunu bulmuşlardır.

Sonuç olarak; Yumurtalık kistleri ile süperovulasyon tedavileri, yumurtaların önemli ölçüde daha fazla sayıda görülmesi AA, CD, AB ve CC genotipleri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Büyüme hormonu genin ırklar için yüksek doğurganlığa ve keçi ırkları için süperovülasyon ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Saleha vd. (2012) yaptıkları çalışmalarda; büyüme hormonu geninin keçilerde büyüme özellikleriyle ilişkisini araştırmışlardır. Ağırlıklı olarak koruma altında olan evcil hayvanlarda genetik polimorfizm ve ırklar arasında genetik varyasyonu değerlendirilmesini hedeflemiştir. Mısır ve Suudi Arabistan ülkelerinden alınan ırklarda (Barki, Zaribi, Ardi and Mastri) büyüme hormonu geni üzerindeki polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile araştırmışlardır. *HaeIII* enzim kesimi sonucunda AA, AB, CC ve CD genotipleri bulunmuştur. Bazı bölgelerde nükleotid ve aminoasit değişiklikleri bulunmuştur.

Marques vd. (2003) yaptıkları çalışmada, 229 baş hayvan kanının DNA'sını kullanmışlardır. Hayvanlardaki genetik polimorfizm ve süt üretimi özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı hedeflemiştir. Büyüme hormonu geni araştırılmasında PCR-SSCP yöntemi kullanmışlardır. Keçi büyüme hormonu genindeki genetik polimorfizmin olduğunu saptamışlardır. Süt verim üzerindeki varyasyonu etkileyen mutasyonlar üzerinde daha fazla araştırma yapmak öncelikli hedefleri olmuştur. Ekzon 1 ve 2'de 2, ekzon 3'de 6, ekzon 4'de 10 ve ekzon 5'de 5 yapısal SSCP deseni bulunmuştur. Ribatejano ekotipi için ekzon 4'ün A/B deseninin süt ve süt yağ miktarı ile süt protein yüzdesi bakımından ilişkili olduğu, Jarmelista ekotipi için ekzon 2'nin A/B deseninin süt miktarı ile, ekzon 1'in A/B deseni ile ekzon 2'nin B/B deseninin Ribatejano protein yüzdesi ile pozitif etkili olduğu düşünülmüştür ($P < 0.05$). Sonuçlar diğer çalışmalarda olduğu gibi marköre dayalı seleksiyonda (MAS), gGH geninin aday bir gen olarak kullanılabileceğini ve dördüncü ekzonun süt miktarını etkileyen mutasyonların araştırılmasında kullanılacak ayrıcalıklı bir bölge olduğunu desteklemektedir.

Maj vd. (2010) yaptıkları çalışmayı farklı ırklarda toplamda 454 baş hayvanda yürütmüşlerdir. Hayvanlar rahat ortamlarda yetiştirilmiştir. Ortalama süt verimleri ölçülmüştür. RFLP yöntemini ve *MspI* enzimini kullanmışlardır. C→T arasında mutasyon görülmüştür. Çalışma sonunda bulgular keçi sütü, meme sağlığı ile ilişkili olduğunu düşünmüşlerdir. Fakat tam veri elde edebilmek için daha fazla hayvan üzerinde çalışma yapmalarına gerek duyduklarını dile getirmişlerdir.

Malveiro vd. (2001), Algarvia keçilerinde büyüme hormon geni polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. 108 Algarvia keçisinden DNA ekstraksiyonu yapmışlardır. SSCP yöntemi ile keçi büyüme hormonu geninin beş ekzonu da incelenmiştir. Ekzon 1 ve 2'nin her biri için iki, ekzon 3 için dört, ekzon 4 için altı ve ekzon 5 için beş yapısal model bulmuşlardır. Bu modeller ile süt, süt yağ ve süt protein verimi ile yağ ve protein içeriği karşılaştırılmıştır. Ekzon 4'ün F/F modeli ve Ekzon 5'in A/A modeli ile süt verimi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur ($P < 0.05$). Sonuçlar GH geninin markör destekli seleksiyonda aday bir gen olarak kullanılabilceğini göstermiştir.

2.6. Farklı Hayvan Türlerinde Büyüme Hormonu Genine Yönelik Yapılan Araştırmalar

Hoj vd. (1993), yaptıkları çalışmalarda Danimarka Kırmızısı sütçü ırkına ait yüksek ve düşük süt yağ oranına sahip hayvanlardan 58 buzağı ve Norveç Kırmızısı sütçü ırkından 32 dişe hayvan materyalini kullanmışlardır. *bGH* geninin 3' bölgesinde insersiyon(I)/delesyon(D) polimorfizmi ile üçüncü intron bölgesinde *Msp I*(+/-) polimorfizmi bakımından genetik araştırmasını yapmışlardır. Yapılan çalışmada RFLP yöntemi uygulanmış ve sonucunda yalnızca *I-MspI*(+) ve *D-MspI*(-) haplotipleri olduğunu bulmuşlardır. Danimarka Kırmızısı ırkında yüksek süt yağ oranına sahip hayvanlarda *D-Msp I* haplotipinin frekansını 0.28, düşük süt yağ oranına sahip hayvanlarda ise 0.05 olarak hesaplamışlardır ($p < 0.01$). Norveç Kırmızısı ırkında yüksek süt yağ oranına sahip hayvanlarda *D-Msp I* frekansı 0.09 bulmuşlardır. Düşük süt yağ oranına sahip olan hayvanlarda ise 0,0 bulmuşlardır. Sonuç olarak 3' bölgesindeki delesyonun ve üçüncü intron bölgesindeki *Msp I*(-) polimorfizminin süt yağ oranı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır.

Unanian vd. (2002), yaptıkları çalışmada toplamda 211 boğa kullanmışlardır. Nellore saf ırkında büyüme hormon geni polimorfizmi ile üreme özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. 10 ile 16 aylık yaşlarda her ay düzenli olarak testis torbası çevresi ve testosteron yoğunlukları ölçülmüştür. Bunların yanı sıra testislerin büyüme oranı hesaplanmıştır. DNA'ların izole edilmesinden sonra *bGH* genini (1181-2071. nükleotidler arası) PCR tekniği ile çoğaltmışlardır. *Msp I* ile *HaeIII* enzimlerini kullanarak kesim işlemi gerçekleştirmişlerdir. Her polimorfizm iki allel gösterdiğini bildirmişlerdir. Eşbaskın allelleri *bGH/Msp I* için D (0.85) ve *bGH/HaeIII* için F (0.98) olarak bulmuşlardır. Fakat EE genotipine rastlanılmamıştır. Çalışmaya göre %5 önem düzeyinde *bGH/Msp I* polimorfizmi

ile ergenlik dönemi sonrası için testis torbası çevresi ve testislerin gelişimi arasında önemli bir ilişki saptamışlardır. Bunun yanında yine %5 önem düzeyinde *bGH/HaeIII* polimorfizmi ile ergenlik dönemindeki testosteron yoğunluğu arasında önemli bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Sonuçlar doğrultusunda üreme ile ilgili özellikler bakımından yapılacak herhangi bir seleksiyonda bu ilişkinin kullanılabilceğini göstermişlerdir. Aynı zamanda sonuçlar *bGH/Msp I* ve *bGH/HaeIII* polimorfizmlerinin ergenlik dönemi ve ergenlik dönemi sonrası testis gelişimini tahmininde öncü gen olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Liron vd. (2002), yaptıkları çalışmalarda süt üretimi ile ilişkili proteinleri doğrulayan beş lokusun polimorfizmi ile ilgili verilerini araştırmışlardır. Elde edilen bu verileri Argentine ve Bolivian Creole sığırlarının genetik farklılığını ve popülasyon yapısını incelemek için kullanmışlardır. Altı Creole ırkının (Argentine=230, Patagonian=25, Saavedreno=140, Chaqueño Boliviano=30, Yacumeno=27 ve Chusco=11) kanlarından DNA izole etmişlerdir. κ -kazein, β -laktoglobulin, büyüme hormonu ve prolaktin genini PCR-RFLP metodu ile, α s1-kazein genini PCR-ASO ile belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda; (i) Çalışılan genlerde, Argentine ve Bolivian Creole ırklarında gözlenen gen frekansları değerlerinin tarihi bir bağları bulunan Iberian ve Güney Amerika Creole sığır ırklarının özelliklerine yakın olduğunu saptamışlardır. Argentine ve Bolivian Creole sığırlarının önemli düzeyde alt guruplara sahip olduğu fakat her popülasyonun genetik çeşitlilik derecesini sürdürdüğü bildirmişlerdir.

Di Stasio vd. (2003), Piemontese sığır ırkında BH1 geninin 3. intronundaki polimorfik yapısını ve verim özellikleriyle ilişkisini incelemeyi amaçlayan çalışmalarında PCR-RFLP BH1 C alleli frekansını 0.842 ve D allel frekansını 0.158 olarak bildirirlerken, verim özellikleriyle olan ilişkilerini önemsiz bulmuşlardır. Bu çalışmada, DD genotiplilerin sayısının azlığı bu sonuca neden olduğu vurgulanırken, daha büyük sürülerde bu polimorfizmin araştırılması gerektiği önerilmiştir.

Chrenek vd. (1998), Slovak Pied ırkı 84 boğa üzerinde PCR-RFLP ile BH L ve V allel gen frekanslarını sırasıyla 0.56 ve 0.44 olarak bildirmişlerdir. Çalışmada VV genotipli boğalar canlı ağırlık ve günlük ağırlık artışı özellikleri itibarıyla LL ve LV genotiplilere göre oldukça düşük bulunmuştur ($P < 0.05$).

Mattos vd. (2004), BH ve Pit-1 gen polimorfizmini incelenmesi, süt verim özellikleriyle ilişkilerini araştırılması ve ırka ait genetik markör bilgisini ortaya konması amacıyla yaptıkları çalışmalarında, BH-Alu I ve MspI ile Pit-1 Hinf I kesim bölgeleri için 40 Gyr boğası genotiplemişlerdir. Çalışmalarında *Msp I* (+) ve *Msp I* (-) için sırasıyla 0.19, 0.81, *Alu I V* ve *Alu I L* için sırasıyla 0.0, 1.0, *Hinf I* (+) ve *Hinf I* (-) için ise sırasıyla 0.95, 0.05 oranlarında allel frekansları tespit etmişlerdir. Pit-1 Hinf I (+/-) genotipli boğalar yağ oranı için üstünlük sağlamış, BH-Msp I (-)'de yağ oranı için arzulanan allel gen olmuştur. Ayrıca çalışmada bu iki genin, Zebu sığırlarında QTL araştırmaları için güçlü aday genler olabileceği önerilmektedir.

Pal vd. (2005), BH geninin 4. ekzonu, 4. intronu ve 5. ekzonunu kapsayan bölgede PCR-RFLP Alu I ile elde ettiği LL genotipli Karan Fries boğalarının süt verim özellikleri bakımından LV genotiplilerden daha yüksek değerlere sahip olduğunu ($P<0.01$) bildirmişlerdir.

Zhou vd. (2006), PCR-RFLP yöntemiyle elde edilmiş olan 543 Çin Holstein ineğine ait BH-Msp I polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, (+/+), (+/-) ve (-/-) genotipleri için sırasıyla 0.77, 0.21 ve 0.02, (+) ve (-) allelleri için ise 0.87 ve 0.13 oranlarını bildirmişlerdir. İncelenen popülasyonların ki-kare testine göre HardyWeinberg dengesinde bulunduğu bildirilmektedir. 3 laktasyon aşamasında da BH (+/+) genotipli inekler yüksek miktarda süt verimine sahip olarak bulunurken, (+/-) genotiplilerden daha fazla yağ verimine ve protein verimi ve protein oranına sahip olmuşlardır. (+/-) genotipli inekler ise (+/+) genotipli ineklerden daha yüksek yağ oranına sahiptiler. Bu sonuçlara dayanarak, BH (+/+) lokusun Çin Holstein ırkı ineklerde arzulanan genotip olduğunu ve MAS programlarında kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Dybus vd. (2003), Limousine ırkı 130 buzağı üzerinde PCR-RFLP ile BH geni polimorfizmini çeşitli enzimler ile incelemişlerdir. Alu I için LL, LV ve VV genotiplerini sırasıyla 0.469, 0.408, 0.123, L ve V allelleri 0.673, 0.327, Mbo II için AA, AB ve BB genotiplerini sırasıyla 0.723, 0.277, 0.00. A ve B allelleri 0.862, 0.138 olarak tespit ederlerken, buzağuların yararlı verim özellikleri ile tespit edilen polimorfizmlerin önemli ilişki içerisinde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Yanar (1996) rekombinant büyüme hormonunun süt sığırlarında süt verimine ve yem alımına olan etkisini inceleyen bir çalışma yapmıştır. Ekzojenik somatotropin

uygulamasıyla, sığırların süt verimini yaklaşık olarak % 6-30 arasında artmaktadır. Ayrıca, büyüme hormonunun kullanımının, elde 38 edilen sütün teknolojik özellikleri üzerine herhangi bir olumsuz etki yapmadığı tespit edilmiştir. Somatotropin enjeksiyonunu takiben, 5-6 hafta süreyle sığırların yem alımında bir değişiklik olmadığı ancak daha sonraki devrede artışlar görüldüğü belirlenmiştir.

Reis vd. (2001), yaptıkları çalışmada toplamda 195 boğa kullanmışlardır. sekiz farklı Portekiz sığır ırkında (Alentejana, Arouquese, Barrosa, Maronesa, Marinhoa, Mertolenga, Mirandesa ve Preta), PCR-RFLP yöntemini kullanmışlardır. *GH-AluI* polimorfizmine göre genotiplemesini yapmışlardır. Her ırkın genotipleri ve gen frekansları bakımından birbirlerinden oldukça farklı olduklarını bulmuşlardır. Lössin ve Valin gen frekanslarının 0.759 ve 0.241 olarak bulmuşlardır. Analiz edilen 168 hayvanda büyüme performansı ile *bGH-AluI* polimorfizmi arasında bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettikleri istatistiksel sonuçlara göre Alentejana, Marinhoa ve Preta ırklarında bGH-LL ve bGH-LV genotipleri ile ortalama vücut ağırlığı arasında önemli bir ilişki olduğunu bulmuşlardır.

