

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2022-YL-030

POU1F1 GENOTİPLERİNİN KIL KEÇİLERİNDE BÜYÜME
ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Betül TİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. İbrahim CEMAL

AYDIN-2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübesini esirgemeyen, karşılaştığım tüm olumsuzluklarda her daim yanımda olan, insani ve ahlaki değerleri ile kendime örnek edindiğim çok değerli danışmanım sayın Prof. Dr. İbrahim CEMAL hocama,

Laboratuvar çalışmalarında bıkmadan yüksek sabırla sorduğum her soruda beni dinleyen ve en doğru şekilde çalışmaya hazırlayan, bilgilerini ve tecrübelerini tereddüt etmeden aktaran, başarılı olamadığım konularda hemen müdahale eden, doğru ve pratik yolunu öğreten çok değerli Araş. Gör. Dr. Nezih ATA hocama,

Çalışma kapsamında elde ettiğim fenotipik ve genetik verilerin istatistiki analizleri konusunda destek veren, zorlandığım tüm durumlarda yardımını esirgemeyen, tüm sorularımı detaylıca cevaplayan ve laboratuvar çalışmalarında takıldığım yerlerde beni kurtaran çok değerli Sayın Doç. Dr. Onur YILMAZ hocama,

Değerli görüşleri, olumlu eleştiri ve yönlendirici fikirleriyle tezimin son halini almasına katkı sağlayan tez savunma sınavımın jüri başkanı Sayın Prof. Dr. Cengiz ELMACI hocama,

Çalışmanın gerçekleştirilmesi için her türlü laboratuvar altyapısı sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (ADÜ-TARBİYOMER)'nin şekillenmesinde emeği geçenlere, çalışmamı yapmamda her türlü izin ve desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Zeynel DALKILIÇ hocama, Sayın Öğr. Gör. Dr. Adem YAVAŞ hocama,

Laboratuvar'da aylarca aynı ortamlara çalıştığımız, her zaman birbirimize destek olduğumuz, yeri geldiğinde beraber laboratuvarda sabaha kadar çalıştığım, bana espri yapmayı öğreten hem eğlenip bazen de üzüntüyü beraber yaşadığımız çok değerli arkadaşım ve meslektaşım sayın Zir. Müh. Mustafa KARABAŞ'a

Tanıştığımız günden bu zamana kadar tecrübeleri ile yanımda olan, motivasyonumu her daim yükselten yüksek lisansımın bana kazandırdığı dostum Alkan ÇAĞLI'ya

Çalıştığım alan ile ilgili hiçbir fikirleri olmamasına rağmen beni dikkatle ve merakla dinleyen her zaman yanımda olan canım arkadaşarım Hakan CANKI ve Sevgi TOSUN'a

ve son olarak bu yaşıma kadar sevgi ve şefkatlerini benden esirgemeyen, hayatta başıma

ne gelirse gelsin her zaman yanımda olduklarını hissettiğim, varlıklarını bile bilmemle huzur bulduğum, bu hayattaki en değerli hazinem olan canım ailem; annem Keziban TİN, babam Halil TİN ve abim Aykut TİN'e tüm eğitim hayatım boyunca bana olan desteklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Kıl Keçisinin Genel Özellikleri	7
2.2. Kıl Keçilerinde Büyüme Özellikleri.....	8
2.3. Moleküler Belirteçler.....	9
2.3.1. Moleküler belirteç teknolojisinin kullanım alanları	9
2.3.2. PCR Tekniği	10
2.3.3. PCR-RFLP Analiz Uygulama Basamakları Avantajları ve Dezavantajları	11
2.4. Transkripsiyon Faktör- POU Homeobox	13
2.5. POU1F1 Gen yapısı ve işlevi	14
2.6. Çiftlik hayvanlarında POU1F1 ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalar	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Gereç.....	20
3.2. Yöntem	20

3.2.1. Fenotipik Verilerinin Alınması, Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	21
3.2.2. Alınan Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	21
3.2.3. İzolasyonu Yapılan DNA Örneklerini Kalite ve Miktar Tayini	23
3.2.4. PCR ile DNA Çoğaltımı	23
3.2.5. PCR Ürünlerinin RFLP Analizi	24
3.2.6. Elektroforez ile DNA Bantlarının Ayrıştırılması ve Genotipleme	25
3.2.7. Genotip ve Performans Verilerine Yönelik İstatistiksel Değerlendirmeler	26
4. BULGULAR	27
4.1. Genomik DNA İzolasyonu Sonuçları	27
4.2. <i>POU1F1</i> Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	27
4.3. PCR-RFLP Metodu ile Genotipleme Sonuçları	28
4.4. Oğlak Büyüme Özellikleri ve <i>POU1F1</i> Genotiplerine Göre Değişimi	32
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	42
EKLER	51
Ek 1. DNA ekstraksiyonunda kullanılan çözeltiler	51
Ek 2. Elektroforez aşamasında kullanılan çözeltiler	53
BİLİMSEL ETİK BEYANI	54
ÖZ GEÇMİŞ	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Celsius, Santigrat
HCl	: Hydrochloric Acid, Hidroklorik Asit
KCl	: Potassium Chloride, Potasyum Klorür
MgCl₂	: Magnesium Chloride, Magnezyum Klorür
NaCl	: Sodium Chloride, Sodyum Klorür
NaOH	: Sodium Hydroxide, Sodyum Hidroksit
(NH₄)₂SO₄	: Ammonium Sulfate, Amonyum Sülfat
Zn	: Zinc, Çinko
A	: Adenine, Adenin
aa	: Aminoacid, Aminoasit
AluI	: <i>Arthrobacter luteus</i>
bç	: Base Pairs, Baz Çifti
cDNA	: Complementary DNA, Tamamlayıcı DNA
cm	: Centimeter, Santimetre
ddH₂O	: Double-Distilled Water, Çift Distile Su
dk	: Minute, Dakika
DNA	: Deoxyribonucleic Acid, Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoxynucleotide Triphosphates, Deoksinükleotit Trifosfatlar
EDTA	: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, Etilen Diamin Tetraasetik Asit
Ets	: Erythroblast Transformation-Specific, Eritroblast Dönüşümü-Spesifik
F	: Forward, İleri
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations Gıda ve Tarım Örgütü
g	: gram
GH	: Growth Hormone, Büyüme Hormonu

GHF1	: Growth Hormone Factor-1, Büyüme Hormonu Faktörü-1
GHR	: Growth Hormone Receptor, Büyüme Hormonu Reseptörü
GHRHR	: Growth Hormone Releasing Hormone Receptor Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon Reseptörü
He	: Expected Heterozygosity, Beklenen Heterozigotluk
Ho	: Observed Heterozygosity, Gözlenen Heterozigotluk
HTH	: Helix-Turn-Helix, Sarmal-Dönüş-Sarmal
HWE	: Hardy Weinberg Equilibrium, Hardy Weinberg Dengesi
Kb	: Kilobase, Kilobaz
kg	: Kilogram
l	: Liter, Litre
M	: Molar
MAS	: Marker Assisted Selection, Belirteç Destekli Seleksiyon
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
µM	: Micromolar, Mikromolar
ml	: Mililitre
µL	: Microlitre, Mikrolitre
mRNA	: Messenger RNA, Mesenger RNA
NCBI	: National Center for Biotechnology Information Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
Ng	: nanogram
Nm	: nanometre
OCT-1	: Octamer-Binding Transcription Factor 1 Oktamer-Bağlanma Transkripsiyon Faktörü 1
OCT-2	: Octamer-Binding Transcription Factor 2 Oktamer-Bağlanma Transkripsiyon Faktörü 1
PCR	: Polymerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu

pH	: Power of Hydrogen
PIT-1	: Pituitary-Specific Transcription Factor-1 Hipofiz-Spesifik Transkripsiyon Faktör-1
POU-HD	: POU-homeodomain
POU-S	: POU-specific
POU1F1	: POU class 1 homeobox 1
PstI	: Providencia stuartii
QTL	: Quantitative Trait Loci, Kantitatif Özellik Lokusu
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	: Ribonucleic Acid, Ribonükleik Asit
SDS	: Sodium Dodecyl Sulfate, Sodyum Dodesil Sülfat
Sn	: Second, Saniye Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü
T	: Tymine, Timin
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TaqI	: Thermus aquaticus
TBE	: Tris/Borate/EDTA
TRβ	: Thyroid Hormone Receptor- β , Tiroid Hormon Reseptörü- β
Tris	: (Hydroxymethyl) Aminomethane, (Hidroksimetil) Aminometan
TSHβ	: Thyroid Stimulating Hormone β -Subunit Tiroid Uyarıcı Hormonun β Alt Ünitesi
Trp	: Tryptophan, Triptofan
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
U	: Unit, Ünite
UNC-86	: Transcription Factor UNC-86
V	: Volt

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Yıllara göre Türkiye keçi varlığı (TÜİK, 2020)	2
Şekil 1.2. Türkiye’de Kıl keçisi varlığının illere göre dağılımı (TÜİK, 2016)	2
Şekil 2.1. Keçi POU1F1 geni yapısı	15
Şekil 2.2. POU1F1 proteini üç boyutlu yapısı.....	16
Şekil 3.1. <i>AluI</i> restriksiyon enzim kesim bölgeleri ve şekillenen TT (340, 110), TC (340, 216, 124, 110), CC (216, 124, 110) genotipleri	25
Şekil 3.2. <i>PstI</i> restriksiyon enzimi kesim bölgeleri ve şekillenen TT (450), TC (450, 370, 80), CC (370, 80) genotipleri	25
Şekil 4.1. POU1F1 geninin 450 bç’lik bölgesinde <i>PstI</i> ve <i>AluI</i> enzim kesimi ile belirlenen genotiplerden hesaplanan allel frekanslarının işletmelere göre değişimi.....	31

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 4.1.** POU1F1 geni hedef bölgesine ait PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü 27
- Resim 4.2.** PCR ürünlerinin *AluI* (sol tarafta) ve *PstI* (sağ tarafta) enzimleri ile kesilmesi sonucu elde edilen DNA fragmanlarının agaroz jel görüntüsü 28
- Resim 4.3.** PCR ürünlerinin *PstI* enzim ile kesilmesi sonucu elde edilen DNA fragmanlarının agaroz jel görüntüsü..... 29



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Farklı keçi ırklarında POU1F1 genine yönelik yapılan araştırmalar sonucu <i>AluI</i> ve <i>PstI</i> enzim kesimi sonucu elde edilen genotip ve allel frekansları.....	17
Tablo 3.1. Çalışma kapsamında yer alan yetiştirici işletmeleri ve örnek sayıları.....	20
Tablo 3.2. POU1F1 geni hedef bölgesinin amplifikasyonu için uygulanan termal çevirici koşulları.....	24
Tablo 3.3. <i>AluI</i> ve <i>PstI</i> Restriksiyon enzimlerinin DNA tanıma dizileri	24
Tablo 3.4. <i>AluI</i> ve <i>PstI</i> enzim kesimi reaksiyon bileşenleri, miktar ve inkübasyon koşulları.....	24
Tablo 3.5. Araştırmada ele alınan özellikler ve etkisi incelenen kesikli ve sürekli etmenler	26
Tablo 4.1. POU1F1 geninin 450 baz çiftlik bölgesinin <i>PstI</i> ve <i>AluI</i> enzim kesimleri ile gözlenen genotiplerin örneklem geneli ve işletme bazlı elde edilen genotip ve allel frekansları.....	30
Tablo 4.2. İşletmeler ve örneklem geneli için POU1F1 geni <i>PstI</i> ve <i>AluI</i> enzim kesimi için gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile H-W dengesine ait ki-kare test sonuçları.....	31
Tablo 4.3. Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerine ait tanımlayıcı basit istatistikler .	32
Tablo 4.4. Oğlak büyüme özelliklerine ait performans verilerinin etkili faktörlere göre varyans analizi ile elde edilen en küçük kareler ortalama ve standart hataları	34

ÖZET

POU1F1 GENOTİPLERİNİN KIL KEÇİLERİNDE BÜYÜME ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

**TİN B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Programı,
Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.**

Amaç: Kıl keçisi oğlaklarında yapılan bu çalışmada, POU1F1 geninin intron 5'in bir kısmı, ekzon 6 ve 3' flanking bölgesinden oluşan 450 baz çifti uzunluğundaki dizisinde *AluI* ve *PstI* polimorfizminin tanımlanması ve yetiştirici koşullarında oğlak büyüme özellikleri bakımından POU1F1 genotipleri arası farklılıkların ortaya konması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, Aydın ve Denizli illeri köylerinde bulunan 6 farklı işletmedeki 150 baş Kıl keçisi oğlağında gerçekleştirilmiştir. Oğlakların büyüme özelliklerini belirlemek üzere doğum ağırlığı, yaklaşık 3 ve 6 aylık yaşlardaki canlı ağırlıklar ile doğumdan 3 ve 6 aylık yaşa kadar geçen süredeki ortalama günlük canlı ağırlık artışları belirlenmiştir. POU1F1 gen bölgesine özgü tasarlanan primer çifti ile 150 örneğin 138'inde 450 bp'lik PCR ürünleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Çoğaltılan hedef DNA bölgesindeki nükleotid polimorfizmini ortaya koymak üzere PCR ürünleri *AluI* ve *PstI* restriksiyon enzimleriyle ayrı ayrı kesime tabi tutulmuştur. Enzim kesimi sonrası oluşan PCR-RFLP ürünü DNA fragmanları jel elektroforezinde boyutlarına göre ayrıştırılıp görüntülenmiştir.