Unanian vd. (2000), yaptıkları çalışmada toplamda Nellore saf ırkından 211 boğa kullanmışlardır. Çalışmada Büyüme hormon geni polimorfizmi ile ağırlık artışı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Ağırlıkla ilgili veriler doğum ağırlığı, süten kesme ağırlığı ve 10-16 aylık yaşlar arasında aylık canlı ağırlık artışı olarak belirlemişlerdir. Bunun yanında doğum-sütten kesme, süten kesme-16 aylık yaş dönemleri arasındaki ağırlık kazancını ölçmüşlerdir. bGH genini RFLP/Msp I (891 bç), RFLP/*Hae III* (441 bç) ve RFLP/*Alu I* (427 bç) polimorfik bölgelerine göre genotiplemişlerdir. Her polimorfizm iki allel vermiştir (Msp I için C ve D, *Hae III* için E ve F, *AluI* için A ve B). Eşbaskın olan alleller D, F ve A olarak saptamışlardır. *bGH/Alu I* AA genotipinin süten kesme ile 15 aylık yaşlarında, *bGH/Msp I* DD genotipinin 14-15 aylık yaşlarda ağırlık kazancı üzerine etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışmaların sonunda *bGH/Alu I* ve *bGH/Msp I* polimorfizmlerinin genç boğalarda ağırlık kazancı bakımından potansiyel işaret lokusları olabileceğini bildirmişlerdir.

Dybus (2002), yaptığı bu çalışmada; Polonya Siyah-Beyaz sığırlarını kullanmıştır. Prolaktin ve büyüme hormonu genlerindeki polimorfizimlerin süt verim özellikleri ile ilişkisi olup olmadığını araştırmıştır. Büyüme hormonu geninin üçüncü intron bölgesini PCR teknolojisi ile çoğaltmıştır. PCR ürününü RFLP yöntemini

kullanarak *MspI* enzimi ile kesmiştir. Tüm laktasyon döneminde en yüksek süt verimi ve protein oranına *MspI* (+/+) genotipinin, yine tüm laktasyonlarda en yüksek süt yağı oranına (% olarak) ise *MspI* (+/-) genotipinin sahip olduğunu saptamıştır.

Carillo vd. (1996), yaptıkları çalışmada dişi domuzlarda büyüme hormonu ve *IGF-I* lokusları ile süttten kesim öncesi ve sonrası ortalama günlük ağırlık artışı (ADG), fileto bölgesi ve kas pH'sı değerleri arasında bir benzerlik olup olmadığını araştırmışlardır. Fakat yapılan bağlantı (linkage) analizleri sonucunda ölçülen değerlerle büyüme hormonu genotipleri arasında kayda değer bir ilişki olup olmadığı bulamamışlardır.

Lechniak vd. (1999), yaptıkları çalışmada 10 günlük domuz embriyolarında domuz büyüme hormonu geninin (pGH) genotip ve allel dağılımını araştırmışlardır. Duroc semeni ile döllenmiş altı melez (Danimarka Landrace x Yorkshire) dişi domuzun otopsi ile embriyolarını toplamışlardır. DNA'lar izole edildikten sonra PCR yöntemi ile çoğaltmışlardır. *Msp I* ve *HaeII* enzimleri ile restriksiyon analizi yapmışlardır. Genotip frekansları; *Msp I* için CD 0.17, DD 0.83; Hae II için AA 0.33, AB 0.58 ve BB 0.09 bulmuşlardır. Yapılan çalışma sonucunda analiz edilen embriyolar arasında *Msp I* CC genotipine rastlanamamıştır.

Kuhnlein vd. (1996), toplamda 219 Beyaz Legorn tavuklarının 12 varyetesinden üç farklı genetik özellik temel alınarak (Marek hastalığına direnç, Avian lökozise direnç ve yumurta verim özellikleri) seçilmiş ve RFLP yöntemi kullanılarak büyüme hormon genindeki polimorfizmleri incelemişlerdir. *Sac I* ve *Msp I* enzimleri ile yapılan kesim yapmışlardır. Kesim sonucunda *Sac I* kesim bölgesinde 1, *Msp I* kesim bölgelerinde 3 polimorfizm bulmuşlardır.. Toplam 16 allelin beş tanesinde beklenen frekansın üzerinde olduğunu saptamışlardır..Bu beş allelden A1 ve A5 alleli ile kuluçkada kalma süreleri ve yumurta sayısı arasında pozitif bir ilişki bulmuşlardır.

Stephen vd. (2000), yaptıkları araştırmalarda Çin yerli tavuk ırklarında büyüme hormonu geni polimorfizmini araştırmışlardır. Sarı Wai Chow büyüme hormonu sekans analizi sonucu 1 sessiz yerine geçme (substitusyon), 31 araya girme (insersiyon) ve diğer yer değiştirme mutasyonlarının intronlar arasında yaygın olarak bulunduğu görmüşlerdir. Ayrıca birinci intronda daha önce belirlenmemiş

bir Msp I kesim bölgesi tanımlanmıştır. İntron 1 polimorfizmi 28 yerli Çin tavuğu popülasyonunda bulunmuştur. Bu sebeple cGH (Chicken Growth Hormone) geninin besleme programlarının oluşturulmasında olduğu kadar filogenetik analizlerde de faydalı olabileceği bildirmişlerdir.

Bastos vd. (2001), bir Portekiz yerli koyunu “Churra da Terre Quente”ye ait 40 hayvanda SSCP yöntemi ile genetik farklılığı araştırmışlardır. κ -kazein geninin dördüncü ekzonu, büyüme hormonunun dördüncü ve beşinci ekzonu, büyüme hormonu reseptör geninin altıncı ekzonu, β -kazein geninin yedinci ekzonu, α -laktalbumin geninin birinci ekzonu, α s1-kazein geninin on ve onbirinci ekzonları olmak üzere toplamda 7 gen parçasını PCR yöntemi ile çoğaltılmışlardır. PCR ürünlerinin beşinde polimorfizm saptamışlardır. Yalnızca κ -kazein ve büyüme hormon reseptör lokusları monomorfik bulmuşlardır. α -laktalbumin ve α s1-kazein ekzonları üç yapısal farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. β -kazein ve büyüme hormonunun dördüncü ekzonu iki elektroforetik farklılık gösterirken büyüme hormonunun beşinci ekzonu ise beş yapısal farklılık göstermiştir. Yaptıkları bu çalışmada elde edilen verilerin “Churra da Terre Quente”nin yüksek genetik çeşitliliğin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Ertaş (1999) ise büyüme hormonunun, tavşanlarda oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemek için bir çalışma yapmıştır. Bu çalışma için 3 farklı grupta incelemeler yapılmıştır. 10. 20. 30. ve 40. Günlerde örnekler alınmış ve bu örnekler sonucunda büyüme hormonu verilen grupta anlamlı bir fark görülmüştür. Sonuç olarak; kemik kaynaması, spongioz kemiği, kemik iliği ve korteksin oluşumu toplam olarak değerlendirildiğinde, büyüme hormonu verilen grupta en hızlı iyileşme görülmüştür.

Kang vd. (2001), yaptıkları çalışmada dil balığının büyüme özelliklerinin büyüme hormonu genindeki varyasyonlarla bağlantılı olabileceğini araştırmışlardır. Southern Blot analizi sonrasında PCR ürününün *Sau3AI* enzimi ile kesim yapmışlardır. Farklı uzunlukta polimorfik bantlar elde etmişlerdir. Üç farklı ölçüdeki (geniş, orta ve küçük) 60 dölün büyüme hormonlarının tamamı analiz etmişlerdir. Altı haplotip ve 15 genotip gözlemlemişlerdir. Farklı büyüklükteki gruplar arasında haplotipler bakımından ve genotip frekansları açısından önemli bir farklılık olduğunu bulmuşlardır. Araştırılan Büyüme hormonu geninde DNA düzeyinde gözlenen varyasyonun büyüme ile ilgili özellikleri doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebileceğini düşünmüşlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Ülkemizde sayısal olarak en fazla olan ve en yaygın yetiştirilen keçi ırkımız olan Kıl keçisine yönelik gerçekleştirilen bu çalışmanın hayvan materyalini Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından yetiştirici koşullarında hayata geçirilen “Halk Elinde Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamında Prof. Dr. İbrahim CEMAL liderliğinde Aydın ve Denizli illerinde devreye konan alt projeler kapsamındaki kimi yetiştirici sürüleri oluşturmuştur. İki il kapsamında yer alan toplam 8 yetiştirici sürüsünü esas alan çalışma kapsamında bu işletmelerdeki Kıl keçilerinden doğan oğlaklardan örneklenen toplam 297 baş oğlak materyel olarak kullanılmıştır. ve Çalışmada yer alan işletmelere ve işletmelerde örneklenen oğlak sayılarına ait özet bilgiler Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmaya Aydın ve Denizli illerinden dahil edilen işletmeler ve işletmelere göre örnek sayıları

Yetiştirici Adı	Kısaltma	Lokasyon	Örnek Sayısı (n)
Ramazan YAĞMUR	RY	Mollaahmet, Babadağ, Denizli	28
İbrahim ERMİŞ	İE	Akbaş, Honaz, Denizli	22
Hüseyin SALIN	HS	Karakaya, Çal, Denizli	27
Sami ABAŞ	SA	Akbaş, Honaz, Denizli	27
Arif ABAŞ	AA	Akbaş, Honaz, Denizli	27
Veli ÇOLAK	VÇ	Dutağaç, Bozdoğan, Aydın	56
Süleyman HOŞ	SH	Karapınar, Kuyucak, Aydın	56
Nazmi KOŞAR	NK	Yazır, Karacasu, Aydın	54
Toplam:			297

Çalışma kapsamında yer alan bazı yetiştirici sürülerindeki keçilere ait fotoğraflar Şekil 3.1.’de verilmiştir. Yoğunlukla keçiler siyah kıl rengine sahipken çok sayıda değişik kıl rengine sahip bireyler de sürülerde bulunmaktadır.



Fotoğraf: İbrahim Cemal



Fotoğraf: İbrahim Cemal



Fotoğraf: Onur Yılmaz



Fotoğraf: Onur Yılmaz



Fotoğraf: Onur Yılmaz



Fotoğraf: Onur Yılmaz

Şekil 3.1. Denizli ilindeki Kıl keçilerine ait fotoğraflar

3.2. Yöntem

Çalışmanın hayvan materyali olan Kıl keçisine yönelik fenotipik verilerin gözlem ve kaydı ile oğlaklardan moleküler genetik analizler için kan örneklerinin alınması yetiştirici işletmelerinde gerçekleştirilmiştir. Hayvanlara yönelik tüm müdahaleler, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK) 11 Haziran 2014 tarih ve 64583101/2014/060 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.

Kan örneklerinden DNA eldesinden büyüme hormonu geni 2 farklı bölgesine ait genotiplerin elde edilmesine kadar geçen tüm laboratuvar analizleri ise Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (TARBİYOMER) bünyesindeki Moleküler Genetik-1 laboratuvarı ile Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümünde bulunan Moleküler Genetik laboratuvarı cihaz altyapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırma yöntemine ait tüm aşamalar, uygulanma sırası baz alınarak, aşağıda ayrı ayrı başlıklar altında özetlenmiştir.

3.2.1. Performans Verilerinin Alınması Ve Kan Örneklerinin Toplanması

Öncelikle doğum döneminde, doğuran keçilere ait ayrıntılı doğum kayıtları tutulmuş ve oğlaklara plastik küpe ile kimliklendirilmiştir. Doğum kayıtları çerçevesinde keçinin küpe numarası ve doğurma tarihi ile oğlağa ait küpe numarası, doğum ağırlığı, doğum tipi ve cinsiyet bilgileri kaydedilmiştir. Oğlakların doğum ağırlıkları doğumu izleyen ilk 24 saat içerisinde 5 g hassasiyete sahip dijital el kantarları ile belirlenmiştir. Ardından, oğlakların büyüme dönemi takip edilerek yaklaşık 3.5 ve 5.5 aylık yaştaki canlı ağırlıkları 50 g hassasiyete sahip elektronik baskül ile belirlenmiştir. Canlı ağırlık tartımı öncesi oğlaklar 12 saat süreyle aç bırakılmıştır. Oğlakların doğum-3.5 aylık yaş ve 3.5-5.5 aylık yaş arası büyüme dönemlerine ait ortalama günlük canlı ağırlık artışları (OGCAA) ise hayvanların tartım ve günlük yaş verileri kullanılarak hesaplanmıştır.

Moleküler genetik analizler için gerekli DNA örneklerinin elde edilebilmesi amacıyla 3.5 aylık yaş dönemi tartımları yapılırken oğlakların boyun toplardamarından (*Vena jugularis*) 9 ml kan örneği K3 EDTA içeren vakumlu tüplere alınmıştır. Kan örnekleri DNA ekstraksiyonuna kadar geçen sürenin

uzunluğuna bağlı olarak +4°C'deki soğutucuda ya da -20 °C'deki derin dondurucuda bekletilmiştir.

3.2.2. Laboratuvar Analizleri İçin Gerekli özeltilerin Hazırlanması

Laboratuvar analizlerine başlamadan önce gerekli zeltiller hazırlanarak stoklanmıştır. DNA ekstraksiyonu ve elektroforez aşamasında kullanılan zeltillerin bileşimine ve hazırlanmasına yönelik bilgiler sırasıyla EK 3.1 ve EK 3.2'de sunulmuştur.

3.2.3. DNA Ekstraksiyonu, Miktar Ve Kalite Tayini

Alınan kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu Miller vd. (1988) tarafından bildirilen ve Binbaş (2006) tarafından uygulanan tuzla eltme prosedürü esas alınarak ayrıntıları EK 3.3'te verilen protokol kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

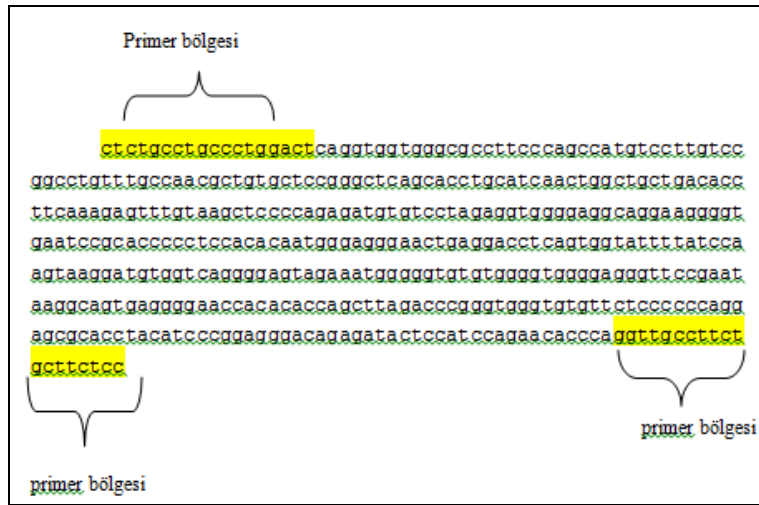
Elde edilen DNA rnekleri DNA spektrofotometre cihazında (NanoDrop ND2000, Thermo Scientific) yoğunluk ve kalite bakımından kontrol edilmiştir. Düşük kalitede olan örnekler için DNA ekstraksiyonu yeniden yapılmıştır. DNA rneklerinin yoğunluğu belirlendikten sonra μl 'de 50ng olacak şekilde miktar ayarlaması yapılmış ve örnekler tüplere pay edilerek PCR aşamasına kadar +4 °C ve -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.4. PCR ile DNA oğaltımı

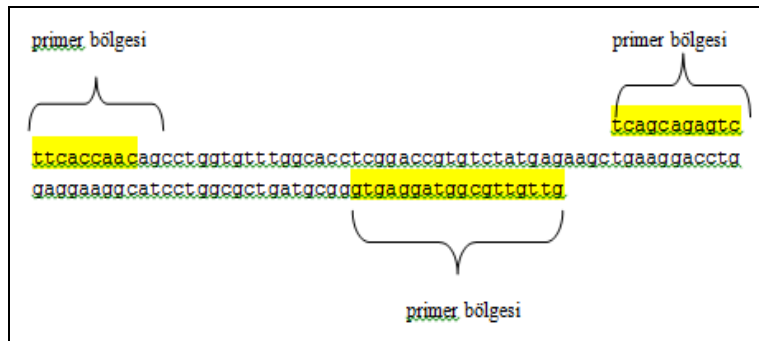
PCR aşamasında büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 bölgeleri iki farklı primer çifti kullanılarak oğaltılmış, kullanılan primerlerin dizilimleri izelge 3.2.'de verilmiştir. GH1 ve GH2 bölgelerine ait baz dizilimleri ise şekil 3.2. ve şekil 3.3'de verilmiştir. Genin bütününe yönelik DNA dizilimi ile GH1 ve GH2 bölgelerinin yerleşimine yönelik ayrıntılar EK 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.2. PCR ile çoğaltılan hedef gen bölgelerine ve çoğaltmada kullanılan primerlere ait bilgiler

Primer adı	Primer dizilimi	Ürün boyutu	Çoğaltılan bölge
GH1F GH1R	CTCTGCCTGCCCTGGACT GGAGAAGCAGAAGGCAACC	422bç	Ekson 2 ve 3
GH2F GH2R	TCAGCAGAGTCTTCACCAAC CAACAACGCCATCCTCAC	116bç	Ekson 4



Şekil 3.2. Büyüme hormonu geninin PCR ile çoğaltılan GH1 bölgesinin dizilimi



Şekil 3.3. Büyüme hormonu geninin PCR ile çoğaltılan GH2 bölgesinin dizilimi

PCR tüplerindeki toplam hacim 20µl olacak şekilde PCR reaksiyon bileşenleri çözeltisi oluşturulmuştur. Ön denemeler sonucu optimize edilen PCR

bileşenlerinin hacim ve konsantrasyonlarına yönelik ayrıntılar Çizelge 3.3.'te verilmiştir. Hedef DNA bölgeleri termal çevirici (thermal cycler, Bio-RAD C1000 Touch) cihazında Çizelge 3.4.'te yer alan program kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR aşaması sonucunda hedef DNA bölgelerinin çoğaltılıp çoğaltılmadığı % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. İstenen boyutta ürününün elde edildiği agaroz ile doğrulanmış örnekler bir sonraki aşamada restriksiyon enzimi ile kesime tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.3. GH1 ve GH2 bölgeleri için PCR reaksiyonu bileşenleri

Bileşen Adı	1 Örnek İçin (µl)
ddH ₂ O (otoklavlanmış, pH 7.0)	8.13
10X PCR Buffer (15 mM MgCl ₂ içerikli)	2.00
dNTP karışımı* (3mM)	6.67
Forward Primer (10 µM)	0.50
Reverse Primer (10 µM)	0.50
Taq DNA Polimeraz Enzimi(5U/µl)	0.20
Genomik DNA (~25ng/µl)	2.00
Toplam	20.00

*: dATP, dTTP, dCTP, dGTP, 4 dNTP'den her birinden 0.75 µl olmak üzere toplam 3 µl

Çizelge 3.4. Hedef DNA bölgesi çoğaltımı için PCR (termal çevirici) cihazında kullanılan program

Basamaklar	Sıcaklık	Süre	
İlk Ayrım	94 °C	5 dk.	
Ayrım	95 °C	30 sn.	} 35 döngü
Bağlanma	65 °C	20 sn.	
Uzama	72 °C	45 sn.	
Son Uzama	72 °C	7 dk	
Bekleme	4 °C	∞	

3.2.5. PCR ÜRÜNLERİNİN RESTRIKSİYON ENZİMİ İLE KESİMİ

Büyüme hormonu geninin GH1 bölgesindeki A ve B allelleri ile GH2 bölgesindeki C ve D allellerinin belirlenmesi amacıyla her iki gen bölgesine ait PCR ürünleri *HaeIII* enzimi ile kesim işlemine tabi tutulmuştur. PCR ürünlerinin enzim kesimi için diğer araştırmacılar tarafından da (Hua vd., 2009, Kurdistani vd., 2013, Zhang vd., 2011, Saleha vd., 2012, Marques vd., 2003 ve Malveiro vd., 2001) kullanılan *HaeIII* enzimi kullanılmıştır. Restriksiyon enzimi ile kesim aşamasında PCR tüpleri içerisindeki hedef DNA bölgesine özgül çoğaltılmış 20 µl hacmindeki PCR ürünü üzerine Çizelge 3.5.'te verilen ve restriksiyon enzimini de içeren bileşenler eklenmiştir. PCR sonucunda elde edilen GH1 bölgesine ait 422 baz çifti uzunluğundaki ürünler ile GH2 bölgesine ait 116 bç uzunluğundaki ürünler restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 2-3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Çizelge 3.5. GH1 ve GH2 gen bölgesi PCR ürünlerinin kesiminde kullanılan bileşenler

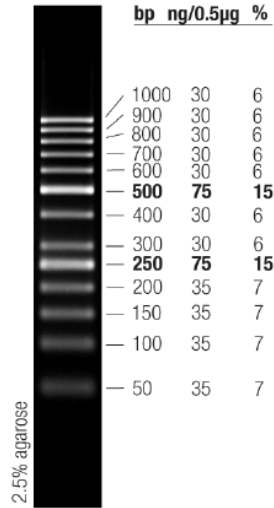
Bileşenler	1 örnek için (µl)
ddH ₂ O	1.5
10X Buffer Tango	2.5
<i>HaeIII</i> enzimi (10U/µl)	1.0
Toplam	5.0

3.2.6. Elektroforez ile DNA Bantlarının Ayrıştırılması ve Genotipleme

PCR işlemi ile çoğaltılan ve ardından restriksiyon enzimi ile kesim yapılan DNA bantlarının boyutlarına göre ayrılması iki farklı sistemden kullanılmıştır. Kullanılan sistemler, klasik yatay agaroz jel elektrofrez ve kapiller elektrofrez dayalı Fragman Analizörü (AATI Fragment Analyser) sistemleridir:

Agaroz jel elektrofrez ile ayırım ve görüntüleme: DNA parçalarının ayırımı için %2'lik agaroz jel kullanılmıştır. Bu amaçla 2 gr agaroz erlenmayer içerisine tartılmış ve üzerine pH'sı 8,3'e ayarlanan 100 ml 0.5X TBE çözeltisi (54 gr Tris-Base, 27,5 gr Borik Asit, 20 ml 0,5 M EDTA-pH 8,0) eklenerek mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Jel kaynarken şeffaf bir hal alması beklenmiş ve kaynamanın ardından 50-60°C arası sıcaklığa kadar soğutulmuştur. Soğutulan jel, örneklerin yükleneceği kuyucukların oluşmasını sağlayacak tarakların takılı

olduğu yatay elektroforez tankına dökülerek katılaşması beklenmiştir. Yaklaşık 25 dakikada katılaşan jelden taraklar dikkatli bir şekilde alındıktan sonra jelin üzerine de kaplayacak şekilde 0.5X TBE çözeltisi ile elektroforez tankı doldurularak sistem örneklerin yüklenmesi için hazır hale getirilmiştir. Enzim ile kesilmiş 10 µl PCR-RFLP ürünü içine 2µl yükleme boyası (6X Loading Dye) karışımı eklenerek edilen ürünler jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Her jelin ilk kuyucuğuna, oluşacak DNA bantlarının boyutlarını belirleyebilmek için 50 bp DNA boy markörü (Thermo Scientific, 50 bp Ladder) yüklenmiştir (Şekil 3.4.). Yükleme işlemi bittikten sonra elektroforez tankı güç kaynağına bağlanmıştır. Örnekler agaroz jelde 65 voltta 120 dakika yürütülmüştür. Yürütme sonunda agaroz jelliler, jel görüntüleme ve dokümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat) UV ışık altında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır. DNA bantlarının UV ışık altında görünür kılınması için 5µl safe view (NBS Biologicals, UK) isimli boya kullanılmıştır. Ardından bu görüntülerdeki bantlardan genotip tayini yapılmıştır.

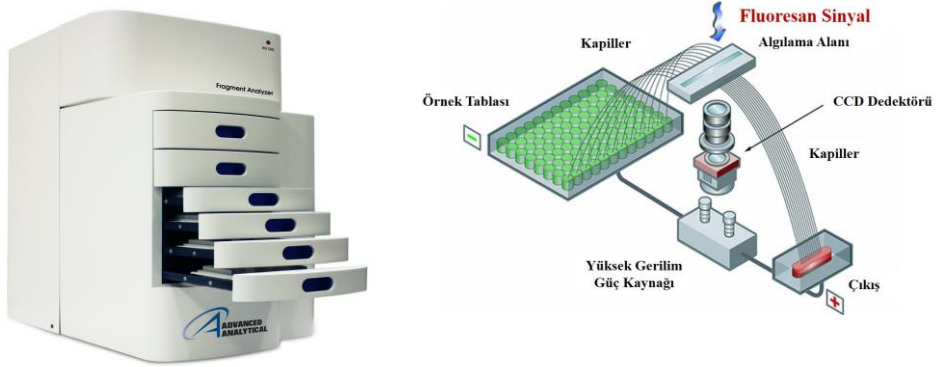


Şekil 3.4. DNA bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan DNA boy markörü (ladder)

Fragman analizörü ile ayırım ve görüntüleme: Kapiller elektroforez (Capillary Electrophoresis, CE), kılcal borular kullanılarak ayırıştırma yapan bir yöntemdir. Hem büyük hem de küçük moleküllerin ayırımını sağlayabilen mevcut en verimli yöntem olarak bilinmektedir. Bu yöntem birçok avantaja sahiptir. Bu sistemde küçük örnek hacmi yeterli olabilmekte, kısa sürede daha hassas ayırım ve görüntüleme yapılabilmektedir. Çok kapillerli sistemlerde aynı anda çok sayıda

örnekte genotiplendirme yapılabilmektedir. Laser destekli olan bu sistemlerde DNA bantları primerler veya başka yollarla DNA bantlarına monte edilen floresan boyalar aracılığıyla görünür kılınmaktadır.

Bu çalışmada, enzim kesimi uygulanan PCR ürünlerine yönelik genotipleme için 96 kapillerli fragman analizörü (Advanced Analytical Technologies, Inc. Fragment Analyser) cihazı kullanılmıştır. Bu sisteme ait reaktifler ile karıştırılan kesim ürünü örnekler 96'lık mikropalakalar ile sisteme yüklenmiş ve bantların ayrımları yapılmıştır. Bu cihazın kullanımı çok sayıda örneğin daha kısa sürede genotiplenmesine olanak sağlamıştır. Cihaza ait görsel ve çalışma sistemini gösteren çizim Şekil 3.5.'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Fragman analizörü ve çalışma sistemine ait görseller

Agaroz jel elektroforezi ve/veya fragman analizöründe kapiller elektroforez ile yapılan ayırım sonucunda elde edilen görüntülerdeki bant görsellerinden bireylere ait genotipler belirlenerek kaydedilmiştir. Genotiplerin belirlenmesinde referans alınan DNA bant boylarına ait bilgiler Çizelge 3.6.'da özetlenmiştir.