Bulgular: Görüntülerden elde edilen genotip verilerinin analizi sonucunda POU1F1/*AluI* kesimi ile elde edilen TT, TC ve CC genotiplerinin frekansları sırasıyla 0,86, 0,13 ve 0,01 olarak bulunmuş ve bunun sonucunda T ve C alellerinin frekansları sırasıyla 0,93 ve 0,07 olmuştur. POU1F1/*PstI* kesimi ile belirlenen TT ve TC genotiplerinin frekansları sırasıyla 0,95 ve 0,05 olarak bulunmuş, T ve C alellerinin frekansları ise 0,97 ve 0,03 olmuştur. *PstI* enzim kesiminde de CC genotipi gözlenmemiş ve her iki enzim kesiminde de C alelinin frekansı çok düşük gözlenmiştir. Her iki enzim kesimi ile elde edilen genotipler bakımından yapılan ki-kare testleri incelenen popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu ortaya koymuştur. Oğlakların doğum ağırlıkları, yaklaşık 3 aylık (ortalama 95, 2 gün) ve 6 aylık (ortalama 172, 7

gün) yaştaki canlı ağırlıkları ve doğumdan 3 ve 6 aylık yaşa kadar geçen süreçteki günlük ortalama canlı ağırlık artışları için en küçük kareler ortalamaları sırasıyla 2,92 kg, 17,91 kg, 26,53 kg, 156,70 g ve 126,91 g bulunmuştur. İncelenen büyüme özellikleri bakımından hem POU1F1/*AluI* hem de POU1F1/*PstI* kesimleri ile elde edilen genotiplere ait ortalamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Sonuç: POU1F1 geninin incelenen 450 baz çiftlik bölgesinin Kıl keçilerinde *AluI* restriksiyon enzimi bakımından sergilediği polimorfizm ilk kez bu çalışma ile tanımlanmış, yine ilk kez olarak *AluI* ve *PstI* polimorfizmi ile oğlak büyüme özellikleri ilişkilendirilmiştir. Oğlak büyüme özelliklerine yönelik yapılan analizlerde ise incelenen gen bölgesi kapsamındaki iki enzim kesimi için elde edilen genotiplerin büyüme özellikleri bakımından önemli fark yaratmadıkları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme özellikleri, Kıl keçisi, PCR-RFLP, Polimorfizm, POU1F1,

ABSTRACT

EFFECT OF POU1F1 GENOTYPES ON GROWTH TRAITS IN KIL GOATS

**Tin B. Aydın Adnan Menderes University, Sciences Institute, Animal Science Program,
Master Thesis, Aydın, 2022.**

Objective: In this study performed in Kil goat kids, it was aimed to identify *AluI* and *PstI* polymorphisms in the 450 base pair long sequence consisting of intron 5, exon 6 and 3' flanking regions of the POU1F1 gene and to reveal the differences between POU1F1 genotypes in terms of kid growth characteristics under breeder conditions.

Material and Methods: The study was carried out on 150 Kil goat kids from 6 different farms in the villages of Aydın and Denizli provinces. In order to determine the growth characteristics of the kids, the birth weight, the body weights at the ages of about 3 and 6 months, and the average daily live weight gains from birth to the age of 3 and 6 months were determined. With the primer pair designed specifically for the POU1F1 gene region, 450 bp PCR products were successfully obtained in 138 of 150 samples. In order to reveal the nucleotide polymorphism in the amplified target DNA region, PCR products were cut separately with *AluI* and *PstI* restriction enzymes. The PCR-RFLP product DNA fragments formed after enzyme digestion were separated according to their size in gel electrophoresis and visualized.

Results: As a result of the analysis of the genotype data obtained from the images, the frequencies of the TT, TC and CC genotypes obtained by the POU1F1/*AluI* restriction were found to be 0,86, 0,13 and 0,01, respectively, and as a result, the frequencies of the T and C alleles were 0,93 and 0,07, respectively. The frequencies of the TT and TC genotypes determined by the POU1F1/*PstI* restriction were found to be 0,95 and 0,05 respectively, while the frequencies of the T and C alleles were 0,97 and 0,03. The CC genotype was not observed in both enzyme cuts and the frequency of the C allele was observed to be very low. Chi-square tests for genotypes obtained by both enzyme cuts revealed that the studied population was in Hardy-Weinberg equilibrium. The least squares means for the birth weights of the kids, their liveweights at the age of about 3 months (average 95,2 days) and 6 months (average 172,7

days), and the average daily body weight gains from birth to 3 and 6 months of age were 2,92 kg, 17,91 kg, 26,53 kg, 156,70 g and 126,91 g, , respectively. The differences between the averages of the genotypes obtained with both POU1F1/*AluI* and POU1F1/*PstI* restrictions were found to be statistically insignificant in terms of the growth characteristics examined ($p>0.05$).

Conclusion: In this study, the polymorphism of the examined 450 base pair region of the POU1F1 gene in terms of *AluI* restriction enzyme in Kıl goats was defined for the first time, and again for the first time, *AluI* and *PstI* polymorphisms were associated with kid growth characteristics. In this study, it was defined for the first time that the examined 450 base pair region of the POU1F1 gene exhibited polymorphism in Kıl goats in terms of *AluI* and *PstI* restriction enzymes. In the analyzes performed for the data on growth characteristics of the kids, it was determined that the genotypes obtained for the each of two enzyme cuts within the scope of the examined gene region did not make a significant difference in terms of growth characteristics.

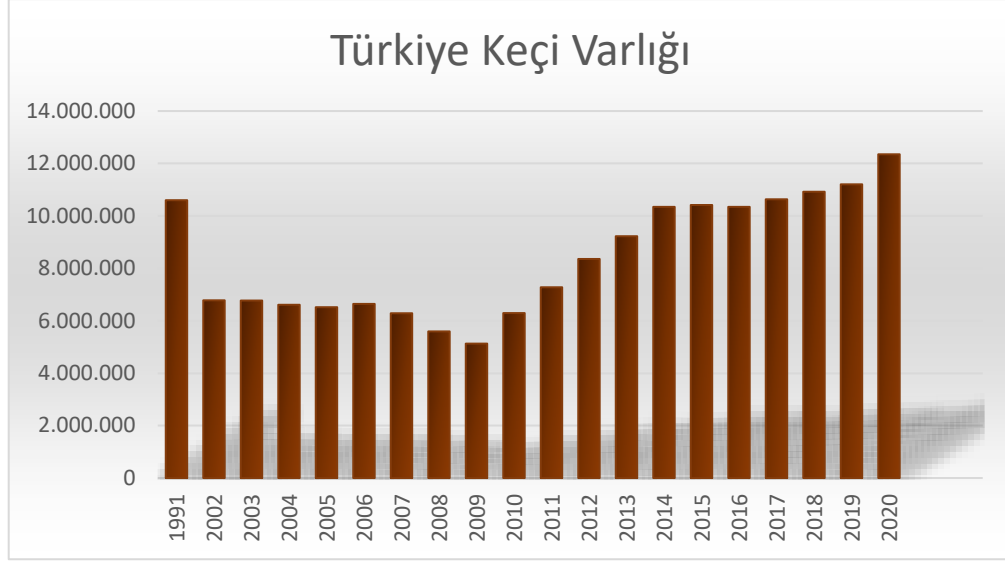
Key Words: Growth traits, Kıl goat, PCR-RFLP, Polymorphism, POU1F1,

1. GİRİŞ

Güneyde Arabistan Çölü, Kuzeyde Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgesinin dağlık kısımları arasında kalmış, sınırları Dicle ve Fırat nehri ile Basra körfezine kadar uzanan ve Bereketli Hilâl, Münbit Hilâl veya Verimli Hilâl (İngilizce: Fertile Crescent) olarak adlandırılan bölgenin günümüzün temel tarım ürünleri ve özellikle hayvancılık açısından bir evciltme merkezi olduğu bilinmektedir. Diğer birçok tür gibi keçi de bu bölgeden köken almaktadır. Keçilerin, 10.000 yıl öncesine dayanan, İran'ın Irak sınırından Basra Körfezi'nin güneyine kadar 1.500 km'sinde yer alan ve çok geniş bir alana yayılan Zagros Dağları'nda evcilleştirildiği ve zaman içerisinde farklı alt türlere ayrıldığı düşünülmektedir (Zeder ve Hesse, 2000).

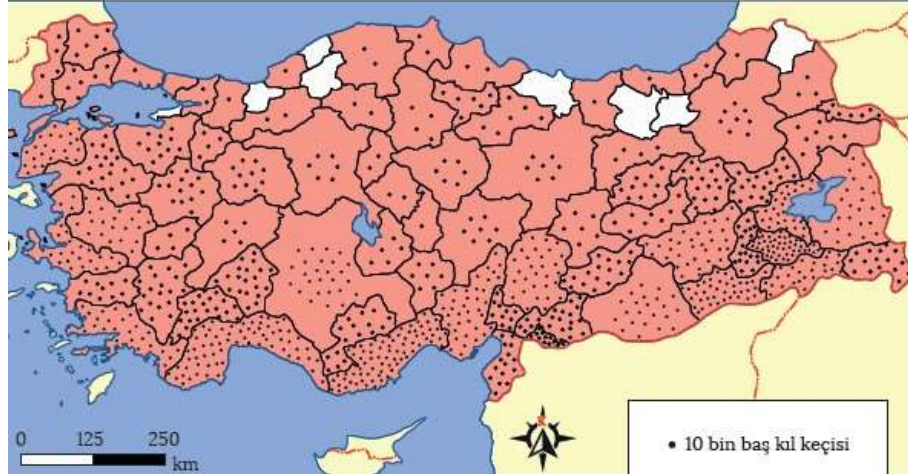
Türkiye'de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği hayvancılık içinde önemli bir paya sahiptir. Küçükbaş hayvancılık kapsamında koyun yetiştiriciliği daha büyük paya sahip olmakla birlikte keçi yetiştiriciliği de küçümsenemeyecek bir paya sahiptir. Keçi yetiştiriciliği daha çok kırsalda yer alan, eğitim seviyesi düşük, yaşam koşulları oldukça düşük olan yoksul kesim tarafından ekstansif olarak yapılmaktadır. Ülkenin keçi varlığının çok büyük bir kısmını oluşturan Kıl keçisi, Anadolu'nun tüm iklim ve toprak koşullarına uyumlu olduğundan yetiştiriciliği ülke sathına yayılmıştır. Dik ve kayalık araziler için ideal tırmanma kabiliyeti sergileyen, sıcak ve soğuğa dayanıklı, hastalıklara dirençli olan bu ırk, kötü çevre şartlarında üretim için ideal bir genetik materyaldir. İnsan beslenmesinde kullanılmayacak bitkisel ürünler ve atıkların değerli hayvansal gıdalara çevrilmesi bakımından oldukça değerli bir türdür.

Ülkemizde 1991 yılına kadar pek çok kesim keçicilik faaliyeti ile geçimini sağlamakta iken Kıl keçisinin orman düşmanı gösterilmesi sonucunda yetiştiricilerinin zorlu süreçlere sokulması sonucunda 1991-2010 yılları arasında büyük bir sayısal azalmayla önemliliğini kısmen kaybetmiştir. 1991 yılında 10, 7 milyon baş olan keçi sayısı 2010 yılında 6, 3 milyon başa kadar gerilemiştir. Ardından, kamu tarafından devreye sokulan bazı önlemlerle birlikte keçi sütü ve ürünlerine olan talebin de artması sonucunda bu süreç tersine çevrilmiş ve 2010 yılından bu zamana kadar geçen süreçte keçi sayısı kademeli olarak artış göstermiştir. 2020 yılında sayısı 12, 3 milyon başa ulaşan keçi varlığı (Şekil 1.1.) 1991 yılı rakamlarını tekrar yakalanmış, hatta geçmiştir (TUİK, 2020).



Şekil 1.1. Yıllara göre Türkiye keçi varlığı (TÜİK, 2020)

Keçi hemen hemen neredeyse Türkiye'nin genelinde yetiştiriliyor olmasına karşın, Ege, Akdeniz, Marmara, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgelerinde daha yoğun olarak yetiştirilmektedir. Türkiye'de Kıl keçisi varlığının illere göre yoğunluğu Şekil 1.2'de yer alan haritada gösterilmiştir. En yoğun olarak Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilmekte ve toplam Kıl keçisi varlığının yaklaşık % 27.58'i bu bölgede bulunmaktadır (Dellal vd., 1997; Ertuğrul vd., 2000).



Şekil 1.2. Türkiye'de Kıl keçisi varlığının illere göre dağılımı (TÜİK, 2016)

Türkiye'de küçükbaş hayvancılık, ıslah sistemlerinin temel benzerlikleri ve ıslahın yapıldığı coğrafi bölgelere göre bariz farklılıklar göstermesi bakımından benzersizdir. Islah programlarında temel yaklaşım evrenseldir. Uygun çiftleşme sistemlerini içeren ıslah programlarının, alt yapı imkanlarının izin verdiği ölçüde popülasyonun genetik özelliklerini de dikkate alarak, damızlık değeri tahmin yöntemini yüksek doğrulukla belirleyerek ve genetik ilerlemeyi en üst düzeye çıkararak başarılı olacağı öngörülmektedir (Karaca ve ark., 2013). Gelişmiş ülkelerde hayvancılık açısından sistematik ıslah programlarının uygulanması ile vurgulanan özellikler açısından verimde büyük artışlar sağlanmış ve hatta bazı verimlerde istenilen hedeflere ulaşılmıştır. Seleksiyon programlarında majör genler de kullanılmış ve büyük olasılıkla majör genler bakımından genotipler sabitlenmiştir. Ancak ülkemizde bugüne kadar etkin bir ıslah programı yürütülmediği için verimlerde önemli bir artış sağlanamamıştır. Bu nedenle, verim açısından ırk içi, ırklar arası ve sentetik popülasyonlarda büyük farklılıklar gözlenmektedir (Karaca, 1998; Karaca ve ark., 2002).

Ekstansif olarak yetiştirilen yerli keçi ırklarımızın verim ve morfolojik özelliklerini tanımlamaya yönelik kimi araştırmalar yapılmasına karşın ırkların ıslahına yönelik etkin seleksiyon uygulamaları son zamanlara kadar başlatılamamıştır. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı bünyesindeki Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından 2005 yılında Akkaraman koyunu ve Ankara (Tiftik) keçisi ırklarımıza yönelik olarak başlatılan “Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” bu alandaki ilk ciddi adım olmuştur. Sonrasında 2011 yılında başta Kıl keçisi olmak üzere keçi ırklarımıza yönelik bir ok alt proje değişik illerde hayata geçirilmiştir. Bu sayede, hakkında sınırlı bilgiye sahip olduğumuz Kıl keçisinin özelliklerinin tanımlanmasına yönelik kayıt sistemi başlatılmış ve ıslah çalışmalarına yönelik altyapı şekillenmeye başlamıştır. Elde edilen veriler ırk içi geniş bir varyasyona ve ıslah potansiyeline işaret etmektedir.

Entansif ve ekstansif hayvancılıkta ırklarda kalıcı verim artışı sağlanması saf seleksiyona dayalı ıslah yöntemleriyle mümkündür. Kantitatif teori tabanlı fenotipe dayalı damızlık değerlendirmesini esas alan geleneksel ıslah yöntemleri günümüze kadar birçok çiftlik hayvanı ırkının ıslahında etkin olarak kullanılmıştır. Buna karşın, fenotipe dayalı damızlık değer tahmininde isabetin düşük olması, uzun generasyon aralığı ve bazı karakterlerin eşeye özgü olması gibi nedenlerle arzulan genetik ilerleme daha uzun zaman süreçlerinde sağlanabilme dezavantajı söz konusudur. Son 30-40 yılda moleküler genetik ve üreme biyoteknolojileri alanlarında yaşanan gelişmeler, özellikle genomik alanında son 10-15 yılda katedilen ilerlemeler klasik seleksiyonun genomik seleksiyona evrilmesinin yolunu açmıştır.