Çizelge 3.6. Genotiplerin belirlenmesinde esas alınan DNA bant boyları

GH1 Genotipleri	Bantlar (bç)	GH2 Genotipleri	Bantlar (bç)
AA	366 ve 56	CC	88 ve 28
AB	422, 366 ve 56	CD	116, 88 ve 28
BB	422	DD	116

3.2.7. Verilere Yönelik İstatistiki Değerlendirmeler

Elektroforetik ayırım yöntemlerinden elde edilen görsellere dayalı olarak her bireyin GH1 ve GH2 gen bölgelerine yönelik genotipler öncelikle popülasyon parametreleri bakımından analiz edilmiştir. Analiz sonucunda her iki gen bölgesi için ayrı ayrı olmak üzere popülasyon, il ve işletme düzeylerinde gen ve genotip frekansları belirlenmiştir. Ayrıca, işletmelerin veya popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı ki-kare (χ^2) testi ile belirlenmiştir. Gen ve genotip frekanslarının belirlenmesi ve ki-kare χ^2 analizleri için PopGene32 (Yeh vd., 1997) ile GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2012) programları kullanılmıştır.

Oğlak büyüme özelliklerine ait fenotipik veriler ise SAS (1999) paket istatistik programının GLM prosedürü kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Araştırmada ele alınan büyüme özellikleri ve modele konarak etkisi incelenen kesikli ve sürekli faktörler Çizelge 3.7’de verilmiştir. Büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 bölgelerine ait genotiplere de modellerde kesikli etmen olarak yer verilerek genotipler bazında oğlak büyüme özelliklerinin değişimi ortaya konmuştur.

Çizelge 3.7. Araştırmada ele alınan özellikler ve etkisi incelenen etmenler

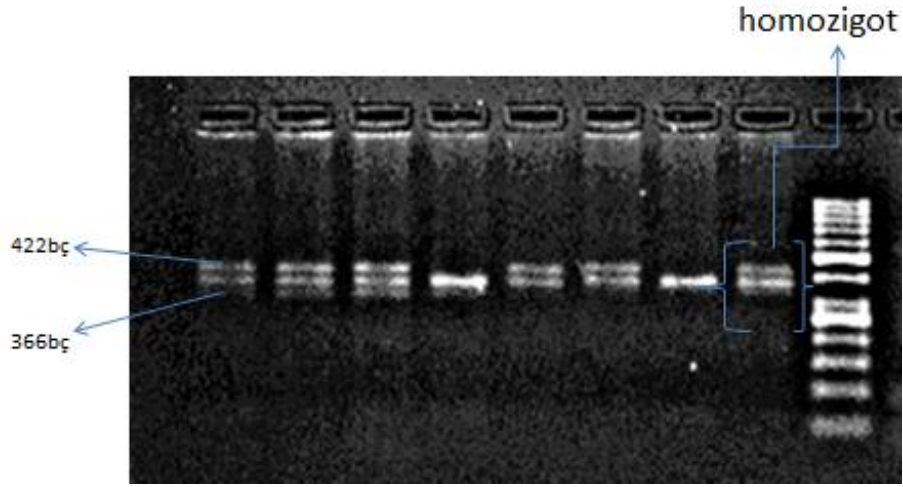
Özellikler	Kesikli					Sürekli		
	İşletme	Doğum Tipi	Cinsiyet	GH1 (Genotipler)	GH2 (Genotipler)	Doğum Ağırlığı	1. Tartımda Yaş (gün)	2. Tartımda Yaş (gün)
Doğum Ağırlığı	*	*	*	*	*			
1. Tartım Canlı Ağırlığı	*	*	*	*	*	*	*	
Doğumdan 1. Tartıma Kadar OGCAA	*	*	*	*	*	*	*	
2. Tartım Canlı Ağırlığı	*	*	*	*	*	*		*
Doğumdan 2. Tartıma Kadar OGCAA	*	*	*	*	*	*		*

OGCAA: Ortalama Günlük Canlı Ağırlık Artışı

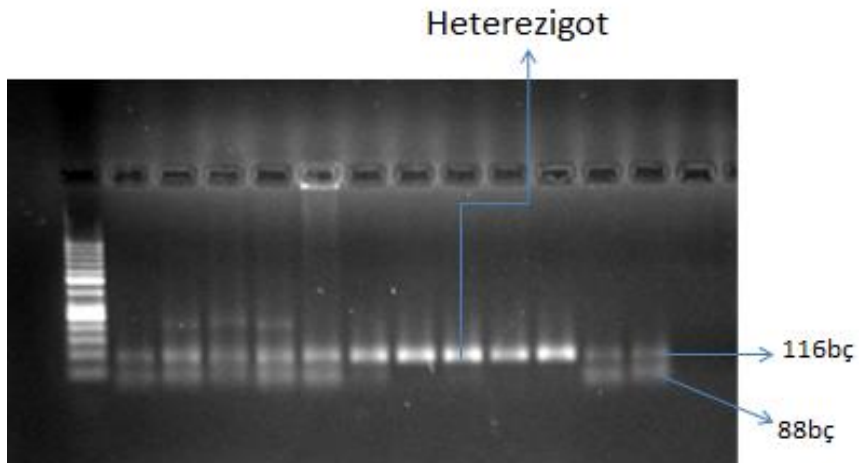
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. GH1 ve GH2 Bölgelerine ait Elektroforez Sonuçları

PCR-RFLP yani PCR ile çoğaltılmış hedef DNA bölgesinin restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan ürünler agaroz jel elektroförezinde yürütülmesi ve jel görüntüleme sisteminde fotoğraflanması sonucunda keçi büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 bölgesi için elde edilen örnek görseller sırasıyla Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

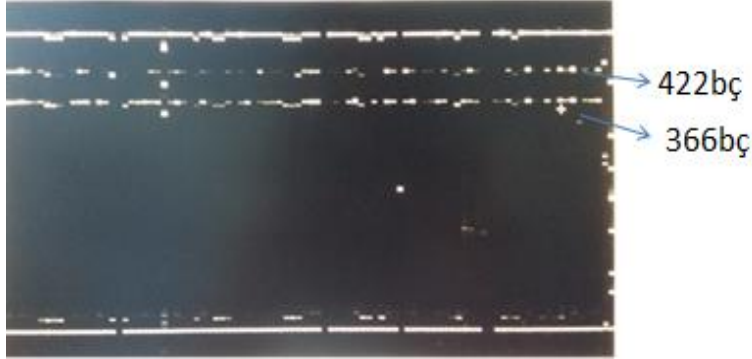


Şekil 4.1. GH1 gen bölgesi bakımından bazı bireylere ait agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.2. GH2 gen bölgesi bakımından bazı bireylere ait agaroz jel görüntüsü

Genin GH1 ve GH2 bölgelerine ait PCR-RFLP ürünleri ayrıca kapiller lektroforez esaslı fragman analizörü cihazında da elektroforetik ayırma tabi tutulmuştur. Agaroz jel elektroforezine göre daha hassas ayırım yapan bu sistemden DNA bantları için elde edilen görüntüler GH1 ve GH2 gen bölgeleri için sırasıyla Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'te verilmiştir.



AA genotipi için 366 ve 56bç, AB genotipi için 422, 366 ve 56bç, BB genotipi için 422bç

Şekil 4.3. GH1 gen bölgesi PCR-RFLP ürünlerinin fragman analizöründeki elektroforez görüntüsü



CC genotipi için 88bç, CD genotipi için 88 ve 116 bç, DD genotipi için 116 bç

Şekil 4.4. GH2 gen bölgesi PCR-RFLP ürünlerinin fragman analizöründeki elektroforez görüntüsü

Büyüme hormonu geninin GH1 bölgesindeki polimorfizmi belirlemek için yapılan analize ait elektroforetik ayırım görüntüleri 422, 366 ve 56 bç uzunluğundaki 3 bantın varlığına işaret etmiştir. Bu bantların varlığı da K11 keçisi populasyonunda AA, AB ve BB genotiplerinin, dolayısıyla da A ve B allellerinin varlığını ortaya

koymuştur. A alleli 366 ve 56 bç uzunluğundaki iki bantın varlığı, B alleli ise 422 bazlık tek bantın varlığı ile ortaya konmaktadır. Dolayısıyla, heterozigot yapıdaki yani her iki alleli taşıyan AB genotipli bireyler 422, 366 ve 56bç uzunluğundaki 3 DNA bantlarına sahip olmaktadır.

Genin GH2 bölgesine yönelik elektroforez görüntüleri kapsamında elde edilen 116, 88 ve 28bç uzunluğundaki 3 bantın Kıl keçilerinde C ve D allellerinin varlığını ortaya koymuştur. Toplam uzunluğu 116 bç olan PCR ürününde *HaeIII* restriksiyon enziminin kesim bölgesi olması ve işlem sonucunda 88 ve 28bç uzunluğundaki iki banta ayrılması C allelinin varlığına, enzimin kesim noktası olmadığından PCR ürünününün bir bütün olarak kalması ise D allelinin varlığına işaret etmektedir. Heterizgot yani CD genotipli bireyler ise 116, 88 ve 28bç uzunluğundaki 3 banta sahip olmaktadır.

4.2. Moleküler Genetik Analiz Verilerine Ait Popülasyon İstatistikleri

Büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 gen bölgeleri bakımından Kıl keçisi ırkında gözlenen genotip ve allel frekansları iller ve tüm populasyon bazında Çizelge 4.1.'de özetlenmiştir. Her iki gen bölgesi bakımından genotip frekanslarının illere göre dağılımı ayrıca Şekil 4.5.'te grafik olarak sunulmuştur.

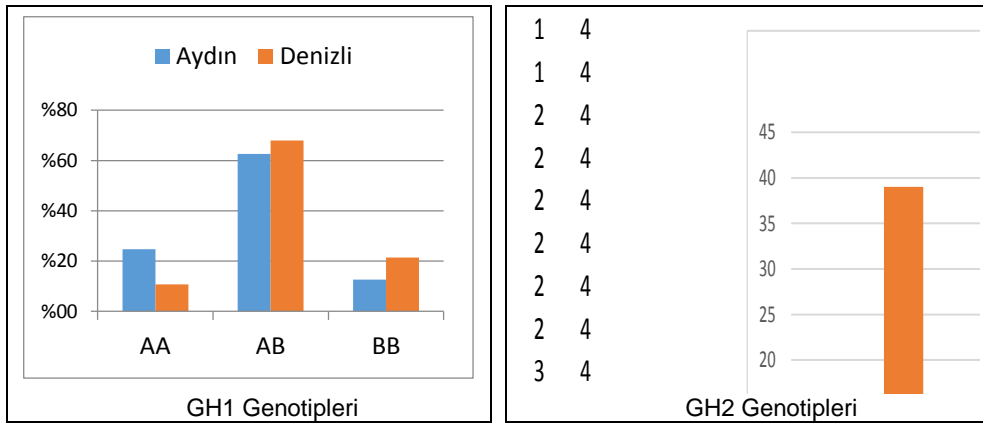
GH1 bölgesine ait AA, AB ve BB genotiplerinin frekansları populasyon bazında sırasıyla 0.19, 0.65 ve 0.16 bulunmuştur. İl bazlı olarak ele aldığımızda aynı genotiplerin frekansları Aydın ili için sırasıyla 0.25, 0.63 ve 0.12, Denizli ili için ise sırasıyla 0.11, 0.68 ve 0.21 olarak gözlenmiştir. Her iki ilde de heterozigot bireylerin frekansları yüksek çıkmıştır. Genotip frekanslarının dağılımı bakımından iller arasında çarpıcı bir fark söz konusu değildir. Şekil 4.5.'te yer alan frekans grafiği de bu benzerliği görsel olarak ortaya koymaktadır. Bu gen bölgesine ait A ve B allellerinin populasyon düzeyinde frekansları sırasıyla 0,51 ve 0.49 bulunmuştur. Aydın ilinde A allelinin frekansı (0.56) B allelinin frekansından (0.44) yüksek, Denizli ilinde ise A allelinin frekansı (0.45) B allelinin frekansından (0.55) düşük gözlenmiştir.

GH2 bölgesine ait CC, CD ve DD genotiplerinin frekansları ise tüm populasyona ait veriler için sırasıyla 0.16, 0.68 ve 0.16 bulunmuştur. Heterozigot CD genotipinin frekansı her iki homozigot genotipin frekansından oldukça yüksektir. İller bazında değerlendirme yaptığımız zaman Aydın ilindeki işletmelerde yer alan

hayvanlarda bu genotiplere ait frekanslar sırasıyla 0.16, 0.64 ve 0.20 olarak tespit edilmiştir. Denizli ilindeki işletmelerde ise frekanslar sırasıyla 0.17, 0.73 ve 0.10 olarak gözlenmiştir. Bu gen bölgesi için tanımlanan C ve D allellerinin frekansları ise populasyon düzeyinde her iki allel için 0.50 olarak belirlenmiştir. İller bazında allel frekansları değerlendirildiğinde ise C ve D allelerine ait frekanslar Aydın ilinde sırasıyla 0.48 ve 0.52, Denizli ilinde ise sırasıyla 0.53 ve 0.47 olarak belirlenmiştir. İller arasında kayda değer bir fark olmamakla birlikte Aydın ilindeki hayvanlarda D allelinin, Denizli ilindeki hayvanlarda ise C allelinin frekansı kısmen daha yüksek gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. GH1 ve GH2 gen bölgeleri bakımından genotip ve allel frekanslarının iller ve tüm populasyon bazında dağılımı

	Genotip Frekansları						Allel Frekansları			
	GH1			GH2			GH1		GH2	
	AA	AB	BB	CC	CD	DD	A	B	C	D
Aydın	0.25	0.63	0.12	0.16	0.64	0.20	0.56	0.44	0.48	0.52
Denizli	0.11	0.68	0.21	0.17	0.73	0.10	0.45	0.55	0.53	0.47
GENEL	0.19	0.65	0.16	0.16	0.68	0.16	0.51	0.49	0.50	0.50



Şekil 4.5. GH1 ve GH2 gen bölgeleri bakımından genotip frekanslarının illere göre dağılımı

Aydın ve Denizli illerinde örnekleme yapılan 8 işletme bazında GH1 ve GH2 gen bölgeleri için elde edilen genotip frekansları Çizelge 4.2.'de özetlenmiştir.

Büyüme hormonu geninin GH1 bölgesi bakımından AA ve SA isimli yetiştirici işletmelerinde AB genotipli bireylere, HS isimli yetiştirici işletmesinde ise BB genotipine rastlanmamıştır. Beklenildiği üzere sürülerde genelde heterozigot genotipin (AB) frekansı yüksek olmakla birlikte AA ve SA isimli yetiştirici işletmelerinde AA genotipinin frekansı (sırasıyla 0.74 ve 0.59) diğer genotiplere oranla oldukça daha yüksek gözlenmiştir.

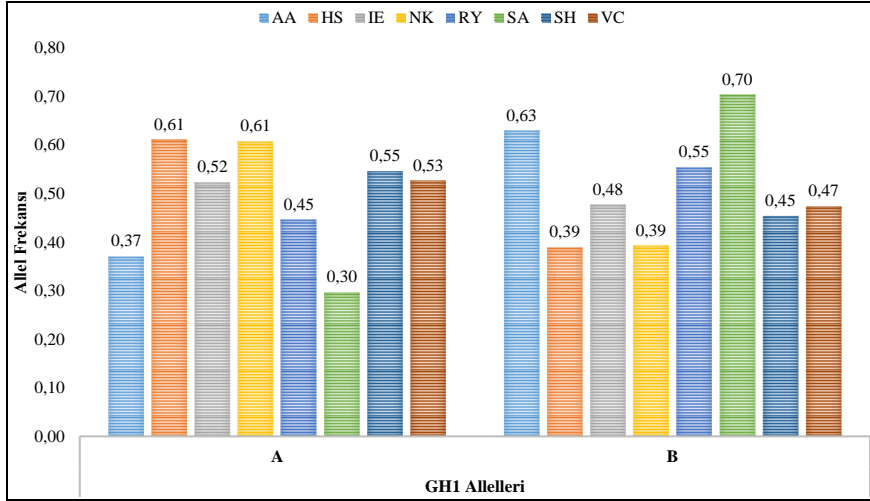
Genin GH2 bölgesi bakımından ise RY isimli yetiştirici dışındaki tüm yetiştirici sürülerinde her üç genotipte gözlenmiştir. RY isimli yetiştirici sürüsünde ise frekansları sırasıyla 0.07 ve 0.93 olan CC ve CD genotipleri gözlenmiştir. Tüm işletmelerde heterozigot genotipin (CD) frekansı homozigot genotiplerin frekanslarına göre oldukça yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.2. GH1 ve GH2 gen bölgelerine ait genotip frekanslarının yetiştirici işletmelerine göre dağılımı

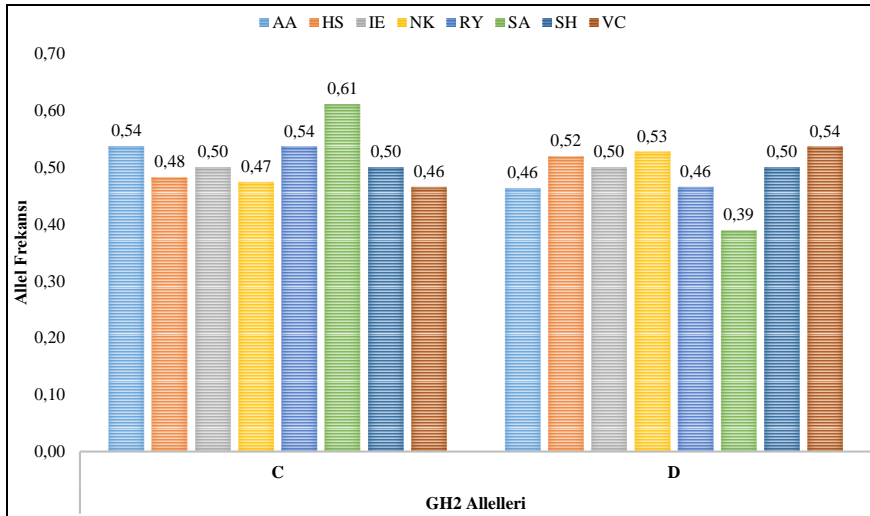
İl	Yetiştirici	Genotipler ve Frekansları					
		GH1 Gen Bölgesi			GH2 Gen Bölgesi		
		AA	AB	BB	CC	CD	DD
Aydın	NK	0.38	0.46	0.16	0.16	0.63	0.21
	SH	0.19	0.72	0.09	0.17	0.67	0.17
	VC	0.18	0.70	0.13	0.16	0.61	0.23
Denizli	AA	0.74	-	0.26	0.11	0.85	0.04
	HS	0.22	0.78	-	0.26	0.44	0.30
	İE	0.32	0.41	0.27	0.09	0.82	0.09
	SA	0.59	-	0.41	0.30	0.63	0.07
	RY	0.04	0.82	0.14	0.07	0.93	-

Çalışmaya Aydın ve Denizli illerinden dahil edilen 8 yetiştirici işletmesi bazında incelenen büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 bölgeleri için elde edilen allel frekansları sırasıyla Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.'de sunulmuştur.

Genin GH1 bölgesi için allel frekansları incelendiğinde (Şekil 4.6.) A allelinin SA isimli yetiştirici işletmesinde frekansı en düşük (0.30), HS ve NK isimli yetiştiricilere ait sürülerde ise frekansı en yüksek (0.61) çıkmıştır.



Şekil 4.6. Keçi büyüme hormonu geninin GH1 bölgesine ait A ve B allellerinin frekanslarının işletme bazlı dağılımı



Şekil 4.7. Keçi büyüme hormonu geninin GH2 bölgesine ait C ve D allellerinin frekanslarının işletme bazlı dağılımı

Gene ait diğer incelenen diğer bölge olan GH2 bakımından ise (Şekil 4.7.) yetiştirici işletmeleri arasında allel frekansları önemli benzerlik sergilemektedir. C alleli için frekans işletmelere göre 0.46 ile 0.61 aralığında değişim sergilemektedir.

Hem iller hem de tüm incelenen populasyon düzeyinde GH1 ve GH2 gen bölgelerine yönelik gözlenen ve beklenen genotip sayıları ile Hardy-Weinberg dengesine yönelik ki-kare (χ^2) analiz sonuçları Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Yapılan ki-kare analizi sonucunda her iki gen bölgesi bakımından da hem iller bazında hem de heriki ilin toplamı olan genel hayvan varlığı bakımından Hardy-Weinberg dengesinden önemli sapma gözleendiği ortaya çıkmaktadır. Gözlenen ve beklenen sayılar arasındaki belirgin ayrışma da populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olmadığına işaret etmektedir.

Çizelge 4.3. İller ve populasyon bazında GH1 ve GH2 gen bölgelerine ait genotiplerin gözlenen ve beklenen sayıları ile Hardy-Weinberg denge şartlarına yönelik ki-kare analiz sonuçları

Genotip	İller	Gözlenen			Beklenen			Ki-Kare (χ^2)
		AA	AB	BB	AA	AB	BB	
GH1	Aydın	41	104	21	52.102	81.795	32.102	12.23***
	Denizli	14	89	28	26.124	64.752	40.124	18.37***
	Genel	55	193	49	77.280	148.439	71.280	26.76***
Genotip	İller	Gözlenen			Beklenen			Ki-Kare (χ^2)
		CC	CD	DD	CC	CD	DD	
GH2	Aydın	27	105	34	38.074	82.852	45.074	11.86***
	Denizli	22	96	13	37.405	65.191	28.405	29.26***
	Genel	49	201	47	75.253	148.493	73.253	37.13***

Kıl keçilerinde büyüme hormonu geni GH1 ve GH2 bölgeleri için ayrı ayrı iller bazında ve genel anlamda gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile sapmasız beklenen heterozigotluk değerleri Çizelge 4.4.'te yer almaktadır. Gözlenen heterozigotluk değerleri genel olarak beklenen heterozigotluk değerinin çok üzerinde çıkmıştır. Bu değerler populasyona ait diğer parametrelerdeki bulguları da desteklemektedir.

Çizelge 4.4. Büyüme hormonu geni GH1 ve GH2 bölgeleri için ayrı ayrı iller bazında ve genel bazda gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri

Gen Bölgesi	Aydın				Denizli				Genel			
	N	Ho	He	uHe	N	Ho	He	uHe	N	Ho	He	uHe
GH1	166	0.627	0.493	0.494	131	0.679	0.494	0.496	297	0.650	0.500	0.501
GH2	166	0.633	0.499	0.501	131	0.733	0.498	0.500	297	0.677	0.500	0.501

*Ho: gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, uHe: Sapmasız beklenen heterozigotluk

4.3. Oğlak Büyüme Özelliklerinin GH1 ve GH2 Genotiplerine Göre Değişimi

Kıl keçisi oğlaklarının gelişme özelliklerini ortaya koymak için ele alınan doğum ağırlığı, 2 farklı dönem canlı ağırlığı ile bu iki dönemdeki ortalama günlük canlı ağırlık artışlarına ait basit istatistikler Çizelge 4.5.'te verilmiştir. Doğum ağırlığı 1.87 ile 5.32 kg arasında değişmekle birlikte ortalaması 3.33'tür. Oğlakların ilk ve ikinci tartımdaki yaşlarının ortalaması sırasıyla 103.5 ve 171 gün olup bu değerler yaklaşık 3,5 ve 5,5 aya denk gelmektedir.

Çizelge 4.5. Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerine ait basit istatistikler

Değişken	N	Ortalama	St. Sapma	Min.	Maks.	VK(%)
Doğum Ağırlığı (kg)	297	3.331	0.722	1.870	5.320	21.667
1. Tartım Oğlak CA (kg)	285	20.392	5.643	10.000	39.550	27.674
1. Tartım Oğlak Yaşı (gün)	285	103.477	22.849	35.000	139.000	22.081
1. Dönem OGCAA (kg)	285	0.167	0.047	0.067	0.297	28.162
2. Tartım Oğlak CA (kg)	198	28.053	6.939	13.900	46.300	24.735
2. Tartım Oğlak Yaşı (gün)	198	171.338	20.183	111.000	204.000	11.780
2. Dönem OGCAA (kg)	198	0.144	0.035	0.067	0.233	24.407

VK: Varyasyon Katsayısı, CA: Canlı ağırlık, OGCAA: Ortalama günlük canlı ağırlık artışı

Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerine yönelik varyans analiz sonuçları ile çeşitli faktörlerin seviyelerine ait en küçük kareler ortalama ve standart hataları Çizelge 4.6.'da özetlenmiştir.

Hua ve arkadaşlarından kaynak olarak çalışmada; büyüme hormonu geninin PCR ürünleri *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanarak bantlarına ayırılmıştır. Farklı keçi ırklarında çalışma yürütmüşlerdir. 11 aylıkken süttten kesilen keçilerin doğum, büyüme, vücut ağırlığı ve boyutu gibi özelliklerinin genotip ile olan ilişkisini tartışmışlardır. Büyüme hormonu genindeki polimorfizmin sütteki, yağ ve protein verimi, yağ ve protein oranlarına ve büyüme üzerine etkilerini gözlemlemişlerdir. Çalışma da sonunda elde edilen sonuçlar. Kesim sonrası 4 allel (A, B, C ve D) ve yalnız 4 genotip (AA, AB, CC ve CD) gözlemlenmiştir. Bulunma frekansları sırayla; 0,1623, 0,8377, 0,8571 ve 0,0974. AB genotipli keçiler AA genotipli keçilere göre 2 kg daha ağır ölçülmüştür. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda büyüme hormonu geninin süttten kesimden sonra büyüme oranını etkilediğinden dolayı markör gen olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Doğum ağırlığının genel ortalaması 3.02 kg bulunmuştur. İşletmelere göre ortalamalar 2.50 ile 3.47 kg arasında değişen çok önemli ($P<0.01$) fark sergilemiştir. Doğum tipi bakımından 0.840 kg farkla tekizler çoğuzlara göre önemli bir fark ($P<0.01$) ortaya koymuşlardır. Cinsiyet faktörü de oğlak canlı ağırlığında erkekler lehinde 0.33 kg'lık önemli bir fark ($P<0.01$) şekillendirmiştir. Modelde kesikli faktor olarak yer alan GH1 ve GH2 genotiplerinin doğum ağırlığında oluşturduğu farklar ise önemli bulunmamıştır ($P>0.01$). Farklar istatistiki olarak önemli bulunmamakla birlikte GH1 gen bölgesi genotipleri bakımından AA genotipinin ortalaması (2.91 kg) diğer genotiplerin ortalamasından (AB ve BB için sırasıyla 3.07 ve 3.09 kg) belirgin derecede daha düşüktür. GH2 gen bölgesi bakımından ise DD genotipinin ortalaması (2.93 kg) diğer genotiplerin ortalamasından (CC ve CD için sırasıyla 3.06 ve 3.07 kg) daha düşüktür.