Hayvanların genetik yapısını tanımlamaya ilişkin olarak moleküler genetik yöntemlerinin kullanılması gittikçe yaygınlaşmaktadır. Genetik çeşitlilik ancak DNA düzeyinde tanımlanarak sağlıklı bir şekilde tespit edilebilmektedir. Son yıllarda, moleküler genetik alanındaki büyük gelişmeler sayesinde yapılan genom taramaları ve gen çalışmaları sonucunda çok sayıda kantitatif karakter lokusu (QTL: Quantitative Trait Loci) ortaya çıkarılmış ve genomdaki lokasyonları tespit edilmiştir. Şu ana kadar belirlenen kantitatif karakter lokuslarına ait tür bazlı derlenen bilgilere, en geniş veritabanlarından biri olan Hayvan Kantitatif Karakter Lokusları Veri Tabanı (The Animal Quantitative Trait Loci (QTL) Database, Animal QTLdb, <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>) üzerinden ulaşmak mümkündür. Günümüzde artık birçok canlı türünün tüm genom DNA dizileri çıkartılmakta ve genomdaki SNP'ler belirlenebilmektedir. Çiftlik hayvanı türlerinde de genoma ait bilgiler (çoğunlukla SNP genotipleri) ile performans verilerinin genom boyu ilişki analizleri (GWAS, Genom-Wide Association Studies) ile ilişkilendirilmesi sonucunda verim vb özelliklerden sorumlu gen veya nükleotidler belirlenmeye başlanmıştır. Keçi türüne yönelik çalışmalar ise diğer çiftlik hayvanı türlerine göre daha kısıtlıdır. Verimlerden sorumlu genler belirlendikten sonra özellikle PCR-RFLP yöntemini esas alan pratik genotipleme analizleri devreye sokulabilmektedir. Bunun yanı sıra belirli bir türde belirlenmiş olan genler diğer türler için de aday gen olarak değerlendirilebilmektedir.

Klasik ıslah programlarında genotip tayini fenotipe bakılarak yapılırken, moleküler genetik analizi temel alan yöntemlerde ise DNA'ya dayalı biçimde daha hızlı ve doğru bir genotip tayini mümkün olur. Kantitatif karakterler şeklinde isimlendirilen verim ile ilgili özellikler çok fazla sayıda gen tarafından belirlendiği için bunların kalımları poligenik olarak isimlendirilmektedir. Poligenik kalıtım sergilemekte olan verim ile ilgili özellikleri çevresel koşullardan büyük oranda etkilenmektedirler. Bu bağlamda direkt fenotipten yola çıkarak bu tür özelliklerde genotip ve çevre etkilerini birbirinden ayırmak hem zor hem de düşük duyarlılıkta olmaktadır. Böylece moleküler genetik tekniklerin de desteği ile orta ve büyük etkili genlerin tanımlanması ve genotip bilgilerinin ıslah programına entegre edilmesi, klasik ıslah programına güç katmakta ve genetik ilerleme düzeyini arttırmaktadır. Özellikle moleküler teknikler, zamandan tasarruf sağlayarak ve isabeti artırarak önemli ölçüde katkıda bulunur.

Keçi yanında birçok diğer hayvan türünde de çeşitli verimlere (üreme, büyüme, süt verim ve içeriği) etkili olduğu bildirilen genlerden biri POU1F1 (POU class1 homeobox1, Büyüme hormonu salgılama faktörü-1) genidir ve bu gen memelilerde hipofiz bezinden eksprese edilen ve hormon ifadesinden sorumlu bir transkripsiyon faktörü olup memelilerin

gelişimini düzenleyen transkripsiyon faktörleri POU ailesinin bir üyesidir (Li ve ark., 1990; Tuggle ve Trenkle, 1996; Maria ve Cataldo, 2011). POU1F1 geni, büyüme hormonu (GH), prolaktin (PRL) ve tiroid uyarıcı hormon β alt birimi (TSH β) promotor bölgesine bağlanarak bu genlerin aktivasyonunda da rol oynar (Cohen ve ark., 1996; Bastos ve ark., 2006; Tatsumi ve Amino, 1999; Li ve ark., 1990). Keçi, sığır ve koyunlarda 1. kromozom üzerinde yer alan bu gen, POU-domain ve homeodomainini kapsayan 6 ekzon, 5 intron ve 3'flanking bölgesinden oluşmaktadır (Woollard ve ark., 2000).

POU1F1 geni üzerinde tanımlanmış mutasyonların tavşanlarda et kalitesi ve büyüme özellikleri (Wang ve ark., 2015), koyunlarda süt verimi (Mura ve ark., 2012; Özmen ve ark., 2014), canlı ağırlık artışı (Sadeghi ve ark., 2014), büyüme özellikleri ve biyometrik ölçümler (Jalil-Sarghale ve ark., 2014), keçilerde döl verimi ve süt verimi (Daga vd., 2013; Feng vd., 2012), sığırlarda süt verimi (Ahmadi vd., 2015), karkas verimi (Seong vd., 2011), keçilerde kaşmir özellikleri (Lan vd., 2009) ve domuzlarda karkas karakteristikleri (Kim vd., 2014) üzerine etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

Keçilerde POU1F1 geni polimorfizmine yönelik çalışmalar (Feng ve ark., 2012; Lan ve ark., 2007a, b; Li ve ark., 2016) ekseriyetle Çin'de bulunan yerli keçi ırklarında PCR-RFLP tekniği ile, *AluI* ve *PstI* restriksiyon enzim polimorfizmlerinin tanımlanması yoluyla yapılmış, kimi çalışmalarda genotiplere göre keçilerin süt veriminin ya da doğumda oğlak sayılarının değişimi incelenmiştir. Ülkemizde ise Işık ve Bilgen (2019), Saanen Keçi ırkında yürüttükleri bir çalışmada, *AluI* ve *PstI* restriksiyon enzimleri ile belirlenen genotiplere göre süt verimi, döl verimi ve oğlaklarda doğum ağırlığı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Başka bir çalışmada (Ouchar, 2019) ise Kıl, Ankara, Kilis, Honamlı, Halep ve Saanen keçilerinde Pit-1 (POU1F1) polimorfizmi incelenmiştir. Kıl keçileri özelinde bakıldığında sadece bu son çalışmada (Ouchar, 2019) POU1F1 polimorfizmi incelenmiş, verim özelliklerinin genotiplere göre değişimini ele alan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Klasik ıslah programları veya genomik yaklaşımlarla Kıl keçilerinin verim özelliklerinin ıslahı ve böylece ırkın üretim potansiyelinin yükseltilmesi, yetiştirici gelirlerinin artırılması ve ülkemizin hayvansal ürün ihtiyacının karşılanması önemli bir gereksinim olarak karşımızda durmaktadır. TAGEM öncülüğünde 2005 yılında başlatılan "Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi", koyun ve keçi ırklarımızın fenotipik ve genetik özelliklerinin ortaya konması ve ıslahı amacıyla atılan en önemli adımdır. Devreye konan klasik ıslah yaklaşımlarının daha etkin kılınması amacıyla gen veya belirteç destekli seleksiyon uygulamalarının ya da sonraki aşamalarda uygun altyapı şekillendirilerek genomik seleksiyon

uygulamalarının devreye konması ıslah çalışmalarını daha etkin kılacaktır. Bu kapsamda verimlere etkili aday genlere yönelik mevcut polimorfizmin tanımlanması ve mevcut genotiplere göre verim özelliklerinde farklılık olup olmadığının tespit edilmesi bu genlerden ıslah programlarında yararlanma olanağını ortaya koyacaktır. Bu yaklaşımla POU1F1 geninin Kıl keçilerinde polimorfizminin ortaya konması, belirlenecek genotiplere göre oğlak büyüme özelliklerinin değişiminin tanımlanması bireylerin bu gen açısından genotiplerinin ıslah programlarına entegre edilip edilemeyeceğini ortaya koyabilecektir.

Kıl keçisi oğlaklarında gerçekleştirilen, Aydın ve Denizli illerindeki sürülerde yetiştirilen hayvanların materyal olarak kullanıldığı bu çalışmada, POU1F1 geninin intron 5 bölgesinin bir kısmı, ekzon 6 bölgesi ve 3' flanking bölgesinden oluşan 450 baz çifti uzunluğundaki DNA dizisinde *AluI* ve *PstI* restriksiyon enzimi polimorfizmlerinin tanımlanması ve oğlak büyüme özellikleri bakımından POU1F1 genotipleri arası farklılıkların ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kıl Keçisinin Genel Özellikleri

Türkiye, evcilleştirme sürecinde farklı ırklara sahip olması ve evcil koyun, keçi ve sığır popülasyonlarında geniş çeşitlilik göstermesi nedeniyle genetik çeşitlilik açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Karaca ve Cemal, 1998). Tarıma ve gıda üretimine katkı sağlayan çiftlik hayvanları ve ırklar arasında gözlenen çeşitlilik tarihsel sürecin bir sonucu olarak bugünkü şeklini almıştır (Cemal vd., 2013). Ülkede koyun ve sığırdan sonra en çok sayısal varlığa sahip memeli çiftlik hayvanı olan keçi türü bakımından popülasyonun çok büyük bir kısmını Kıl keçisi oluşturmaktadır. Ege ve Akdeniz Bölgesinin sahil kuşağı, Marmara Bölgesi, Güneydoğu, Doğu ve İç Anadolu bölgelerinde yoğun olmakla birlikte neredeyse ülkenin tamamında yetiştirilmektedir.

Kara keçi veya Adi keçi olarak da bilinen Kıl keçileri sarp yamaçlara rahat tırmanır, patika ve dik yamaçlarda dolaşmaktan çekinmezler. Bundan dolayı zor geçitlere keçiyolu denir. Sarp araziler, yüksek rakımlı alanlar, orman kenarları veya içleri, özellikle makilik alanlar kıl keçileri için uygun alanlardır ve bu alanların bir kısmının diğer hayvan türleri tarafından değerlendirmeleri pek olanaklı değildir. Genellikle ekstansif olarak, sınırlı girdilerle ve neredeyse tamamen doğaya bağlı olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dolayısıyla doğadaki değersiz diyebileceğimiz bitki kaynaklarının hayvansal ürünlere çevirilmesi bakımından eşsiz bir canlıdır. Kıl keçisinin yaşam alanında kermes meşesi (*Qercus coccifera*), boz pırnal meşesi (*Qercus aucheri*) ve pırnal meşesi (*Qercus ilex*) bulunmaktadır ve meşelerde bulunan yaprakları ve sürgünleri keyifli biçimde tüketmektedirler.

Genellikle renk siyahtır, ancak gri, kahverengi veya sarı da olabilir. Vücudu kaplayan kıllar kısa veya uzun olabilir ve üst kısım vücudu kaplayan kalın, uzun kıllardan, alt kısım ise ince ve yumuşak kıllardan oluşur. Derileri genellikle koyu renklidir. Keçi ve tekelerin boynuzları vardır. Kıllı bir keçinin gövdesi oldukça dayanıklıdır. Kafa orta büyüklükte ve temizdir. Çeşitlilik fazla görülmesi ile birlikte genellikle kulakları iri ve sarkıktır. Ancak daha kısa kulaklı olanları da görülebilir. Küpeli olanlarına pek rastlanmaz. Her iki cinsiyette de sakal görmek mümkündür.

Yetişkin erkekler ortalama 65-90 kg, dişiler ise ortalama 45-65 kg ağırlığındadır. Yetersiz bakım ve beslenme ile tüm iklim koşullarına uyum sağlayan verimli bir ırktır. Araştırmalar, Kıl keçilerinin ortalama 180-220 gün süren laktasyon döneminde %3-4 yağlı 80-150 litre süt ürettiğini göstermiştir. Ortalama olarak, doğumda bir yavru doğururlar, yani ikizlik nadirdir. Çoğu bölgede et bir numaralı önceliktir. Süt ve kıl üretimi de önemlidir (Et ve süt kurumu, 2021)

Türkiye'de küçükbaş hayvancılığın diğer çiftlik hayvanları yetiştiriciliği arasında özel bir yeri vardır. Çünkü koyun ve keçiler, diğer türlerin yararlanamadığı verimsiz alanları kullanarak bu dezavantajı et, süt, yapağı, kıl ve deri gibi ürünlere dönüştürme yeteneğine sahiptir. Bilindiği gibi ülkemiz de keçi popülasyonunun önemli bir kısmı Kıl keçilerinden oluşmakta, bunu Ankara keçisi ve süt keçileri izlemektedir. Ülkemizdeki keçi popülasyonu dikkate alındığında sayıca büyük bir potansiyel oluşturmakta ve keçilerden elde edilen süt ve etin hayvancılık sektöründeki oransal payı küçümsenemeyecek düzeydedir (Anonim, 2005c).

Türkiye koyun ve keçi sayısında dünyanın önde gelen ülkelerinden biri olmasına rağmen, yakın zamana kadar gerekli ıslah çalışmaları yapılmadığı için hayvan başına verimde istenilen iyileşme sağlanamamıştır. Tarım ve Orman Bakanlığı bünyesindeki Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından uygulamaya konulan “Halk Elinde Hayvan ıslahı Ülkesel Projesi” kapsamında sahada yürütülen Kıl keçisi de dahil olmak üzere koyun ve keçi ırklarında yürütülen karakterizasyon ve ıslah faaliyetleri son yıllarda bu anlamda umut vericidir.

2.2. Kıl Keçilerinde Büyüme Özellikleri

Hayvanlarda büyüme ve gelişme özelliklerinin değerlendirilmesinde doğum ağırlığı ve sonrasında çeşitli dönemlere ait canlı ağırlıklar ile vücut ölçüleri önemlidir. Canlı ağırlık canlıların yaşamında farklı fizyolojik koşullara göre değişebilmekte, doğrudan veya dolaylı olarak genotip ve çevre etkileşimi hakkında fikir verebilmektedir (Ortega-Jimenez ve ark. 2005; Tölu ve ark. 2009). Vücut ölçüleri, hayvanların morfolojik yapısı, büyüme ve gelişme özellikleri, yetiştirilecek ırkın belirlenmesi ve yetiştirici seçiminde bilgi verilmesi, ıslahta ilklerin erken dönemde kullanılması, nesiller arası sürenin kısaltılması açısından önemlidir. Yetiştirme döneminin önemli sorunlarından biri olan keçilerin kaybı, hijyen ve oğlak doğum ağırlığı (Koyuncu ve ark. 2006), doğum şekli, mevsim, yıl, üreme sistemi, bölge, cins, sık

görülen hastalıklar ve annelerin laktasyon sırası annelerin sağkalımını önemli ölçüde etkilediği bildirilmektedir (Awemu ve ark. 1999; Marai ve ark. 2002; Kumar ve ark. 2003; Şimşek ve Bayraktar 2006).