Yaklaşık 3.5 aylık yaşa (ortalama 103.5 gün) denk gelen 1. tartımında oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 20.44 kg, doğumdan bu tartıma kadar geçen süreçteki ortalama günlük canlı ağırlık artışı (OGCAA) ise 0.166 kg'dır. Hem doğum ağırlığı hem de OGCAA artışı bakımından işletmeler ve cinsiyetler arası farklar oldukça önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Tekizler yönünde belirgin bir avantaj sözkonusu olmasına karşın doğum tipi bakımından ortalamalar arası fark önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Her iki özellik bakımından da hem GH1 hem de GH2 genotipleri oldukça benzer ortalamalar sergilemiştir ($P>0.05$). Sürekli değişken (kovaryet) olarak modelde yer alan doğum ağırlığının 1. Tartım oğlak canlı ağırlığı üzerine regresyonu çok önemli ($P<0.01$) iken OGCAA üzerine olan regresyonu önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Modeldeki değer sürekli değişken olan tartımdaki

oğlak yaşının ise hem 1. Tartım oğlak canlı ağırlığı hem de OGCAA üzerine regresyonu çok önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Yaklaşık 5.5 aylık yaşa (ortalama 171 gün) denk gelen 2. tartımında oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 28.87 kg, 1. Tartımdan bu tartıma kadar geçen süreçteki OGCAA ise 0.148 kg'dır. Oğlakların bu dönemdeki OGCAA ilk döneme göre biraz gerilemiştir (0.166 kg'a karşılık 0.148 kg). Her iki büyüme özelliği bakımından da hem işletme hem de cinsiyet kategorilerine ait ortalamalar oldukça önemli farklar sergilemiştir ($P>0.01$). İşletme ortalamaları ele alındığında 2. Canlı ağırlık denetimi bakımından en yüksek ortalamaya sahip AA işletmesine ait 33.83 kg'lık ortalama ile İE işletmesine ait 22.50 kg'lık ortalama arasında 11.33 kg gibi çok önemli bir fark söz konusudur. Aynı işletmeler bakımından OGCAA bakımından fark ise 0.070 kg'dır (0.178 kg'a karşın 0.108 kg). Doğum tipi bakımından tekizler lehine dikkat çekici bir avantaj sözkonusu iken ortalamalar arası fark önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Bu dönemde de 1. tartım dönemine benzer şekilde GH1 ve GH2 gen bölgeleri için belirlenen genotiplere ait canlı ağırlık ve OGCAA ortalamaları birbirine oldukça benzer olup aralarındaki farklar önemsizdir ($P>0.05$). Modelde sürekli değişken olarak yer alan doğum ağırlığı ve günlük yaşın 2. tartımda ki canlı ağırlık üzerine regresyonu çok önemli ($P<0.01$) bulunmuşken bu döneme ait OGCAA artışı üzerine regresyonu önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur.

Hua vd. (2009) Boer ırkı keçilerde yaptıkları çalışmada 4 allel (A, B, C, D) tespit etmekle birlikte sadece 4 genotip (AA, AB, CC, CD) gözlemlemişlerdir. Kıl keçilerine yönelik bu çalışmamızda, Hua vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada gözlenemeyen BB ve DD genotipleri de gözlenmiştir. Hua vd. (2009) tarafından A, B, C ve D allelerinin frekansları sırasıyla 0.58, 0.42, 0.93 ve 0.07 bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada Aydın (0.56, 0.44, 0.48 ve 0.52) ve Denizli (0.45, 0.55, 0.53 ve 0.47) illeri için gözlenen frekanslarla karşılaştırıldığında Hua vd. (2009) C alleli için bulunan frekansın oldukça daha yüksek, D alleli için bulunan frekansın ise oldukça daha düşük olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca araştırmacılar, Boer ırkı oğlakların süttten kesim ağırlığı bakımından AB genotipli oğlakların AA genotiplilere göre 1.95 kg daha ağır olduğunu ve aradaki firkin istatistiki olarak çok önemli olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, Kıl keçilerinden elde ettiğimiz sonuçlarda oğlak büyüme özellikleri bakımından genotipler arası farklar önemli bulunmamıştır.

Saleha vd. (2012) yaptıkları çalışmada Mısır (Barki, Zaribi) ve Suudi Arabistan ırklarında (Ardi and Masri) büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 bölgelerini

incelemeleri sonucunda tüm ırklarda A ve B alleleri gözlenirken C ve D alleleri sadece Zaribi ırkında gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. Oğlak büyüme özelliklerine ait performans verilerinin etkili faktörlere göre varyans analizi ile elde edilen en küçük kareler ortalama ve standart hataları

FAKTÖR	N	Doğum Ağırlığı (Ort.±s.h.)	N	1. Tartım CA (Ort.±s.h.)	1. OGCAA (Ort.±s.h.)	N	2. Tartım CA (Ort.±s.h.)	2. OGCAA (Ort.±s.h.)
İsletme		P=0.000		P=0.000	P=0.000		P=0.000	P=0.000
AA	27	3.26±0.109	27	26.61±0.719	0.221±0.007	26	33.83±1.005	0.178±0.006
HS	27	3.47±0.110	26	23.14±0.687	0.187±0.007	25	32.81±1.073	0.171±0.006
IE	22	2.64±0.117	21	14.22±0.817	0.124±0.008	21	22.50±1.152	0.108±0.007
NK	56	2.98±0.078	47	15.75±0.553	0.106±0.006	27	24.62±0.919	0.124±0.005
RY	28	2.57±0.113	28	19.86±0.750	0.154±0.008	28	27.79±1.181	0.142±0.007
SA	27	3.12±0.106	27	21.04±0.720	0.182±0.007	26	29.74±0.915	0.153±0.005
SH	54	3.64±0.082	54	20.34±0.515	0.162±0.005	26	29.80±1.064	0.152±0.006
VC	56	2.50±0.078	55	22.55±0.563	0.194±0.006	19	29.89±1.180	0.155±0.007
Doğum Tipi		P=0.000		P=0.224	P=0.057		P=0.241	P=0.182
1	257	3.44±0.047	246	20.81±0.285	0.172±0.003	177	29.48±0.447	0.152±0.003
≥2	40	2.60±0.089	39	20.07±0.610	0.160±0.006	21	28.26±1.060	0.144±0.006
Cinsiyet		P=0.000		P=0.000	P=0.000		P=0.000	P=0.000
Erkek	117	3.18±0.069	112	21.48±0.429	0.175±0.004	54	31.76±0.764	0.165±0.004
Dişi	180	2.87±0.060	173	19.40±0.410	0.157±0.004	144	25.98±0.675	0.131±0.004
GH1 Genotipi		P=0.188		P=0.912	P=0.932		P=0.683	P=0.536
AA	55	2.91±0.092	51	20.49±0.554	0.166±0.006	39	28.84±0.871	0.146±0.005
AB	193	3.07±0.057	188	20.33±0.352	0.166±0.004	125	29.21±0.602	0.151±0.004
BB	49	3.09±0.098	46	20.49±0.533	0.167±0.005	34	28.57±0.902	0.147±0.005
GH2 Genotipi		P=0.365		P=0.925	P=0.794		P=0.597	P=0.734
CC	49	3.06±0.093	45	20.35±0.548	0.164±0.006	34	29.22±0.869	0.149±0.005
CD	201	3.07±0.055	194	20.39±0.346	0.167±0.004	138	28.47±0.570	0.146±0.003
DD	47	2.93±0.096	46	20.57±0.540	0.168±0.006	26	28.93±0.950	0.149±0.006
Reg (Linear)				P=0.000	P=0.187		P=0.004	P=0.274
Doğum Ağ.				1.499±0.374	0.005±0.004		1.786±0.606	0.004±0.004
				P=0.000	P=0.000		P=0.000	P=0.823
Yaş (gün)				0.106±0.011	-0.001±0.000		0.144±0.020	0.000±0.000
Genel	297	3.02±0.057	285	20.44±0.369	0.166±0.004	198	28.87±0.625	0.148±0.004

5. SONUÇ

Aydın ve Denizli illerindeki 8 yetiştirici sürüsünde bulunan Kıl keçilerinde yürütülen bu çalışma kapsamında, keçi büyüme hormonu geninin GH1 ve GH2 olarak belirtilen farklı bölgesindeki genetik polimorfizm PCR-RFLP tekniği ile tanımlanmakla birlikte oğlakların büyüme özellikleri tanımlanarak anılan gen bölgelerindeki polimorfizm ile ilişkisi ortaya konmuştur. Bu çalışma, Türkiye’de keçi popülasyonlarında Büyüme Hormonu Geni polimorfizmine yönelik yapılan ilk çalışma olmakla birlikte Dünya çapında da keçilerde bu gene yönelik yapılan çok az çalışma arasında önemli bir yer edinecektir. Çalışma ile elde edilen sonuçları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür.

Spesifik primer çiftleri kullanılarak yapılan PCR ile GH1 ve GH2 bölgelerine ait sırasıyla 422 ve 116 bp uzunluğundaki bölgeler sorunsuzca çoğaltılmıştır. Her iki bölgeye ait PCR ürünlerinin *HaeIII* restriksiyon enzimi ile kesime tabi tutulması sonucunda beklenildiği üzere GH1 bölgesi için 422, 366 ve 56 bp uzunluğunda bantlar ve GH2 bölgesi için 116, 88 ve 28bp uzunluğunda bantlar elde edilmiştir. İncelenen hayvan popülasyonunda her iki gen bölgesi için olası tüm allel ve genotipler gözlenmiştir.

Araştırmacılar büyüme hormonu gen polimorfizmi üzerine yoğunlaştıkça, sadece *HaeIII* enzimi ile değil *MspI*, *SacI*, *Sau3AI* gibi farklı enzimler ile çalışmalar yapmışlardır (Maj vd., 2010, Kuhnlenin vd., 1996, Kang vd., 2001). Bu gen polimorfizmi ortaya konulduktan sonra daha ileriki dönemlerde bu enzimlerle de denemeler yapılabilecektir.

Her iki ilden örneklenen hayvanların tamamını kapsayan popülasyonun geneli için yapılan analizler sonucunda GH1 bölgesine ait AA, AB ve BB genotiplerinin frekansları sırasıyla 0.19, 0.65 ve 0.16 olarak gözlenmiş, bu gözlemlerden de A ve B allelleri için gen frekansları sırasıyla 0,51 ve 0.49 olarak hesaplanmıştır.

Genin GH2 bölgesine ait CC, CD ve DD genotiplerinin tüm incelenen popülasyon bazında frekansları sırasıyla 0.16, 0.68 ve 0.16 olarak gözlenmiş, buna bağlı olarak C ve D allellerinin frekansları ise her iki allel için 0.50 olarak belirlenmiştir. Her iki gen bölgesi anlamında da heterozigot genotiplerin frekanslarının homozigot genotiplere oranla oldukça yüksek olduğu gözden

kaçmamaktadır. Her iki gen bölgesi bakımından da allel frekanslarının birbirine oldukça benzer olması dikkat çekicidir.

İl bazlı olarak yapılan değerlendirmede ise her iki gen bölgesi bakımından da genotiplerin frekans dağılımları çarpıcı farklar sergilememiştir. Her iki ilde de iki gen bölgesi bakımından heterozigot bireylerin frekansları homozigot olanlardan oldukça yüksektir. Bu sonuç, populasyon geneli içinde söz konusudur. Genin GH1 bölgesi bakımından Aydın ilinde A allelinin frekansı (0.56), Denizli ilinde ise B allelinin frekansı (0.55) daha yüksek gözlenmiştir. GH2 bölgesi bakımından ise Aydın ilinde D allelinin frekansı (0.52), Denizli ilinde ise C allelinin frekansı (0.53) alternatif allelinden kısmen daha yüksektir.

Çalışmada yer alan 8 yetiştirici işletmesi ayrı ayrı değerlendirildiğinde, AB genotipi 2 işletmede, BB ve DD genotipleri ise 1'er işletmede gözlenmemiştir. Tüm yetiştirici sürülerinde tüm olası alleler gözlenmiştir. Ancak genotip ve allel frekansları bakımından işletmeler arası önemli farklar mevcuttur. Bu da populasyonda var olan polimorfizmin yüksekliğine işaret etmektedir.

Ayrı ayrı iller ve iki ilin örnekleri toplamından oluşan genel veriler için her iki gen bölgesi bakımından ayrı ayrı yapılan ki-kare analizleri sonucunda hiçbirinin Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlenmiştir. Populasyonların doğal populasyon olmaması, özellikle kontrollü eşleştirme yapılmış olması ve genetik tanımlamanın direk oğlakları hedef almasından dolayı bu durum doğal karşılanmalıdır. Gözlenen heterozigotluk hesap değerleri ile beklenen heterozigotluk tahmin değerlerinin yüksek düzeyde ayrışması da buna işaret etmektedir. Her iki gen bölgesi bakımından da allel frekansları 0.50 değerine çok yakın olmasına karşın genotiplerin gözlenen frekans dağılımı genotipler için beklenen frekans dağılımından (AA ve CC için p^2 , AB ve CD için $2pq$, BB ve DD için q^2) uzak değerler sergilemiştir.

Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerini tanımlama ve büyüme hormonu gen bölgelerindeki polimorfizm ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla doğum ağırlığı, iki farklı dönem (3.5 ve 5.5 aylık yaş) canlı ağırlığı, doğumdan bu iki tartım dönemine kadarki süreçte sergilenen ortalama günlük canlı ağırlık artışları tanımlanmıştır. Genel ortalaması 3.02 kg olan doğum ağırlığı bakımından genin GH1 ve GH2 bölgesindeki genotipler arası farklar istatistikî olarak önemli bulunmamakla birlikte GH1 gen bölgesi genotipleri bakımından AA genotipinin

ortalaması AB ve BB genotiplerinin ortalamalarından sırasıyla 0.16 ve 0.18 kg daha düşüktür. GH2 gen bölgesi bakımından ise DD genotipinin ortalaması CC ve CD genotiplerinin ortalamalarından sırasıyla 0.13 ve 0.14 kg daha düşüktür. Yok sayılamayacak bu farklar, bu gen bölgelerinin doğum ağırlığına yönelik etkisine yönelik daha geniş materyalde çalışma yürütülmesinin anlamlı sonuçlar doğurma ihtimaline işaret etmektedir.