2.3. Moleküler Belirteçler

Moleküler belirteçler, genomdaki herhangi bir gen bölgesi veya gen bölgesi ile ilişkili DNA parçalarıdır. Moleküler belirteçler; DNA bazlı genetik ölçümler oluşturdukları için DNA belirteçleri olarak da bilinirler. DNA belirteçleri, farklı genotiplerin DNA dizi farkını çeşitli şekillerde ortaya koyan yardımcı belirteçlerdir. Genom analizinde nükleik asit temeline dayalı genetik belirteçlerin kullanımı ıslah çalışmaları için gerekli bir alandır. Bu belirteçler kullanılarak morfolojik olarak birbirine çok yakın olanlar ayırt edilebilir ve teşhis edilebilir. Moleküler belirteç yöntemleri, DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin saptanması prensibine dayanmaktadır. Popülasyonda birden fazla gen veya özellik varsa, o gen veya fenotipik özellik polimorfik olarak kabul edilir. Polimorfizm, DNA dizisinin varyantları, amino asit dizisi, kromozomal yapı veya fenotipik özellik gibi çeşitli seviyelerde ortaya çıkabilir. Herhangi bir parçadan az miktarda doku, bütün bir genomun analiz edilebildiği DNA'yı elde etmek için yeterlidir (Botstein ve ark., 1980). Ayrıca, DNA belirteçleri stabildir, tüm dokularda bulunabilir, çevresel koşullardan etkilenmez, kodominant veya baskın olabilir ve basit kalıtım ilkelerine sahiptir (Williams ve ark., 1990). Bu belirteçler, kullanımı polimeraz zincir reaksiyonuna bağlı olmayanlar (RFLP) ve bağlı olanlar (RAPD, AFLP, SSR) olarak adlandırılmaktadır (Staub ve ark., 1996; Ridout ve Donini, 1999).

2.3.1. Moleküler belirteç teknolojisinin kullanım alanları

Moleküler belirteçler; QTL analizinde, genetik haritalamada (Rafalski vd., 1996), kültür varlıkların tanımlanması, yeni geliştirilen çeşitlerin korunması, genetik bağlantıların belirlenmesi (Lowe ve ark., 1996) ve ıslah programlarında kullanılacak ebeveynlerin tanımlanmasında kullanılırlar. Aynı zamanda, moleküler belirteç teknolojisi, çeşitli stres etmenlerinin genomik bölgelerini belirlemek ve genomun yapısı hakkında bilgi elde etmek için yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır.

2.3.2. PCR Tekniği

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), DNA (Deoksiribonükleik Asit) diziliminin tanımlanması amacıyla ilk kez 1985 yılında Kary Mullis tarafından keşfedilmiş, özgün bir tekniktir. PCR, DNA dizilerinin in vitro olarak çoğaltılmasına dayanır. PCR; Bu basit, açık, sofistike bir tekniktir (Saiki ve ark, 1985; Mullis, 1990). Moleküler biyolojik çalışmalarında en temel ve güçlü teknolojilerindendir.

PCR yöntemi 3 aşamadan oluşmaktadır. Bunlar;

- **Denatürasyon** (Çift sarmal DNA zincirinin açılması):

Guanin ve sitozince zengin bölgelerde Pre-denatürasyon işlemi ile DNA çift zincirli yapısı ikiye ayrılması için 5-10 dakika boyunca 94-95°C'de gerçekleştirilir ve bir sonraki basamaklar için ön hazırlık olur. Pre-denatürasyon ardından uygulanacak çoklu döngünün her birinde 1-5 dk arasında denatürasyon işlemi uygulanır. Bu işlem annealing ve extension aşamalarını da içerecek şekilde 30-45 döngüden oluşur. Denatürasyon zamanı ve sıcaklığı, G+C kuvvetli hidrojen bağının kopma oranına dolayısıyla da çoğaltılmak istenen bölgenin guanin ve sitozince büyüklüğüne bağlıdır. G+C'ce zengin bölgelerde denatürasyon sıcaklığı artırılabilir. (Sambrook ve Russell, 2001). Eksik denatürasyon durumunda verim düşer. DNA'ya yüksek sıcaklıklarda uzun süre maruz kalmak, DNA polimeraz (Taq DNA polimeraz) enziminin işlevini bozabilir (Howe ve Ward, 1989).

-**Bağlanma (Annealing)**, Açılan DNA zincirine primerlerin bağlanması):

Primerlerin bağlanma sıcaklığı (annealing) 37-65 °C arasında değişir ve optimizasyon için en önemli parametrelerden biridir. Primerin DNA iplikçisine bağlanması için gereken süre ve kullanılan sıcaklık, primerdeki nükleotid içeriğine, yani miktarına bağlıdır. $T_m = (G + C) 4 + (A + T) 2$ basit formülü kullanılarak bir primer-model kompleksinin erime sıcaklığının hesaplanmasıyla başlamaktadır. Oligonükleotid primerler tasarımı oluşturulurken ise primer-dimer yapısı oluşturmayacak şekilde sentezlenmelidir (Innis ve Gelfand, 1990).

- **Uzama (Extension)**, Bağlanan primerin uzaması):

Uzama sıcaklığı ve süresi, yine seçilen bölge ve bu bölgenin G+C oranına bağlı olarak Taq DNA polimeraz (DNA polimeraz) enziminin optimum çalışma sıcaklığı olan 72-78°C'lerde gerçekleştirilir (Sambrook ve Russell, 2001). Ortalama en uygun uzama süresi 1 dakika, son uzama (final extension) süresi ise 5-10 dakika olarak uygulanmaktadır. Döngü

sayısı ise, primerin genişlemesi ve çoklu replikasyonun verimliliği (kullanılan enzimin kalitesi) gibi numune DNA'sının konsantrasyonuna bağlıdır (Sambrook ve Russell, 2001, Şahin ve ark., 2000). DNA zincirlerine bağlanan primerler ideal çalışma sıcaklığı olan 72 °C'de yaklaşık 1 dakika süre boyunca Taq DNA polimeraz enzimi yardımı ile çözelti içinde bulunan dNTP (deoksiribonükleozid trifosfatlar) bazlarının (A, C, T, G) 5' → 3' yönünde primerin 3' OH ucuna eklenerek yeni oluşacak kopya zincirin uzamasını sağlar (Erich ve ark., 1991). Çoğaltılması istenilen bölge, iki oligonükleotid primerinin arasında dNTP'ler ile oluşturulan bölgenin uzunluğu kadardır (Hadidi ve ark., 1995; McPherson ve Moller, 2000).

Bu işlem basamakları 30-45 defa tekrarlanarak çoğaltılmak istenen DNA fragmentinin milyarlarca kopyası elde edilir. PCR işlemi sonucunda elde edilen DNA fragmentleri çeşitli DNA boyaları ile boyanarak ve elektroforezde gözlemlenir (Hadidi ve ark., 1995).

2.3.3. PCR-RFLP Analiz Uygulama Basamakları Avantajları ve Dezavantajları

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism / Sınırlanmış Parça Uzunlukları Polimorfizmi) ilk keşfedilen moleküler belirteç sistemidir. İncelenen bitki ve hayvanların DNA'ları çeşitli restriksiyon enzimleri ile kesilerek uzunluklarının görülmesi için agaroz jelde ayrıştırılır (Tanksley ve ark., 1992; Ahn ve Tanksley, 1993; Staub ve ark., 1996).

DNA makasları olarak da bilinen Restriksiyon enzimleri, çift zincirli DNA molekülünün belli nükleotit dizilerini tanıyan ve her iki zincire müdahale edip iki zinciri birlikte kesen bir enzim türüdür (Robert, 1976; Kessler ve Manta, 1990; Pingoud ve ark., 1993), yani bir restriksiyon enzimi DNA'yı belirli bölgesini kesmek için DNA çift sarmalının her iki zincirin şeker-fosfat omurgasından birer kere olmak üzere iki kesim yapar.

Restriksiyon enzimleri; bakteri ve arkelerde bulunurlar, yabancı DNA'lara ve virüslere karşı bir savunma mekanizmasında kullanılırlar (Arber ve Linn, 1969; Krüger ve Bickle, 1983). Bununla birlikte bakteri kendi DNA'sını restriksiyon enziminin etkisinden koruyabilmesi için DNA metilasyonu gibi çeşitli modifikasyonlar kullanmaktadır (Arber ve Linn, 1969; Krüger ve Bickle, 1983; Kobayashi, 2001). Restriksiyon endonükleaz enzimleri 4 grupta kategorize edilmiştir. Günümüzde farklı DNA dizilimini tanıyan 300'e yakın restriksiyon enzimi olmakla birlikte toplam sayıları 3000'den fazla olduğu bilinmektedir.

RFLP; bireyleri, popülasyonları veya türleri ayırt etmek veya genlerin konumlarını bir dizi içinde belirlemek için polimorfizm olarak bilinen homolog DNA dizilerindeki varyasyonlardan yararlanan bir tekniktir. RFLP analizinde, DNA örneği bir veya daha fazla bölgesinden restriksiyon enzimlerinden yararlanılarak parçalara ayrılır ve ortaya çıkan kısıtlanmış parçalar daha sonra jel elektroforezi ile boyutlarına göre ayrılır.

RFLP, geliştirilen ilk PCR tabanlı olmayan belirteç sistemidir. RFLP belirteçleri kodominant, yani eşbaskındır (Bark ve Havey, 1995). Bu özellik sayesinde heterozigot bireyleri tanımlamak mümkündür. PCR tabanlı yöntemlerin ortaya çıkmasına kadar yaygın olarak kullanılan RFLP, PCR tabanlı yöntemlerin avantaj ve dezavantajları nedeniyle sadece spesifik olarak çalışılmış bir tekniktir.

RFLP tekniğinin avantajları: Türler, cinsler ve hatta aileler arasında aktarılabilir. Farklı laboratuvarlar ve farklı araştırmacıların aynı sonuçlara ulaşabilmesi açısından oldukça güvenilirdir. RFLP belirteçleri eş baskın oldukları için heterozigotları tanımlamak için kullanılırlar. Orta derecede polimorfizm gösterirler.

RFLP tekniğinin dezavantajları: Analizleri pahalı, zaman alıcı ve emek yoğunudur. Çoğu durumda, radyoaktif etiketleme yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek kaliteli DNA'ya ihtiyaç vardır. RFLP belirteçleri, genomun belirli noktalarında kötü kopyalanmış dizilerde kümelenir, bu nedenle genom boyunca rastgele dağılım göstermezler. Bu görüntüyü olumsuz etkiler. Bu durumda, RFLP işaretleriyle elde edilen haritalar genellikle büyük boşluklara yol açar.

PCR-RFLP tekniği ise direkt DNA'nın değilde PCR ile çoğaltılan özel DNA bölgesinin restriksiyon enzimleri ile işleme tabi tutulmasına dayanır. Dolayısıyla sadece DNA'nın spesifik bir bölgesi hedeflenir ve enzim kesimiyle 1 veya birkaç noktadan DNA kesimi gerçekleşir. Enzim kesimi ile şekillenen DNA fragmanlarının elektroforez ile ayrıştırılıp, boyanıp görüntülenmesi sonucunda genotipler belirlenir. Bilinen polimorfizmler açısından genotip tayininde kullanılan pratik ve hızlı bir yöntemdir. Günümüzde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir.

2.4. Transkripsiyon Faktör- POU Homeobox

Transkripsiyon faktörü, genlerin transkripsiyonunu düzenlemek için DNA üzerinde belli bir diziye bağlanabilen bir proteindir. Bunlar özgün DNA bağlanma proteini olarak da bilinirler (Latchman, 1997; Karin, 1990). Transkripsiyon faktörleri, tek başına veya bir kompleksteki diğer proteinlerle birlikte, bir genin RNA polimeraz tarafından transkripsiyonunu ya kolaylaştırır (aktivatör olarak) veya inhibe eder (bastırıcı olarak) (Roeder, 1996; Nikolov ve Burley, 1997; Lee ve Young, 2000).

Transkripsiyon faktörleri, önce DNA'ya bağlanarak, ardından transkripsiyona olumlu veya olumsuz etki ederek etkinliklerini gösterirler. Transkripsiyon faktörleri, bazal ve spesifik olarak ikiye ayrılmaktadır. Bazal transkripsiyon faktörleri, protein kodlayan genlerin başlangıç noktasına RNA Polimeraz II'nin bağlanmasını sağlamakta, Spesifik transkripsiyon faktörleri ise, belirli bir DNA nükleotid dizisine bağlanıp, o genlerin aktive olmalarını ya da baskılanmalarını sağlamaktadırlar (Yanık, 2012). Birçok farklı transkripsiyon faktörünün detaylı analizi sonucunda, molekülün belirli bölgelerinin modüler bir yapıya sahip olduğunu ve DNA'ya bağlanmadan sorumlu olduğunu, diğer bölgelerin ise transkripsiyon üzerinde uyarıcı veya engelleyici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Farklı transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma bölgeleri üzerinde yapılan çalışmalar, DNA bağlanmasını oluşturabilen birkaç farklı yapısal elementin olduğunu ortaya çıkarmıştır (Harrison, 1991; Travers, 1993). Bu anlamda bir çok regülatör protein bulunur. Her birinin kendine özgü yapısal motiflerinin olduğu da bilinmektedir. Bunlar; helix-turn-helix, çinko parmak (zinc finger) ve helix-loop-helix alanıdır. Bu proteinlerin çoğu homodimerler ya da heterodimerler olarak DNA'ya bağlanmaktadır (Yanık, 2012). Transkripsiyon faktörleri genellikle DNA bağlanma bölgelerine ve bu bağlanma bölgelerinin seçimine göre sınıflandırılır.

POU-domain, transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir ve üç transkripsiyon faktörünün adından türetilmiştir:

Pituitary spesifik PİT-1 (Hipofiz spesifik PİT-1)

Octamer transkripsiyon faktörü proteinleri, Oct-1 ve Oct-2 (octamer dizisi ATGCAAAT'dir)

Caenorhabditis elegans kaynaklı sinirsel Unc-86 transkripsiyon faktörü.

POU proteinleri, POU etki alanı adı verilen iki parçalı DNA bağlayıcı etki alanı içeren ökaryotik transkripsiyon faktörleridir. POU ailesinin çeşitli üyeleri, hepsi nöroendokrin sistemin işlevi ve bir organizmanın gelişimi ile ilgili çok çeşitli işlevlere sahiptir.