Yaklaşık 3.5 aylık yaşa (ortalama 103.5 gün) denk gelen 1. tartımında oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 20.44 kg, doğumdan bu tartıma kadar geçen süreçteki ortalama günlük canlı ağırlık artışı (OGCAA) ise 0.166 kg'dır. Her iki özellik bakımından da hem GH1 hem de GH2 genotipleri oldukça benzer ortalamalar sergilemiştir. Yaklaşık 5.5 aylık yaşa (ortalama 171 gün) denk gelen 2. tartımında ise oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 28.87 kg, 1. tartımdan bu tartıma kadar geçen süreçteki OGCAA ise 0.148 kg olarak tespit edilmiştir. Bu dönemde de 1. tartım dönemine benzer şekilde GH1 ve GH2 gen bölgeleri için belirlenen genotiplere ait canlı ağırlık ve OGCAA ortalamaları birbirine oldukça benzerlik sergilemiştir. Elde edilen sonuçlar, büyüme hormone geninin GH1 ve GH2 bölgeleri için tespit edilen polimorfizmin, oğlakların 3.5 ve 5.5 aylık yaştaki canlı ağırlıkları ve bu yaşlara kadar olan dönemlerdeki günlük canlı ağırlık artışları üzerine etkin olmadığını ortaya koymuştur.

Türkiye'de keçi popülasyonlarında Büyüme Hormonu gen polimorfizmine yönelik DNA düzeyinde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan araştırmalarda Büyüme hormonu bakımından gen polimorfizmin olduğu görülmüştür. Büyüme hormonu lokusunda A,B,C,D olmak üzere 4 allel saptanmış olup, en yaygın olanı A allelidir. Bu çalışma referans bir çalışma olarak kabul edilip kimi ırklar üzerinde farklı çalışmalarda yapılabilecektir.

Bu çalışmada, toplam 2064 bç uzunluğundaki keçi büyüme hormonu geni kapsamındaki sadece 2 SNP'ye yönelik polimorfizm ortaya konmuş ve oğlak büyüme özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu iki bölgeye yönelik genotiplerin büyüme özellikleri ile ilişki sergilememesi büyüme hormonu geninin etkili olmadığı anlamına gelmemektedir. Büyüme hormonu geninin tamamının dizi analizinin yine geniş bir materyalde gerçekleştirilerek diğer tüm SNP genotiplerinin ortaya konup oğlak büyüme özellikleri ile ilişkilendirilmesi önemli sonuçlara ortaya koyabilme potansiyelindedir.

Bu çalışma, genetik yapısı hakkındaki bilgilerin sınırlı olduğu Kıl keçisi ırkının tanımlanmasına ve ırkla ilgili literatüre katkı sağlamaktadır. Bu çalışma ve diğer benzer çalışmalar referans alınarak diğer yerli ırklarımıza yönelik tanımlamalar da yapılabilir. Ayrıca, gene ait bölgenin tamamının DNA dizi analizi ile incelenmesi ırklarımıza özgü farklılıkların olup olmadığını da açık bir şekilde ortaya koyacaktır.

KAYNAKLAR

- Alçiçek, A., Akkan, S., Taşkın, T., Özkan, K. 1996. Karma yemdeki protein düzeyinin oğlakların gelişme performansına etkisi. **E.Ü.Ziraat Fakültesi Dergisi**, 33 (1):123-130.
- Anonim, 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) yayını.
- Anonim, 2014. TÜİK. Dış ticaret istatistikleri veri tabanı, [<http://tuikapp.tuik.gov.tr/disticaretapp/menu.zul>.]Erişim Tarihi:16.12.2014.
- Anonim, 2015a. [<http://www.veteriner.cc/keci/kil.asp>] Erişim Tarihi:16.09.2015.
- Anonim, 2015b. TÜİK. Hayvansal üretim istatistikleri, canlı hayvan sayıları ve hayvansal ürünler, [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002] Erişim Tarihi:13.05.2015.
- Anonim, 2015c. Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, [http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=23597&tipi=17&sube=0.] Erişim Tarihi:25.02.2015.
- Bastos, E., Alfredo, C., Azevedo, J., Pinto, H.G. 2001. Single stranded conformational polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed “Churra da Terra Quente”.**Biotech. Agron. Soc. Environ**, 5(1):7-15.
- Carillo, C.E., Adams, P.A., Price, S.G., Clutter, A.C., Kirkpatrick, B.W. 1996. Relationship of growth hormone and insulin like growth factor-1 genotypes with growth and carcass traits in swine. **Animal Genetics**, 28: 88-93.
- Cemal, İ., Karaca, O. 2006. Çiftlik hayvanlarında major genlerin belirlenmesi ve genotip ayrımı. **ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 21(1):105-115.
- Chrenek, P., Kmet, J., Sakowski, T., Vasicek, D., Huba, J., Chrenek, J. 1998. Relationships of growth hormone genotypes with meat production traits of Slovak Pied bulls. **Czech J. Anim. Sci.**, 43(12):541-544.
- Çağraş, İ., Özçelik, M., Uğur, F., Karabayır, A. 1999. Farklı iki sürede süttten kesilen Saanen oğlaklarının büyüme özellikleri. **Uluslararası Hayvancılık Kongresi**, (21-24 Eylül 1999), ss 789-792, İzmir.
- Dellal, L., Erkuş, A., Eliçin, A., Dellal, G. 1997. Türkiye’de kıl keçisi yetiştiriciliği ve ekonomik önemi. **Hayvancılık Araştırma Dergisi**, 7(1):31-34.

- Dettoni, M.L., Rocchigiani, A.M., Luridiana, S., Mura, M.C., Carcangiu, V., Pazzola M., Vacca, G.M. 2013. Growth hormone gene variability and its effects on milk traits in primiparous Sarda goats. **J. Dairy Res.**, 80 (3): 255-262.
- Di Stasio, L., Brugiapaglia, A., Destefanis, G., Albera, A., Sartore, S. 2003. GH1 as candidate gene for variability of meat production traits in Piemontese cattle. **J. Anim. Breed. Genet.**, 120 (5): 358-361.
- Dong, Y., Xie, J.Y., Xiao, N., Du, X., Zhang, W., Tosser-Klopp, G., Wang, J., Yang, S., Liang, J., Chen, W., Chen, J., Zeng, P., Hou, Y., Bian, C., Pan, S., Li, Y., Liu, X., Wang, W., Servin, B., Sayre, B., Zhu, B., Sweeney, D., Moore, R., Nie, W., Shen, W., Zhao, R., Zhang, G., Li, J., Faraut, T., Womack, J., Zhang, Y., Kijas, J., Cockett, N., Xu, X., Zhao, S., Wang, J., Wang, W. 2012. Sequencing and automated whole-genome optical mapping of the genome of a domestic goat (*Capra hircus*). **Nature Biotechnology**, 31(2): 135-141.
- Dybus, A. 2002. Associations of growth hormone and prolactin genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black and White cattle. **Animal Science Papers and Reports**, 20: 203-212.
- Dybus, A., Kmiec, M., Sobek, Z., Wisniewski, B. 2003. Associations between polymorphism of the growth hormone gene and production traits of Limousine cattle. **Medycyna Weterynaryjna**, 59(2): 133-136 (Abst).
- Ertas, Ü. 1999. Biyosentetik büyüme hormonu ve oktreoid asetat'ın tavşanlarda oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 63s, Erzurum.
- 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., Savaş, T., Dellal, G., Taşkın, T., Koyuncu, M., Cengiz, F., Dağ, B., Koncagül, S., Pehlivan, E. 2010. Türkiye küçükbaş hayvancılığının iyileştirilmesi, **Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi**, 667-685,11-15, Ankara.
- Gall, C. 1981. Goat Production. **Academic Press**, 600 pp, London.
- Gall, C.F. 1988. Potential of dual purpose goats. Workshop on the small ruminant research and development in the near east. **The Journal of Neurosciences**, 86: 1852-1862.

- Ge, W., Davis, M.E., Hines, H.C., Irvin, K.M., Simmen, C.M. 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. **J. Anim. Sci.**, 81:641–648.
- Hua, G.H., Chen, S.L., Yu, J.N., Cai, K.L., Wu, C.J., Li, Q.L., Zhang, C.Y., Liang, A.X., Han, L., Geng, L.Y., Shen, S., Xu, D.Q., Yang, L.G. 2009. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. **Meat Science**, 81: 391–395.
- Güney, O., Çayan, O. 1987. The fattening performances and carcass characteristics of Hair male kids under intensive feeding conditions. **Evaluation of Mediterranean Sheep and Goat Flocks**, 23–24–25, OA/Santarem (Portugal).
- Güney, O. 1984. Saanen x Kilis ve Saanen x Kıl birinci geriye melez erkek oğlaklarda besi çalışmaları. **Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 5(2):33–44.
- Güney, O., M. Kaymakçı.1997. Keçilerde süt üretimi, s:115- 128. Baran Ofset, Ankara.
- Hoj, S., Fredholm, M., Larsen, N.J., Nielsen, V.H. 1993. Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle. **Animal Genetics**, 24(2):91-5.
- Kang, J.H., Lee, S.J., Park, S.R., Ryu, H.Y. 2001. DNA polymorphism in the growth hormone gene and its association with weight in Olive Flounder: *Parlichthys Olivaceus*. **Fisheries Science**, 68: 494-498.
- Kaymakçı, M., Aşkın, Y. 1997. Keçi Yetiştiriciliği. Baran Ofset, Ankara.
- Kaymakçı, M. 2006. Keçi Yetiştiriciliği. Meta Basım Matbaacılık, Bornova, İzmir.
- Koşum , N., Alçiçek A., Önenç, A. 2005. Süt keçisi yetiştiriciliğinde kaliteli et üretme olanakları. **Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi Bildiriler E.Ü. Ziraat Fak.**, 108–112, İzmir.
- Kuhnlein, U., Ni, L., Weigend, S., Gavora, J.S., Fairfull, W, Zadworny, D. 1996. DNA polymorphisms in the chicken growth hormone gene: Response to selection for disease resistance and association with egg production. **Animal Genetics**, 28: 116-123.
- Kurdistani, Z.K., Rostamzadeh, J., Rashidi, Z., Davis, Z.E. 2013. Evaluation of insulin-like growth factor-I gene polymorphism on growth traits and yearling fleece weight in goats. **Small Ruminant Research**, 111: 10–15.

- Laes, F.C., Peters, K.J. 1995. A comparative study of performance of Egyptian goat breeds II. Growth performance and productivity. Humboldt University Berlin, Institute of Applied Sciences, Lentzealles 75 (Dahlem) D-14195 **Archiv-fur-Tierzucht.**, 38:5, 563–575; 28, Berlin, Germany.
- Lechniak, D., Machnick, G.M., Szyolowsk, M., Switonski, M. 1999. growth hormone gene polymorphism and reproductive performance of AI bulls. **Theriogenology**, 52: 1145-1152.
- Lirón, J.P., Ripoli, M.V., De Luca, J.C., Peral-García, P., Giovambattista G. 2002. Analysis of genetic diversity and population structure in Argentine and Bolivian Creole cattle using five loci related to milk production. **Genet. and Mol. Biol.**, 25(4): 413-419.
- Maj, A., Bagnicka, E., Kaba, J., Nowicki, M., Ko’sciuczuk, E., Słoniewski, K., Horban’ czuk, K., Zwierzchowski, L. 2010. A novel single nucleotide polymorphism in the coding region of goat growth hormone receptor gene and its association with lactose content and somatic cell count in milk. **Small Ruminant Research**, 90: 139–141.
- Malveiro, E., Pereira, M., Marques, P.X. 2001. Polymorphisms at the five exons of the growth hormone gene in the Algarvia goat: Possible association with milk traits. **Small Ruminant Research**, 41:163-170.
- Marques, P. X., Pereira, M., Marques, M.R., Santos, I.C, Belo, C.C., Renaville, R., Cravador, A. 2003. Association of milk traits with SSCP polymorphism at the growth hormone gene in the Serana goat. **Small Ruminant Research**, 50: 177-185.
- Mattos, K.K., Del-Lama, S.N., Martinez, M.L., Freitas, F. 2004. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. **Pesq. Agropec. Bras**, 39 (2): 147-150.
- Møller, N., Jørgensen, J.O. 2009. Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. **Endocrine Reviews**, 77: 152.
- Pal, A., Chakravarty, A.K., Bhattacharya, T.K., Sharma, A. 2005. Polymorphism of growth hormone gene and its association with expected milk production traits in dairy bulls. **J. Appl. Anim. Res.**, 27(1): 29-33.
- Peakall, R., Smouse, P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, 28: 2537-2539.

- Reis, C., Navas D., Pereira, M., Cravador, A. 2001. Growth hormone ALUI polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. **Archivos de Zootecnia**, 50: 41-48.
- Saithanoo, S., Pralomkarn, W., Kochapakdee, S., Milton, J.T.B. 1993. The pre-weaning growth of Thai native (TN) and Anglo-Nubian X TN kids. Department of Animal Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, **Journal-of-Applied-Animal Research**, 3(2): 97-105; 14. Hat Yai 90100, Thailand.
- Saleha, Y.M. Alakilli, Karima F. Mahrous, Lamiaa M. Salem, Ekram S. Ahmed, 2012. Genetic polymorphism of five genes associated with growth traits in goat. **African Journal of Biotechnology**, 11(82), pp. 14738-14748.
- SAS, The SAS System. Version 8. Copyright (c) 1999 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Secchi, C., Borromeo, V. 1997. Structure and function of bovine growth hormone. bovine growth hormone as a experimental model for studies of protein-protein interactions. **Journal of Chromatography B**, 688:161-177.
- Stephen, C.Y., Zhang, X., Leung, F. 2000. Growth hormone gene polymorphisms in native Chinese chickens. **Exp. Biol. Med.**, 226(5):458-462.
- Sönmez, R., Şengonca, M., Albaz, A.G. 1970. E. Ü. Ziraat Fakültesinde yetiştirilen Saanen süt keçilerinin çeşitli özellikleri ve verimleri üzerinde bir araştırma. **E.Ü. Ziraat Fak. Derg.**, 7(1): 115-120.
- Şengonca, M., Taşkın T., Koşum N. 2003. Saanen x Kıl melezlerinin ve saf Kıl keçilerinin kimi verim özelliklerinin belirlenmesi üzerine eş zamanlı bir araştırma. **Türk J. Vet. Anim. Sci.**, 27: 1319-1325.
- Şengonca, M., Koşum, N. 2005. Keçi Islahı, Koyun ve Keçi Yetiştirme (Keçi Yetiştirme ve Islahı), E.Ü.Zir. Fak. Yayınları No:563, İzmir.
- Unanian, M.M., Barreto, C.C., Freitas, A.R., Cordeiro, C.M.T. 2000. Association between growth hormone gene polymorphism and weigh traits in Nellerone bovines. **Rev. Bras. Zootec.**, 29(5): 1380-1386.
- Unanian, M.M., Barreto, C.C., Cordeiro, C.M., Freidas, A.R., Josahkian, L.A. 2002. Possible association between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 45: 293-299.