POU etki alanı, 15-55 amino asitlik korunamayan bir bölgeyle ayrılmış iki alt birimden oluşan iki parçalı bir etki alanıdır. N-terminal alt birliği POU'ya özgü (POUs) etki alanı olarak bilinirken, C terminali alt birliği homeobox etki alanıdır. Her iki alt etki alanı da, iki parçalı DNA bağlama alanlarının iki bileşeniyle doğrudan ilişkili olan yapısal motif 'sarmal-dönüş-sarmal' içerir ve her ikisi de yüksek benzeşim dizisine özgü DNA bağlama için gereklidir. Etki alanı protein-protein etkileşimlerine de dahil olabilir. Alt etki alanları esnek bir bağlayıcı ile bağlanır. Proteinlerde POU'ya özgü bir etki alanına her zaman bir homeodomain eşlik eder.

Nüsslein-Volvard ve Wieschaus (1980) gelişimi kontrol eden üç zigotik gen; gap (boşluk) genleri, pair box (çift kural) genleri ve segment polarite genleri, belirlemişlerdir. Bu zigotik genlere segmentasyon genleri ismi verilmiştir. Segmentasyon genleri embrioyu segmentlere bölerken, homeotik genler (Hox genleri) hangi vücut yapısına dönüşeceğini belirlemektedir. Hox geni, DNA bağlanma domaini içeren 180 bç'lik homeobox (homeokutusu) kodlar. Bu transkripsiyon faktörü 60 amino asit uzunluğunda homeodomain olarak bilinen diziyi kodlar (Klug ve Cummings, 2011). Homeobox genleri ANTP (Antennapedia gene), PRD (paired gene), LIM (nematode lin-11, mammalian Isl1, nematode mec-3 genes), CERS (ceramide synthase), HNF (Hnf1), SINE (sine oculis), TALE (three amino acid loop extension), CUT (Drosophila gene cut), PROS (Drosophila gene pros), ZF (zinc finger) ve POU (Pit1, OCT1, OCT2, nematode Unc-86) sınıfı olmak üzere 11 farklı gruba ayrılmaktadır (Holland ve ark, 2007; Herr ve ark., 1988).

2.5. POU1F1 Gen yapısı ve işlevi

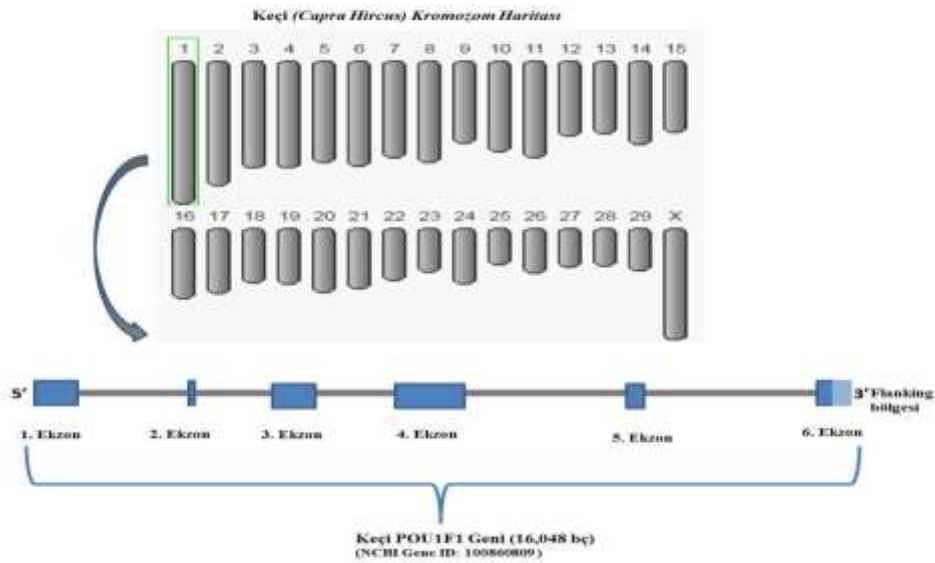
POU-domain transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesi olan PIT-1 (Pituitary-specific transcription factor 1) geni yeniden isimlendirilerek günümüzde POU1F1 geni (POU class1 homeobox1, Büyüme hormonu salgılama faktörü-1) olarak kullanılmaktadır. Diğer isimleri GHF-1 (Büyüme Hormonu Transkripsiyon Faktörü-1) ve CPHD1 (Hipofiz Hormon Eksikliği Kombine-1) genidir (NCBI, 2016).

POU1F1 geni memelilerde hipofiz bezinden eksprese edilen ve hormon ifadesinden sorumlu bir transkripsiyon faktörü olup memelilerin gelişimini düzenleyen transkripsiyon faktörleri POU ailesinin bir üyesidir (Li ve ark., 1990; Tuggle ve Trenkle, 1996; Maria ve Cataldo, 2011).

POU1F1 geni, büyüme hormonu (GH), prolaktin (PRL) ve tiroid uyarıcı hormon β alt birimi (TSH β) promotor bölgesine bağlanarak bu genlerin aktivasyonunda da rol oynar (Cohen ve ark., 1996; Bastos ve ark., 2006; Tatsumi ve Amino, 1999; Li ve ark., 1990). POU1F1 geni ön hipofiz hücre tipi olan tirotrop, somatotrop, laktotrop hücrelerinin farklılaşması, gelişimi ve hayatta kalması için gereklidir (Lan ve ark., 2009a; 2009b; 2009c; 2009d; Akers, 2006; Svennersten-Sjaunja ve Olsson, 2005; Sun ve ark., 2002).

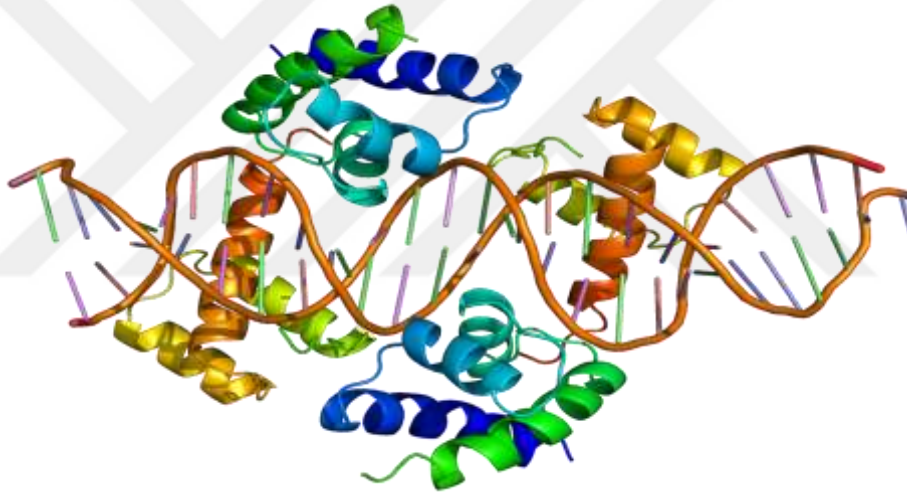
POU1F1 geninde meydana gelebilecek herhangi bir mutasyon büyüme, üreme ve süt üretiminden sorumlu olan GH, PRL ve TSH β genlerinin ekspresyonunun baskılanmasına veya hiç eksprese olmamasına neden olabilmektedir. Hipofiz hormon eksikliği insanlarda CPHD1 (Hipofiz Hormon Eksikliği Kombine-1) geni ile ilişkili hormon salınımındaki sapmalar sonucu görülen rahatsızlıktır ve GH (büyüme hormonu) ekspresyonunun baskılanması boy kısalığına neden olmaktadır (Uyguner, 2015).

POU1F1 geni keçi, sığır ve koyunlarda 1q21–22 (1. Kromozom q kolu 21.bant ile 22. Bant arası) kromozom üzerinde, POU-domain ve homeodomainini kapsayan 6 ekzon, 5 intron ve 3' flanking bölgesinden oluşmaktadır (Woollard et al., 2000). Keçi POU1F1 geni yapısı Şekil 2.1.'de yer almaktadır.



Şekil 2.1. Keçi POU1F1 geni yapısı

Keçi POU1F1 geninin nükleotid dizisinin NCBI (Gene ID: 100860809) veri bankasında 16.048 baz çiftinden, altı ekzon ve beş introndan oluştuğu bildirilmiştir. POU1F1 geni NCBI veri bankasında NC_022293.1 nolu erişim numarası ile 34320290 ve 34336337. nükleotidler arasında yer almakta ve birinci ekzonu 1-446 bç, ikinci ekzonu 1467-1527 bç, üçüncü ekzonu 2277-2441 bç, dördüncü ekzonu 4883-5107 bç, beşinci ekzonu 12039-12188 bç, altıncı ekzonu 15785-16048 baz çiftleri arasında yer almaktadır. Toplam beş intron içinde en kısa olanı 750 nükleotid ile ikinci intron, en uzun olanı ise 6932 nükleotid ile dördüncü introndur. POU1F1 geni açık okuma çerçevesi (ORF, Open Reading Frame) 124-198 aminoasitler arası POU-spesifik (POUs) ve 214-276 aminoasitleri arası homeobox domaini içermekte, toplam 873 nükleotid, 291 aminoasitten oluşmaktadır. POU class1 homeobox1 proteininin üç boyutlu yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (NCBI XP_005674850.1).



Şekil 2.2. POU1F1 proteini üç boyutlu yapısı

2.6. Çiftlik hayvanlarında POU1F1 ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalar

Son araştırmalarda POU1F1 geni üzerinde tanımlanmış mutasyonların, tavşanlarda et kalitesi ve büyüme özellikleri üzerine (Wang ve ark., 2015), koyunlarda süt verimi üzerine (Mura vd., 2012; Ozmen vd., 2014), koyunlarda canlı ağırlık artışı üzerine (Sadeghi vd., 2014), büyüme özellikleri ve biyometrik ölçümler üzerine (Jalil-Sarghale vd., 2014), keçilerde döl verimi ve süt verimi üzerine (Daga vd., 2013; Feng vd., 2012), sığırlarda süt verimi üzerine (Ahmadi vd., 2015), karkas verimi üzerine (Seong vd., 2011), kaşmir özellikleri üzerine (Lan

vd., 2009), domuzlarda karkas karakteristikleri üzerine (Kim vd., 2014) ve tavuklarda canlı ağırlık ve yumurta verimi üzerine etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

Farklı keçi ırklarında yapılan çalışmalarda POU1F1 geninin hedef bölgesine ait PCR ürünlerinin *AluI* ve/veya *PstI* enzim kesimine dayalı olarak polimorfiz tanımlamaları yapılmış, çalışmaların bir kısmında ise hayvanlara ait genotiplere göre performans özelliklerinin değişimi incelenmiştir. Farklı çalışmalarda keçiler için elde edilen genotip ve allel frekansları Tablo 2.1.'de özetlenmiştir. Genelleme yapılacak olursa her iki enzim kesimi bakımından da elde edilen genotipler bakımından CC genotipinin sınırlı olarak gözleendiği, hatta bazı ırklarda gözlenmediği, T allelinin frekansının C allelinin frekansından belirgin derecede yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 2.1. Farklı keçi ırklarında POU1F1 genine yönelik yapılan araştırmalar sonucu *AluI* ve *PstI* enzim kesimi sonucu elde edilen genotip ve allel frekansları

Kaynak	ÜLKE	IRK	AluI					PstI				
			GENOTİP FREKANSI			ALLEL FREKANSI		GENOTİP FREKANSI			ALLEL FREKANSI	
			TT	TC	CC	T	C	TT	TC	CC	T	C
Gündüz ve Biçer, 2020	Türkiye	Kilis	0,408	0,525	0,067	0,671	0,329	-	-	-	-	-
Ouchar, 2019	Türkiye	Kıl	-	-	-	-	-	0,808	0,192	-	0,904	0,096
	Türkiye	Ankara	-	-	-	-	-	0,804	0,196	-	0,902	0,098
	Türkiye	Honamlı	-	-	-	-	-	0,780	0,220	-	0,890	0,110
	Türkiye	Halep	-	-	-	-	-	0,860	0,140	-	0,930	0,070
	Türkiye	Saanen	-	-	-	-	-	0,660	0,340	-	0,830	0,170
	Türkiye	Kilis	-	-	-	-	-	0,820	0,180	-	0,910	0,090
Işık ve Bilgen, 2019	Türkiye	Saanen	0,546	0,315	0,139	0,700	0,300	0,648	0,315	0,037	0,800	0,200
Zhu ve ark., 2019	Çin	Beyaz Kaşmir	0,750	0,220	0,030	0,860	0,140	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
Dagong ve ark., 2016	Endonezya	Marica, Kacang, Peranakan Ettawa	-	-	-	-	-	0,530	0,470	-	0,760	0,240
Zhou ve ark., 2016	Çin	Guangzhong	0,953	0,047	-	0,977	0,023	0,446	0,524	0,030	0,708	0,292
Lan ve ark., 2006	Çin	Beyaz Kaşmir	0,747	0,235	0,019	0,864	0,136	-	-	-	-	-
Lan ve ark., 2009	Moğolistan	Beyaz Kaşmir	-	-	-	-	-	0,919	0,079	0,002	0,959	0,041

Gündüz ve Biçer (2020), Kilis keçilerinde POU1F1 geninin PCR ile çoğalttıkları hedef bölgesini *AluI* restriksiyon endonükleaz enzim kesimine tabi tuttıkları çalışma sonucunda; genotip ve allel frekanslarını bildirmekle (Tablo 2.1.) birlikte süt verim özelliklerinin genotiplere göre değişimini incelemişlerdir. Laktasyon süt verimi bakımından genotipler arasındaki farklılığın önemli ve T.C. genotipli hayvanların süt verimlerinin diğer genotiplere

göre daha yüksek olduğu, laktasyon süresi bakımından genotipler arasındaki farklılığın önemli ve TC genotipine sahip hayvanların laktasyon süresinin diğer genotiplere göre daha uzun olduğu, ortalama günlük süt verimleri bakımından da genotipler arasındaki farklılığın istatistiksel anlamda önemli ve TC genotipe sahip hayvanların ortalama günlük süt verimlerinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

Işık ve Bilgen (2019), Manisa ve Bornova/İzmir'de bulunan iki sürüdeki Saanen ırkı keçilerde yürüttükleri çalışmada *POU1F1/AluI* ve *POU1F1/PstI* lokusları bakımından sürülerin Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiş, *AluI* ve *PstI* restriksiyon enzimleri ile belirlenen genotiplere göre süt verimi, döl verimi ve oğlaklarda doğum ağırlığı üzerine etkilerini incelemişlerdir. *AluI* enzimi sonucu oluşan CC ve TC genotiplerinin laktasyon süt verimi ve döl verimi bakımından pozitif etkisi olduğunu, oğlakların doğum ağırlığı bakımından ise *PstI* enzim kesimi sonucu oluşan CC genotiplerin daha yüksek ortalamaya sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Zhu ve ark. (2019) Çin'deki Beyaz Kaşmir keçi ırkında yaptıkları çalışmada, süt verim performansı bakımından *POU1F1/PstI* genotiplerinin önemli bir fark yaratmamasına karşın, *POU1F1/AluI* genotiplerinin önemli bir fark yarattığını bildirmişlerdir.

Zhou ve ark (2016) yaptıkları çalışmada, Guanzhong süt keçilerinde *POU1F1/PstI*, *POU1F1/AluI* polimorfizmlerini süt verimi ve içeriği ile ilişkilendirmişlerdir. *POU1F1/PstI* genotipleri ile süt verim performansı arasında anlamlı bir ilişki olmadığını, *POU1F1/AluI* genotipleri bakımından ise önemli bir ilişkinin var olduğunu, bu bulgular ile *POU1F1/AluI* bakımından TT genotipinin süt yağı içeriği veya asitliği için etkili bir DNA belirteci olabileceğini ve marker destekli seleksiyonda (MAS) faydalanılabileceği bildirilmiştir.

Moğolistan'da bulunan 847 baş Beyaz Kaşmir keçilerinde Lan ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, *Pit-1/PstI* bakımından genotip ve allel frekansları belirlenmiş (Tablo 2.1.), populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bildirilmiş, *Pit-1/PstI* polimorfizmi ile kaşmir verimleri arasındaki ilişkilerin önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Lan ve ark. (2007), Çin'deki 9 yerli keçi ırkında *POU1F1* lokusunda *AluI* enzim kesimi ile elde ettikleri genotipler ile süt verimi ($P<0,05$) ve doğum ağırlığının ($P<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler sergilediğini, süt verimi için TC ve doğum ağırlığı için TT genotiplerinin seleksiyonda moleküler belirteçler olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Kıl özellikleri üzerinde ise genotiplerin anlamlı bir etkisi olmadığı belirtilmiştir.

Li ve ark. (2016) tarafından Çin'deki 15 yerli keçi ırkında yapılan araştırmada, POU1F1 geni altıncı ekzonu ve 3' flanking bölgesinde PCR-RFLP analizi sonucu D1D1 genotipinin yaygın olduğu ve D1 allel frekansının 0,550 ile 0,790 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. D1D2 ikinci sık görülen genotip olup, frekansı 0,371 olarak saptanmıştır. Çin yerli keçi popülasyonlarında POU1F1-DdeI lokusunun geniş varyasyona sahip olduğu genetik çeşitlilik analizi sonucu gözlenmiştir.

Feng ve ark. (2012), Jinning Grey ırkı keçileri POU1F1/*AluI* lokusu bakımından incelemişlerdir. CC/CT/TT genotiplerine sahip hayvanların doğumda oğlak sayısı sırasıyla 2,46, 2,39, 2,23 olarak belirlenmiş ve genotipler ile söz konusu özellik arasındaki ilişkinin önemsiz olduğu ($p>0,05$) bildirilmiştir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından yetiştirici şartlarında uygulamaya konulan “Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi” kapsamında Aydın ve Denizli illerindeki Kıl keçilerine yönelik devreye konan alt projeler kapsamındaki kimi yetiştirici sürülerindeki oğlaklar araştırmanın hayvan materyalini oluşturmuştur. Toplam 6 yetiştirici sürüsünden örneklenen 150 baş Kıl keçisi oğlağı materyal olarak incelenmesine karşın ilgili gen bölgesi bakımından 138 örnekte genotipleme yapılabilmektedir. Çalışma kapsamında yer alan işletmelere ve işletmelerden alınan örnek sayılarına yönelik bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışma kapsamında yer alan yetiştirici işletmeleri ve örnek sayıları

Yetiştirici Adı	Kısaltma	Lokasyon	Örnek Sayısı (n)
Nazmi KOŞAR	NK	Yazır, Karacasu, Aydın	36
Süleyman HOŞ	SH	Karapınar, Kuyucak, Aydın	35
Veli ÇOLAK	VÇ	Dutağaç, Bozdoğan, Aydın	39
İbrahim ERMİŞ	İE	Akbaş, Honaz, Denizli	10
Ramazan YAĞMUR	RY	Mollaahmet, Babadağ, Denizli	20
Sami ABAŞ	SA	Akbaş, Honaz, Denizli	10
TOPLAM			150

3.2. Yöntem

Çalışma kapsamında, keçilerin doğum kayıtları tutulmuş, oğlakların ise büyüme özellikleri belirlenmiş ve genetik tanımlamada kullanılacak DNA eldesi için kan örnekleri alınmıştır. Hayvanlara yönelik yapılan tüm müdahaleler, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK) tarafından verilen izin (2020/068) ve yetiştiricilerden alınan onam ile gerçekleştirilmiştir.

Kan örneklerinin DNA eldesinden başlayarak genotiplerin belirlenmesine kadar geçen tüm laboratuvar analizleri ise Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (TARBİYOMER) bünyesindeki Moleküler Genetik-1 laboratuvarı ile Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümünde bulunan Moleküler Genetik laboratuvarı cihaz altyapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma yöntemine ait tüm aşamalar, uygulanma sırası esas alınarak, aşağıda ayrı ayrı başlıklar altında özetlenmiştir.

3.2.1. Fenotipik Verilerinin Alınması, Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Doğum döneminde, doğuran keçilere ait doğum kayıtları ayrıntılı bir şekilde tutulmuş ve oğlaklar plastik kulak küpesi ile kimliklendirilmiştir. Doğuran keçinin numarası, doğum tarihi, doğumdaki oğlak sayısı, oğlak doğum ağırlığı, oğlak cinsiyeti ve oğlak küpe numarası kaydedilmiştir. Oğlak doğum ağırlığı doğumdan sonraki ilk 24 saat içinde dijital el baskülü ile belirlenmiştir. Oğlakların büyüme performanslarını belirlemek üzere yaklaşık 3 aylık (ortalama 95, 2 gün) ve 6 aylık (ortalama 172, 7 gün) yaşlarda oğlak canlı ağırlıkları elektronik baskül kullanılarak tartımla belirlenmiştir. Canlı ağırlık tartımından önce oğlaklar yarım gün (12 saat) aç bırakılmıştır. Oğlakların doğumdan 3 aylık veya 6 aylık yaşa kadar olan dönemdeki ortalama günlük canlı ağırlık artışları (OGCAA) ise, hayvanların tartımları ve günlük yaş verileri kullanılarak hesaplanmıştır. Moleküler genetik analizlerde kullanılmak üzere gerekli DNA örneklerinin elde edilmesi için 3 aylık yaşta canlı ağırlık tartımı yapıldığı sırada her bir oğlağın boyun toplardamarından 5-10 ml kan örneği K3-EDTA içeren vakumlu tüplere alınmış ve kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapıncaya kadar +4 °C soğutucuda ya da -20 °C derin dondurucuda bekletilmiştir.

3.2.2. Alınan Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

İlk olarak DNA izolasyonunda kullanılacak çözeltiler hazırlanıp gerekli saklama koşullarında hazır olarak bekletilmiştir. Hazırlanan çözeltiler ve içerikleri ekte sunulmuştur. Klasik tuz ile çökeltme yöntemi ile kan örneklerinden yapılan DNA izolasyonunun basamakları aşağıda verilmiştir:

1) Oğlaklara ait kan örnekleri derin dondurucudan (-20 °C) çıkartılarak çözünmeleri ve oda sıcaklığına (25 °C) gelinceye kadar ısınmaları sağlanmıştır.

2) İzolasyonda kullanılacak 1, 5 ml'lik eppendorf tüplerine hayvanın numarası yazıldıktan sonra 450 µl kan örneği konulmuş ve üzerine iki katı kadar (900 µl) T10E10 eklenmiştir. 20-30 saniye vortex cihazı ile homojen karışması sağlanmıştır.

3) Tüpler, +20 °C sıcaklık ve 5000 rpm'e ayarlı santrifüj cihazında 5 dakika süreyle santrifüjlenmiştir.

4) Daha sonra birikmiş topakları tüpün altında bırakmak için üst tabaka atılmış, bu sefer 900 µl T10E1 eklenerek ve önceki santrifüj ayarında yeniden santrifüjlenmiştir. Bazı durumlarda, peletleri iyice temizlemek üzere (beyaz veya çok açık pembe olana kadar) bu adım 2-3 defa tekrarlanmıştır.

5) Pelet temizlendikten sonra, 270 µl digestion çözeltisi (400mM NaCl, 10mM Tris-HCl, 2mM EDTA pH:8,2) eklenmiş ve 20-30 saniye vortex cihazında karıştırılmıştır. 10 µl proteinaz K çözeltisi ve 18 µl SDS (sodyum dodesil sülfat) çözeltisi eklenmiş ve vortex cihazı ile 10 saniye karıştırılmıştır.

6) Tüpler 1 gece boyunca 65 °C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir.

7) Ertesi gün, su banyosundan alındıktan sonra, üzerine 150 µl 6M NaCl solüsyonu eklenmiş ve proteinleri çökeltmek için 30 saniye karıştırılmış, ardından +4 °C, 5000 rpm'ye ayarlanmış santrifüjde 10 dakika santrifüjlenmiştir.

8) Santrifüj işleminden sonra üstte kalan berrak sıvı yeni bir eppendorf tüpüne aktarılmış ve DNA'yı çökeltmek için diğer eppendorf tüpüne iki katı kadar %100 saflıkta soğuk etanol (maksimum -80 °C) eklenmiştir. DNA, yapışkan bir yapı oluşturacak kadar sıkıştırılır. Yavaşça ve nazikçe 10-15 kez döndürülür.

9) Ardından DNA, maksimum seviyede santrifüj yapılarak dibe çöktürülmüş ve üzerine %70 etanol eklenerek bir kez daha alt üst edilmiştir.

10) Tüplerdeki etanol dikkatli bir şekilde boşaltıldıktan sonra, kapakları acık kalacak şekilde, etanolün tüplerden uzaklaştırılması sağlanmıştır.

11) Etanol tamamen uzaklaştırıldıktan sonra tüplere 100-150 µl T10E1 çözeltisi eklenerek DNA'nın çözünmesi sağlanmış ve

12) Son olarak çözünenin homojen olması maksadıyla 300 rpm ve 37 °C sıcaklıkta 1 gün süresince ısıtıcı blokta kapağı kapalı bir şekilde karıştırılmıştır.

3.2.3. İzolasyonu Yapılan DNA Örneklerini Kalite ve Miktar Tayini

spektrofotometresi (NanoDrop ND2000, Thermo Scientific) ile belirlenmiştir. Bu amaçla 260 ve 280 nm UV dalga boyundaki absorbans değerleri kullanılmıştır. 260 nm dalga boyundaki absorbans değerinin 50 katsayısı ile çarpılması sonucunda DNA yoğunluğu, 260 ve 280 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin birbirine oranlanması (A_{260}/A_{280}) ile elde edilen değer ile de kalite yani DNA saflığı kontrol edilmiştir. Kalite bakımından 1,8 değeri veya buna yakın değerdeki örnekler analizlerde kullanılmıştır. Düşük yoğunluk ve/veya kalitede olan örnekler için DNA ekstraksiyonu tekrarlanmıştır. Son olarak DNA örneklerinin yoğunlukları 50-100 ng/µl olacak şekilde ayarlanmış ve PCR aşamasına kadar DNA örnekleri +4 °C veya -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. PCR ile DNA Çoğaltımı

Keçide 1. kromozom (1q21-22) üzerinde bulunan POU1F1 geni üzerinde intron 5’in bir kısmı, ekzon 6 ve 3’ flanking bölgesinden oluşan 450 baz çifti uzunluğundaki hedef bölgesi için tasarlanan İleri:(CCATCATCTCCCTTCTT) ve Geri: (AATGTACAATGTGCCTTCTGAG) primerler (Lan et al., 2007b) kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir.

Her tüpte toplam hacim 30 µl olacak şekilde hazırlanan PCR karışımı; ~100 ng kalıp DNA, 1X PCR Buffer (10 mM Tris–HCl pH 8,3, 15 mM MgCl, ABM), 2 mM MgSO₄, 200 µM dNTP karışımı (ATP, GTP, CTP, TTP, ABM), 0,5 µM ileri ve geri primer, 0,625 U Taq DNA polimeraz (ABM) olacak şekilde hazırlanmıştır.

Termal çevirici (PCR cihazı) protokolü, ilk denatürasyon 95 °C’de 5 dk, denatürasyon 94 °C’de 45 sn, annealing (bağlanma) 54,5 °C’de 45 sn, uzama 72°C’de 1 dk ve final uzama 72 °C’de 10 dk olacak şekilde düzenlenmiştir. İlk denatürasyon sonrası ve final uzama öncesi olan ara basamaklar 34 döngü tekrarlanacak şekilde ayarlanmıştır (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. POU1F1 geni hedef bölgesinin amplifikasyonu için uygulanan termal çevirici koşulları

PCR Döngüsü	Sıcaklık	Süre	
Ön-denaturasyon :	94 °C	4 dk	} 34 döngü
Ayrılma (denaturasyon) :	94 °C	45 sn	
Bağlanma (annealing) :	54, 5 °C	45 sn	
Uzama (extension) :	72 °C	1 dk	
Son uzama (final extension) :	72 °C	10dk	
Bekleme :	4 °C	∞	

3.2.5. PCR Ürünlerinin RFLP Analizi

PCR sonucu elde edilen *POU1F1* gen bölgesinde; 450 baz çifti uzunluğundaki intron 5'in bir kısmı, ekzon 6 ve 3' flanking bölgesinde olan polimorfizmleri belirlemek amacıyla *PstI* ve *AluI* fastdigest restriksiyon enzimleri kullanılmıştır. *AluI* enzimiyle kesim sonucunda TT (340 ve 110 bç), TC (340, 216, 124 ve 110 bç) ve CC (216, 124 ve 110 bç) genotipleri gözlemlenecektir. Kullanılan diğer restriksiyon enzimi olan *PstI* enzimiyle kesim sonucunda ise TT (450 bç) TC (450, 370 ve 80 bç) ve CC (370 ve 80 bç) genotipleri gözlemlenecektir.

PCR ürünleri, Tablo 3.3.'te gösterilen nükleotid tanıma dizisine sahip *AluI* ve *PstI* Fast Digest Restriksiyon enzimleri ile Tablo 3.4.'teki protokol ile enzim kesimine tabi tutulmuştur.