- Varol, M. 2014. Denizli ilinde yetiştirilen Kıl keçilerinin morfolojik özelliklerinin tanımlanması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 41s., Aydın.
- Yao, J., Aggrey, S.E., Zadworny, D., Hayes, J.F., Kuhnlein, U. 1996. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single-strand conformation polymorphisms (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. **Genetics**, 144: 1809-1816.
- Yargıcı, M.Ş., Akman, N., Arık, İ.Z., Dellal, G., 1991. Ak keçilerde, erken ve yarı erken süttan kesimin etkileri üzerine bir araştırma. **Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, Antalya.4 (1-2): 139-151.
- Yanar, M. 1996. Rekombinat büyüme hormonu ve süt sığırlarında süt verimi, yem alımı üzerine etkileri, **Atatürk Ü. Zir. Fak. Derg.**, 27: 461-465.
- Wickramaratne, S.H.G., Ulmek, B.R., Dixit, S.P., Kumar, S., Vyas, M.K. 2010. Use of growth hormone gene polymorphism in selecting Osmanabadi and Sangamneri goats. **Tropical Agricultural Research**, 21(4): 398-411.
- Wladron, D.F., Willingham, T.D., Thompson, P.V. 1996. A Comparison of Angora and Spanish does for producing crossbred goats for slaughter: effect on growth rate and feed efficiency. **Texas Agricultural Experiment Station**, Texas A&M University System, College Station, TX, CPR5227.
- Zhang, C., Liu, Y., Huang, K., Zeng, W., Xu, D., Wenand, Q., Yang, L. 2011. The association of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in growth hormone (GH) gene with litter size and superovulation response in goat-breeds. **Genetics and Molecular Biology**, 34(1): 49-55.
- Zhou, G., Zhu, Q., Jin, H.G., Guo, S.L. 2006. Genetic variation of growth hormone gene and its relationship with milk production traits in China Holstein cows. **AsianAustralasian J. of Anim. Sci.**, 19(3): 315-318 (Abst).

EKLER

EK 3.1. DNA ekstraksiyonunda kullanılan çözeltiler

100 ml 1M Tris-HCl Çözeltisi (pH:8,0):

12,114 gr Tris tartılıp saf su ile 80 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı HCl (hidroklorik asit) ile 8,0'a ayarlandıktan sonra üzerine 100 ml olacak şekilde saf su ilave edilir.

100 ml 100mM EDTA Çözeltisi (pH:8,0):

2.923 gr EDTA tartılıp saf su ile 80 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı NaOH (sodyum hidroksit) ile 8,0'ayarlanıp saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

500 ml T10E10 Çözeltisi (pH:8,0):

5 ml 1M Tris-HCl (pH: 8,0)

50 ml 100mM EDTA (pH:8,0)

Çözelti saf su ile 400 ml'ye tamamlandıktan sonra pH'ı NaOH veya HCl ile 8,0'a ayarlanıp yine saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

500 ml T10E1 Çözeltisi:

5 ml 1M Tris-HCl (pH: 8,0)

5 ml 100mM EDTA (pH:8,0)

Çözelti saf su ile 400 ml'ye tamamlanır. Daha sonra çözelti pH'ı NaOH veya HCl ile 8,0'a ayarlanıp yine saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

500 ml Digestion Çözeltisi (400mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 2mM EDTA; pH: 8,2)

11.69 gr NaCl

10 ml 100 mM EDTA (pH: 8,0)

5 ml 1M Tris-HCl (pH: 8,0)

Çözelti saf su ile 400 ml'ye tamamlanır ve pH'ı NaOH veya HCl ile 8,2 ayarlanır. pH'ı ayarlandıktan sonra saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

10 ml Proteinaz K Çözeltisi (2 mg/ml Proteinaz K, %1 SDS, 20mM EDTA)

1 ml Proteinaz K

0.1 gr SDS

2 ml 100mM EDTA

Çözeltiyi hazırlamak için öncelikle EDTA içinde SDS çözdürülür. Elde edilen karışıma Proteinaz K eklenir ve çözelti saf su ile 10 ml'ye tamamlanır.

25 ml %10 SDS Çözeltisi

2.5 gr SDS saf su ile 25 ml'ye tamamlanarak çözdürülür.

100 ml 6M NaCl Çözeltisi

35.064 gr NaCl tartılıp 100 ml saf suda çözdürülür.

500 ml %70'lik Etanol Çözeltisi

364.60 ml %96'lık Etanol 500 ml'ye tamamlanıp karıştırılır.

EK 3.2. Elektroforez aşamasında kullanılan çözeltiler

DNA Ladder

2µl DNA Ladder
2µl 6 X Loading Dye
8µl Deiyonize su

TBE 5X Çözeltisi (pH:8,3)

54 gr Tris-Base
27.5 Borik Asit
20 ml 0,5 M EDTA (pH: 8,0)
Çözelti hazırlandıktan sonra 800 ml'ye tamamlanarak pH'ı 8,3'e ayarlanır.
pH'ı ayarlanan çözelti 1000 ml'ye tamamlanır.

EK 3.3. Kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu için uygulanan protokol

DNA ekstraksiyonunda öncelikle buzdolabı veya derin dondurucuda bulunan kan örnekleri oda sıcaklığında (25°C) bekletilerek oda sıcaklığına kadar ısınmaları sağlanmıştır.

Çözünen kan örneklerinden 2,5 ml 15 ml'lik tüplere (Falcon) alınıp üzerine 5 ml T10E10 (Tris-EDTA) çözeltisi ilave edilerek kapakları kapatıldıktan sonra 20-25 saniye vortekslenmiş ve ardından tüpler 20 dakika süreyle +4°C 1500g'de santrifüjlenmiştir.

Santrifüj sonrası tüpün tabanında 1-2 ml sıvı kalacak şekilde üstteki sıvının tamamı atılmış, oluşan pelet üzerine 5 ml T10E1 (Tris-EDTA) çözeltisinden eklenmiştir. Tüpün dibindeki bütün yığınların vorteks ile iyice parçalanması sağlanmıştır. İçersinde yığın olan tüplere ise pipetaj işlemi uygulanmıştır. Sonra tüpler 20 dakika süreyle +4 °C 1500g'de santrifüjlenmiştir (peletin iyice temizlenmesi için bu işlem en az 2-3 kez tekrarlanmıştır).

Santrifüjleme sonrasında tüpün dibinde 1-2 ml sıvı kalacak şekilde üstteki sıvının tamamı atılmış, tüpe 1,5 ml digestion çözeltisinden (400mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 2mM EDTA; pH: 8,2) eklenmiştir.

Daha sonra tüpe 250 µl Proteinaz K solüsyonu ve 100µl %10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) solüsyonu eklenip vortekslenmiş ve tüpler yaklaşık 12 saat süreyle 65 °C'ye ayarlanan su banyosunda inkübe edilmiştir.

Su banyosundan alındıktan sonra proteinleri çöktürmek için her bir tüpe 6 M NaCl (Sodyum Klorür) solüsyonundan 0,5 ml eklenmiş ve 15-20 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 20 dakika süreyle +4 °C 1500 g'de santrifüj edilmiştir.

Santrifüj bittikten sonra üstteki berrak sıvı 15 ml'lik temiz tüplere alınmıştır. DNA'yı çöktürmek üzere alınan sıvı hacminin 2 katı hacimde %100'lük soğuk etanol (-20 °C) eklenmiş ve tüpler hafifçe alt üst edilerek DNA'nın yeterince yoğunlaşması sağlanmış ve gözle görülür hale gelmesi sağlanmıştır.

Ardından DNA pipet yardımıyla alınarak içinde 1 ml %70'lik etanol bulunan 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılmıştır.

Tüplerdeki %70'lik etanol dikkatli bir şekilde boşaltıldıktan sonra tüpler kapakları açık bir şekilde tutularak tüpte kalan etanolün uçması sağlanmıştır.

Etanolu uçan tüplere 1 ml steril T10E1 (Tris-EDTA) çözeltisi eklenip DNA'nın çözünmesi sağlanmıştır. Oldukça yoğun olan DNA'nın tam olarak çözünmesini sağlayabilmek için tüpler 37 °C sıcaklıkta yaklaşık 48 saat süreyle çalkalayıcı üzerinde tutulmuştur.

EK 3.4. Keçi (*Capra hircus*) büyüme hormonu geninin baz dizilimi ve bu tezde polimorfizmi incelenen GH1 ve GH2 bölgeleri

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26919178

DEFINITION : *Capra hircus* gene for growth hormone, complete cds.

ACCESSION : D00476

VERSION : D00476.1 GI:217664

SOURCE : *Capra hircus* (goat)

REFERENCE : Kioka,N., Manabe,E., Abe,M., Hashi,H., Yato,M., Okuno,M., Yamano,Y., Sakai,H., Komano,T., Utsumi,K. and Iritani,A. 1989. Cloning and sequencing of goat growth hormone gene. *Agric. Biol. Chem.* 53, 1583-1587.

SEQUENCE : 2544 bp

gggattttctgaccagggattaacctgagtcctctgcatttgcagctcgattctttat
 ggctgagccacctgggaagccattcgtttctgctacctcccccttaaaaagaaaaccta
 tgggggtgggctctcaagctgagaccctgtgtgtacagccctcaggctggtggcagtgagg
 aggggatgatgatgagcctgggggacatgacccagagaaggaacgggaacaggatgagt
 gagaggaggttctaataattatccattagcacaggctgccagtggtccttgcataaatgtat
 agagcacacaggtggggggaaagggagagagaagaagccaggggtataaaaagggcccagc
 agagaccaattccaggatcccaggacccagttcaccagacgactcagggctctgctgaca
 gctcaccaactatgatggctgcaggtaagctcacaanaatccccctccattagcgtgtcct
 aaggggtgatgcggggagaactgccgatggatgtgtccacagctttgggttttagggctt
 ctgaatgcaacataggtatctgcacccagacatttgccaagtttgaaatgttctcagt
 ccctggagggaagggcaggcgggggctggcaggagatcaggcatccagctctctgggcc
 ctccgtcgcgccctcctggctctctccctagggccccggacgtccctgctcctggcttc
 accctgctctgctgcctggactcaggtgggtggggccttcccagccatgtccttgtcc
 ggctgtttgccaacgctgtgtctcgggctcagcacctgcatcaactggctgctgacacc
 ttcaaagagtttgtaagctcccagagatgtgtcctagaggtggggaggcaggaaggggt
 gaatccgcacccccctccacacaatgggagggaaactgaggacctcagtggtatttatcca
 agtaaggatgtggtcaggggagtagaaatgggggtgtgtgggtggggaggggtccgaat
 aaggcagtgaggggaaccacacaccagcttagacccgggtgggtgtgttctccccccagg
 agcgcacctacatcccggagggacagagatactccatccagaacacccaagttgccttct
 gcttctccgaaaccatccccggccccacgggcaagaatgaggcccagcagaaatcagtga
 gtggccacctaggaccgaggagcaggggacctccttcatcttaagtaggctgccccagct
 ctctgcaccgggctgggggtggcgttctccctgaggtggcagaggggtgttgatggcagt
 ggaggatgatggttgggtgggtggcaggaggtcctcgggcagaggccgacctgtaggg
 ctgccccgagcccggggcaccaccaaccaccatctgccagcaggacttgagctgctt
 cgcatctcactgctccttatccagtcgtggcttgggcccctgcagttccctcagcagagtc
 ttaccaaacagcctgggtgtttggcacctcggaccgtgtctatgagaagctgaaggacctg
 gaggaaggcatcctggcgtgatgcccgtgaggatggcggttgggtgggtcccttccatgct
 gggggccatgcccaccctctcctggcttagccaggagaacacacgtgggctgggggagag

agatccctgctctctctctctctctttctagcagcccagtccttgaccaggagaaaacctctt
cccgttttgaaacctccttcctcgcccttctccaagcctataggggagggaggaaaatgg
agcgggcaggagggagccgctcctgagggccttcggcctctctgtctctccctcccttgg
caggagctggaagatggtacccccgggctgggcagatcctcaagcagacctatgacaaa
tttgacacaaaacatgcgagtgacgacgctgctgaagaactacgggtctgctctcctgc
ttccggaaggacctgcacaagacggagacgtacctgagggcatgaagtgtcgccgcttc
ggggagggcagctgcgcgcttctagttgccagccatctggtgttacccctccccgtgcctt
cctagaccctggaaggtgccactccagtgcccactgtcctttcctaataaagcgaggaaa
ttgcatcacattgtctgagtaggtgtcattctattctaggggggggggtcaggcaggata
gcgagagggaggattgggaagacaatagcagggatgctgtgggctctatgggtaccagg
tgctgaataattgacccggttcttcctgggcccagaaggaagcaggcacatccccctctct
gtgacacacccggctcctcgccccctggtccttagttccagccccactcataggacactcat
agctcaggaggggtctgccttcagtcccacccgctaaagtgtcttgagcggtttctcctt
ccctcatcagcccaccaaaccacacctagcctccaagagtggggaagaaattaaagcaaga
caggctatgaagtacagagggaga

//

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Özge Saniye METE

Doğum Yeri ve Tarihi: DENİZLİ-16.07.1987

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi

Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

İLETİŞİM

E-Posta Adresi : mete_ozge@hotmail.com

Tarih : 15/04/2016