Tablo 3.3. *AluI* ve *PstI* Restriksiyon enzimlerinin DNA tanıma dizileri

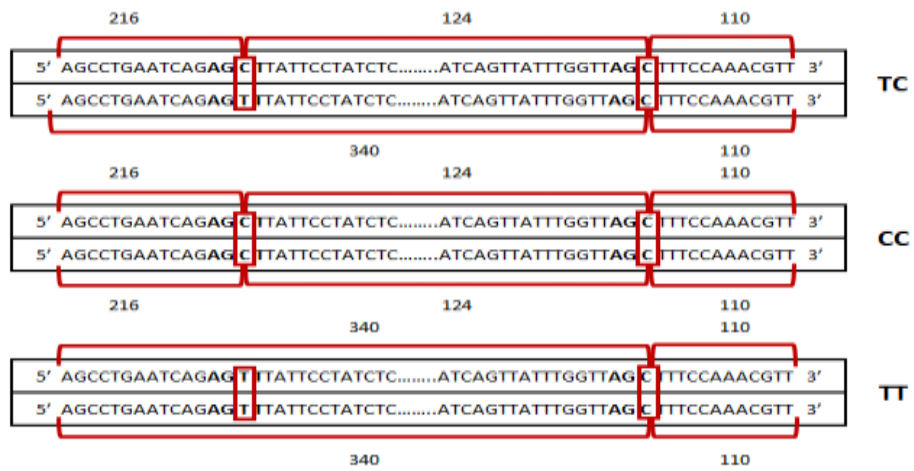
Enzim	Enzim tanıma/kesim dizisi
<i>AluI</i>	5'...AG↓CT... 3' 3' ...TC↓GA... 5'
<i>PstI</i>	5' ...CTGCA↓G... 3' 3' ...G↓ACGTC... 5'

Tablo 3.4. *AluI* ve *PstI* enzim kesimi reaksiyon bileşenleri, miktar ve inkübasyon koşulları

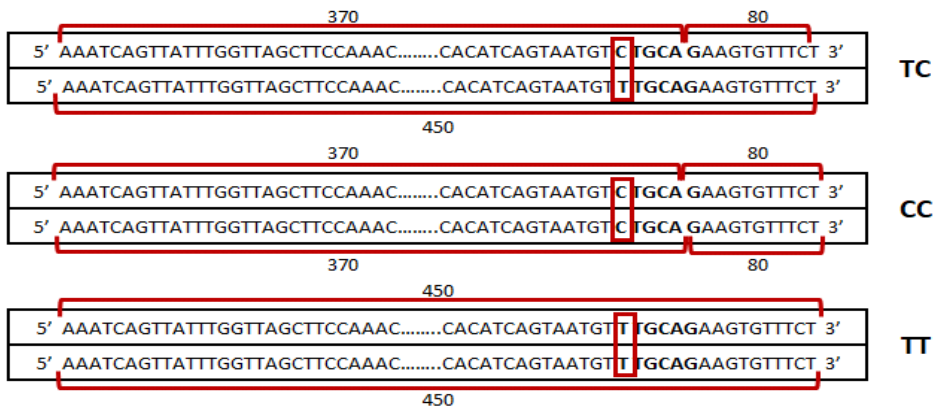
Reaksiyon Bileşeni	Miktar (µl)	İnkübasyon
ddH ₂ O	7µl	37 °C'de 3 saat
10X FastDigest Tampon	2µl	
Kesim enzimi (<i>AluI</i> veya <i>PstI</i>)	1µl	
PCR ürünü	10 µl	
Toplam hacim:	20 µl	

3.2.6. Elektroferez ile DNA Bantlarının Ayrıştırılması ve Genotipleme

Kıl keçilerine ait PCR ürünü DNA örneklerinden RFLP yöntemiyle genotipleme yapmak amacıyla *AluI* ve *PstI* restriksiyon enzimleriyle kesim yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada, *AluI* enzimiyle kesim sonucunda TT (340, 110) TC (340, 216, 124, 110) ve CC (216, 124, 110) genotipleri belirlenmiştir. (Şekil.3.1.) *PstI* enzimiyle kesim sonucunda TT (450) TC (450, 370, 80) ve CC (370, 80) genotipleri belirlenmiştir. (Şekil.3.2.)



Şekil 3.1. *AluI* restriksiyon enzim kesim bölgeleri ve şekillenen TT (340, 110), TC (340, 216, 124, 110), CC (216, 124, 110) genotipleri



Şekil 3.2. *PstI* restriksiyon enzimi kesim bölgeleri ve şekillenen TT (450), TC (450, 370, 80), CC (370, 80) genotipleri

3.2.7. Genotip ve Performans Verilerine Yönelik İstatistiki Değerlendirmeler

Elektroforetik ayırma yöntemlerinden elde edilen görüntülere dayanarak, her bireyin POU1F1/*AluI* ve POU1F1/*PstI* kesimleri bakımından genotipleri öncelikle popülasyon parametreleri açısından analiz edilmiştir. Analiz sonucunda her iki gen bölgesi için ayrı ayrı popülasyon ve işletme düzeyinde gen ve genotip frekansları belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını belirlemek için ki-kare (χ^2) testi kullanılmıştır. Gen ve genotip frekanslarının belirlenmesi ve ki-kare χ^2 analizi için PopGene32 (Yeh ve ark, 1997) ve GenAlEx 6.5 (Peakall ve Smouse, 2012) programları kullanılmıştır.

Genotip bilgileri modelde kesikli etmen olarak yer alacak şekilde oğlak büyüme özellikleri SAS (1999) programındaki Genel Doğrusal Model (GLM) prosedürü ile analiz edilerek genotipler arası farklar ve istatistiki önemlilikleri ortaya konmuştur. Araştırmada ele alınan özellikler ve etkisi incelenen kesikli ve sürekli etmenler Tablo 3.5.'de yer almaktadır.

Tablo 3.5. Araştırmada ele alınan özellikler ve etkisi incelenen kesikli ve sürekli etmenler

Özellikler	Kesikli			Sürekli				
	İşletme	Doğum Tipi	Cinsiyet	Gen1 (Genotipler)	Gen2 (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

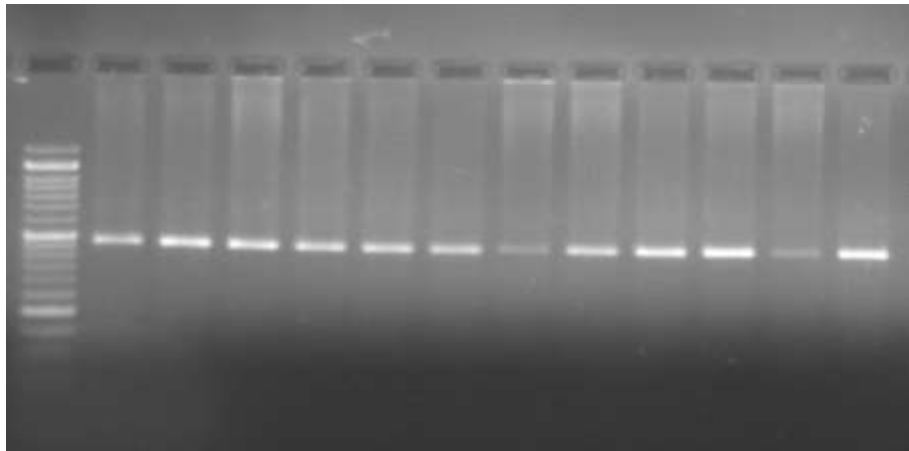
4. BULGULAR

4.1. Genomik DNA İzolasyonu Sonuçları

Kan örneklerinden izole edilen genomik DNA'ların kalite ve yoğunluğu DNA spektrofotometresi (NanoDrop ND 1000, Thermo Fisher Scientific) ile değerlendirilmiş, 260 ve 280 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri oranlandığında (260/280 nm) örnekler için elde edilen değerlerin 1,8-2,0 arasında olduğu gözlemlenmiş ve böylece DNA amplifikasyon aşaması için uygun saflığa sahip oldukları görülmüştür. Ardından örneklerin DNA yoğunlukları yaklaşık 50.0 ng/μl olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.2. *POU1F1* Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

İzolasyonu yapılan 150 baş oğlağa ait DNA örneklerinde, *POU1F1* geninin intron 5'in bir kısmı, ekzon 6 ve 3' flanking bölgesinin 450 baz çifti uzunluğundaki hedef bölgesinin spesifik primer çifti kullanılarak PCR ile çoğaltılması aşamasında 138 bireye ait örnekte hedef bölge başarılı bir şekilde çoğaltılmıştır. Hedef gen bölgesi başarılı bir şekilde çoğaltılan kimi örnekler için agaroz jel elektroforezi ile elde edilen görüntü Resim 4.1.'de verilmiştir.

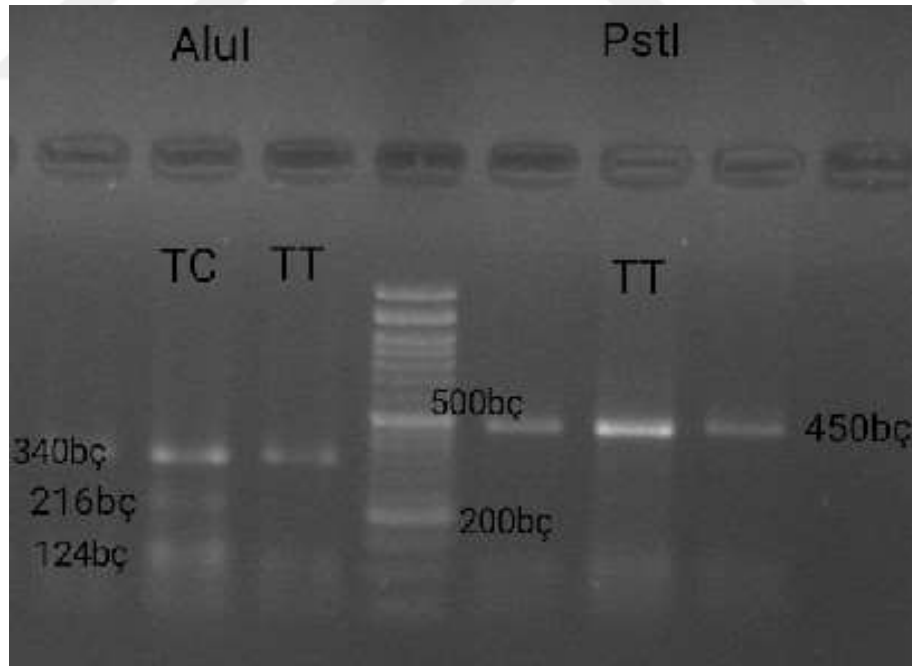


Resim 4.1. *POU1F1* geni hedef bölgesine ait PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü

4.3. PCR-RFLP Metodu ile Genotipleme Sonuçları

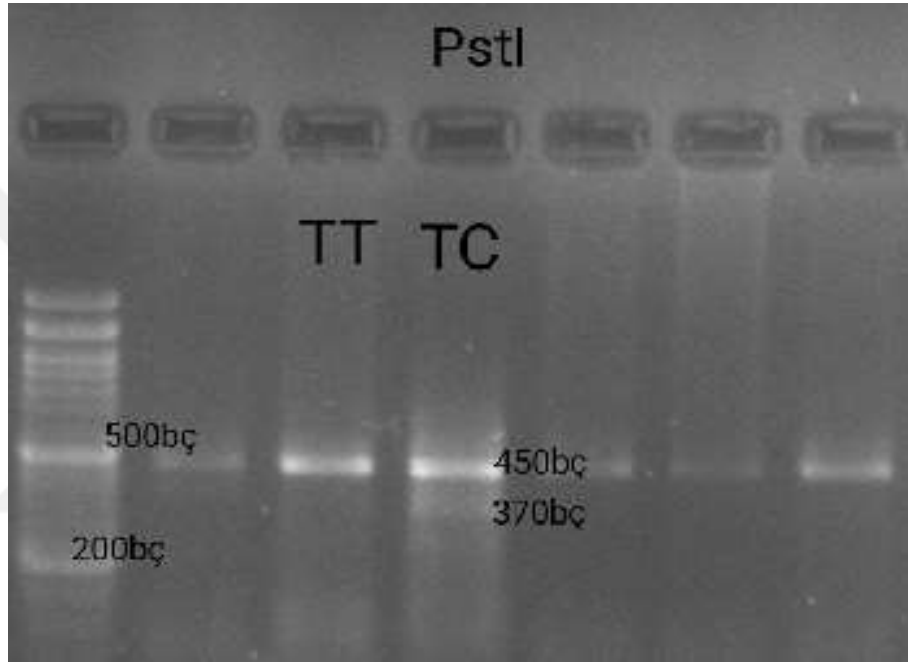
Tek nükleotid farklılığı kaynaklı şekillenen polimorfizme dayalı genotiplerin belirlenmesi amacıyla PCR ürünleri 2 farklı restriksiyon enzimi (*AluI* ve *PstI*) ile ayrı ayrı kesime tabi tutulmuş ve elde edilen kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde elektroforez ile ayrıştırılarak elde edilen jel görüntüsündeki bant sayısı ve büyüklüklerinden yararlanılarak genotipler tespit edilmiştir.

PCR ürünlerinin *AluI* enzimiyle kesim sonucunda TT (340 ve 110 bç) ve TC (340, 216, 124 ve 110 bç) genotipleri belirlenmiş, CC genotipine rastlanmamıştır. Genotiplerde yer alan 124 ve 110 bç'lik bantlar küçük ve boyut olarak birbirlerine yakın olduklarından jelde ayrışmaları ve görünürlükleri her örnekte yeterince net olamamasına karşın 340 ve 216 bç'lik diğer 2 bantın varlığına dayalı olarak genotip ayrımları sorunsuzca yapılabilmektedir. Resim 4.2.'nin sol yarımında *AluI* kesimi ile farklı genotipler için şekillenen bant görüntüleri verilmiştir.



Resim 4.2. PCR ürünlerinin *AluI* (sol tarafta) ve *PstI* (sağ tarafta) enzimleri ile kesilmesi sonucu elde edilen DNA fragmanlarının agaroz jel görüntüsü

PCR ürünlerinin kesiminde kullanılan diğer bir restriksiyon enzimi olan *PstI* enzimiyle kesim sonucunda TT (450 bç) TC (450, 370 ve 80 bç) ve CC (370 ve 80 bç) genotipleri belirlenmiştir. TC ve CC genotipli bireylerde mevcut 80 bç'lik küçük fragman, bantlar jelde yeterince yansıtma yaratmadığından görüntülenememiş, 370 ve 450 bç' lik bantların varlığı üzerinden TT ve TC genotipleri belirlenmiştir. *PstI* enzimiyle kesim sonucunda elde edilen fragmanların agaroz jelde ayrıştırılan görüntüleri Resim 4.2. (Resmin sağ tarafında) ve Resim 4.3.'te verilmiştir.



Resim 4.3. PCR ürünlerinin *PstI* enzim ile kesilmesi sonucu elde edilen DNA fragmanlarının agaroz jel görüntüsü

POU1F1 geninin incelenen 450 bç'lik kısmına ait PCR ürünlerinin *PstI* ve *AluI* enzimleri ile kesimi sonucunda bireyler için elde edilen genotiplere ait genotip ve allel frekanslarının işletmeler ve tüm popülasyon bazında dağılımı Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

PstI enzim kesimi sonucunda TT, TC ve CC genotiplerinin frekansı tüm işletmeleri kapsayan örneklem genelinde sırasıyla 0,95, 0,05 ve 0,00 bulunmuştur. Frekanslardan anlaşılacağı üzere hiçbir bireyde CC genotipine rastlanmamış, TT baskın genotip olarak belirlenmiştir. Bu durum allel frekanslarına da yansımış, T ve C allellerinin popülasyon düzeyinde frekansları sırasıyla 0,97 ve 0,03 bulunmuştur. Genotip verileri işletme bazlı olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise İE, RY ve SA işletmelerinde tüm bireylerin TT genotipli

olduğu monomorfik bir yapı gözlenmiştir. Diğer 3 işletmede ise TT genotipinin frekansı TC genotipinin frekansından yüksek bulunmuş, CC genotipine rastlanmamıştır. İşletmeler düzeyinde ele alındığında T allelinin frekansı C allelinin frekansından oldukça yüksek olup 0,96-1,00 arasında değerlere sahiptir.

AluI enzimi kesim sonucuna ait TT, TC ve CC genotiplerinin frekansları populasyon bazında sırasıyla 0,86, 0,13 ve 0,01 bulunmuştur. Allel frekansları ise örneklem genelinde T ve C allelleri için sırasıyla 0,93 ve 0,07 bulunmuştur. İşletme bazlı olarak ayrı ayrı değerlendirme yapıldığında ise 6 işletmeden sadece VÇ işletmesinde CC genotipli bireylere rastlanmıştır. İE ve SA işletmelerinde ise sadece TT genotipinin gözleendiği monomorfik bir yapı tespit edilmiştir. İşletmelerin hepsinde TT genotipinin frekansı TC genotipinden oldukça yüksektir ya da TT yönünde sabitlenmiştir. Tüm işletmelerde T allelinin frekansı (0,89-1,00 aralığında değişen), C allelinin frekansından oldukça yüksektir.

Tablo 4.1. POU1F1 geninin 450 baz çiftlik bölgesinin *PstI* ve *AluI* enzim kesimleri ile gözlenen genotiplerin örneklem geneli ve işletme bazlı elde edilen genotip ve allel frekansları

İşletmeler	Genotip Frekansları						Allel Frekansları			
	<i>PstI</i>			<i>AluI</i>			<i>PstI</i>		<i>AluI</i>	
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	T	C	T	C
İE	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00
NK	0,94	0,06	0,00	0,92	0,08	0,00	0,97	0,03	0,96	0,04
RY	1,00	0,00	0,00	0,85	0,15	0,00	1,00	0,00	0,93	0,07
SA	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00
SH	0,94	0,06	0,00	0,77	0,23	0,00	0,97	0,03	0,89	0,11
VÇ	0,92	0,08	0,00	0,87	0,10	0,03	0,96	0,04	0,92	0,08
Genel	0,95	0,05	0,00	0,86	0,13	0,01	0,97	0,03	0,93	0,07

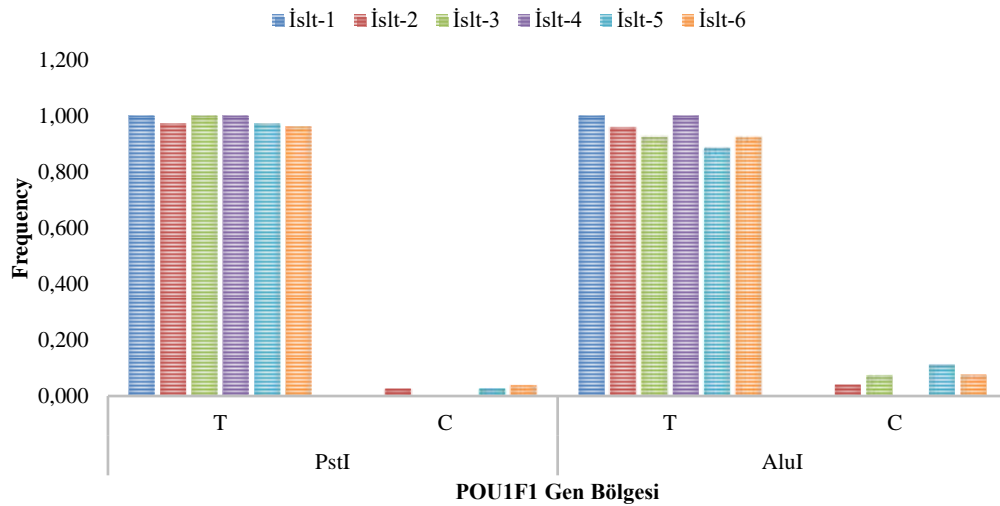
POU1F1 geninin incelenen bölgesi için tek tek işletmelere ve verilerin geneline ait gözlenen, beklenen heterozigotluk değerleri ve Hardy-Weinberg (H-W) dengesine yönelik ki-kare analiz sonuçları Tablo 4.2.'te yer almaktadır. Hem *PstI* hem de *AluI* için gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ya biribine eşit ya da yakın değerdedir. H-W dengesine uyum testine esas ki-kare test analiz değerleri düşük ve önemsizdir. Dolayısıyla tüm sürülerin ve örneklem genelinin Hardy-Weinberg dengesinde olduğu söylenebilir.

Tablo 4.2. İşletmeler ve örneklem geneli için POU1F1 geni *PstI* ve *AluI* enzim kesimi için gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile H-W dengesine ait ki-kare test sonuçları

İşletme	<i>PstI</i>					<i>AluI</i>								
	Na	Ne	Ho	He	H-W Dengesi		Na	Ne	Ho	He	H-W Dengesi			
					P	χ^2					P	χ^2		
İE	1,00	1,00	0,00	0,00	Monomorfik		1,00	1,00	0,00	0,00	Monomorfik			
NK	2,00	1,06	0,06	0,05	0,864	0,03	öd	2,00	1,09	0,08	0,08	0,794	0,068	öd
RY	1,00	1,00	0,00	0,00	Monomorfik		2,00	1,16	0,15	0,14	0,717	0,131	öd	
SA	1,00	1,00	0,00	0,00	Monomorfik		1,00	1,00	0,00	0,00	Monomorfik			
SH	2,00	1,06	0,06	0,06	0,862	0,030	öd	2,00	1,25	0,23	0,20	0,445	0,583	öd
VÇ	2,00	1,08	0,08	0,07	0,803	0,062	öd	2,00	1,17	0,10	0,14	0,083	3,009	öd
Genel	2,00	1,05	0,05	0,05	0,760	0,093	öd	2,00	1,16	0,13	0,13	0,727	0,122	öd

*Ho: gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk, öd: önemli değil($p>0.05$)

POU1F1 geninin hedef alınan 450 bç'lik bölgesinde *PstI* ve *AluI* enzim kesimine dayalı olarak farklı işletmelerdeki bireyler için tespit edilen genotiplerden hesaplanan allel frekanslarının işletmelere göre değişimi Şekil 4.1.'de grafiksel olarak gösterilmiştir. POU1F1 geni *PstI* ve *AluI* kesim bölgesi bakımından yetiştirici işletmeleri arasında allel frekans değişimi önemli bir farklılık sergilememektedir.



İslt-1:İE, İslt-2:NK, İslt-3:RY, İslt-4:SA, İslt-5:SH, İslt-6:VÇ

Şekil 4.1. POU1F1 geninin 450 bç'lik bölgesinde *PstI* ve *AluI* enzim kesimi ile belirlenen genotiplerden hesaplanan allel frekanslarının işletmelere göre değişimi

4.4. Oğlak Büyüme Özellikleri ve POU1F1 Genotiplerine Göre Değişimi

Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerini ortaya koymak için ele alınan doğum ağırlığı, 2 farklı dönem canlı ağırlığı ile bu iki dönemdeki ortalama günlük canlı ağırlık artışlarına ait ham verilerden elde edilen tanımlayıcı basit istatistikler Tablo 4.3.'te verilmiştir. Doğum ağırlığı 1,97 ile 5,32 kg arasında değişmekle birlikte ortalaması 3,25 kg'dır. Oğlakların ilk ve ikinci tartımdaki yaşlarının ortalaması sırasıyla 95,24 ve 172,73 gün olup bu değerler yaklaşık 3 ve 6 aya denk gelmektedir. 1. ve 2. tartımda oğlak canlı ağırlıklarının ortalaması sırasıyla 18,42 ve 27,80 kg'dır. İlk 3 ay (1. Dönem) ve sonraki 3 ayda (2. Dönem) oğlakların ortalama günlük canlı ağırlık artışları sırasıyla 164,22 ve 137,06 gramdır.

Tablo 4.3. Kıl keçisi oğlaklarının büyüme özelliklerine ait tanımlayıcı basit istatistikler

Değişken	N	Ortalama	St. Sapma	Min.	Maks.	VK(%)
Doğum Ağırlığı (kg)	138	3,25	0,796	1,97	5,32	24,49
1. Tartım Oğlak CA (kg)	138	18,42	5,121	6,65	31,35	27,80
1. Tartım Oğlak Yaşı (gün)	138	95,24	20,570	35,00	136,00	21,60
1. Dönem OGCAA (g)	138	164,22	55,510	55,23	297,36	33,80
2. Tartım Oğlak CA (kg)	138	27,80	7,433	14,10	46,30	26,74
2. Tartım Oğlak Yaşı (gün)	138	172,73	22,410	114,00	204,00	12,98
2. Dönem OGCAA (g)	138	137,06	34,840	66,95	209,13	25,42

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 Tablo 4.4'te özetlenmiştir.

Doğum ağırlığının genel ortalaması 2,92 kg bulunmuştur. İşletmelere göre ortalamalar 2,50 ile 3,71 kg arasında değişen çok önemli ($P<0,01$) fark sergilenmiştir. Doğum tipi bakımından 0,760 kg farkla tekizler çoğuzlara göre önemli bir fark ($P<0,01$) ortaya koymuşlardır. Cinsiyet faktörü de oğlak canlı ağırlığında erkekler lehinde 0,260 kg'lık önemli bir fark ($P<0,01$) şekillendirmiştir. Modelde kesikli faktör olarak yer alan POU1F1/*PstI* ve *AluI* genotiplerinin doğum ağırlığında oluşturduğu farklar ise önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Farklar istatistiki olarak önemli bulunmama ile birlikte *PstI* genotipleri bakımından TT genotipinin ortalaması (2,91 kg) TC genotipinin ortalamasından (2,93 kg) daha düşüktür. *AluI*

genotipleri bakımından CC genotipinin ortalaması (2,84 kg) diğer genotiplerin ortalamasından (TT ve TC için sırasıyla 3,03 ve 2,90 kg) belirgin derecede daha düşüktür.

Yaklaşık 3 aylık yaşa (ortalama 95,24 gün) denk gelen 1. tartımında oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 17,91 kg, doğumdan bu tartıma kadar geçen süreçteki ortalama günlük canlı ağırlık artışı (OGCAA) ise 156,70 g'dır. Hem doğum ağırlığı hem de OGCAA bakımından işletmeler arası farklar oldukça önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Aynı özellikler için cinsiyetler arası farklar da çok önemlidir ($P<0,01$). Doğum ağırlığı ve OGCAA bakımından hem *PstI* hem de *AluI* genotipleri oldukça benzer ortalamalar sergilemiştir ($P>0,05$). Sürekli değişken 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 ($P>0,05$). Sürekli değişken olan tartımdaki oğlak yaşının ise hem 1. Tartım oğlak canlı ağırlığı hem de OGCAA üzerine regresyonu çok önemli ($P<0,01$) bulunmuştur.

Tablo 4.4. Oğlak büyüme özelliklerine ait performans verilerinin etkili faktörlere göre varyans analizi ile elde edilen en küçük kareler ortalama ve standart hataları

Faktör	Doğum Ağırlığı (kg)	N	1. Tartım CA (kg)	1. OGCAA (g)	N	2. Tartım CA (kg)	2. OGCAA (g)
İşletme	P=0,000		P=0,000	P=0,000		P=0,000	P=0,000
İE	2,56±0,314	5	13,85±2,151	138,69±23,212	5	19,11±2,925	81,26±16,791
NK	2,84±0,220	36	13,45±1,410	92,63±15,218	19	23,07±2,198	106,46±12,618
RY	2,54±0,241	20	18,42±1,592	153,96±17,184	20	27,63±2,452	134,58±14,076
SA	3,37±0,365	3	22,08±2,430	203,34±26,228	3	28,26±3,166	137,57±18,178
SH	3,71±0,219	34	18,52±1,427	157,92±15,397	16	31,28±2,574	153,63±14,779
VÇ	2,50±0,205	39	21,15±1,367	193,67±14,755	14	29,83±2,031	147,95±11,659
Doğum Tipi	P=0,000		P=0,895	P=0,49		P=0,229	P=0,190
1	3,30±0,211	114	17,86±1,369	159,96±14,777	66	27,46±1,971	132,73±11,316
2	2,54±0,237	23	17,97±1,589	153,44±17,148	11	25,6±2,509	121,08±14,406
Cinsiyet	P=0,007		P=0,001	P=0,005		P=0,000	P=0,000
Dişi	2,79±0,220	72	16,87±1,457	146,82±15,729	52	22,54±2,261	104,09±12,978
Erkek	3,05±0,223	65	18,96±1,448	166,58±15,629	25	30,51±2,185	149,72±12,545
Genotip (PstI)	P=0,898		P=0,452	P=0,236		P=0,523	P=0,425
TT	2,91±0,196	130	18,40±1,304	164,98±1,076	74	27,33±1,688	132,65± 9,692
TC	2,93±0,275	7	17,43±1,772	148,42±19,125	3	25,73±3,044	121,16±17,476
Genotip (AluI)	P=0,602		P=0,935	P=0,93		P=0,881	P=0,831
TT	3,03±0,125	118	18,20±0,815	161,29± 8,796	67	27,27±1,487	132,34± 8,537
TC	2,90±0,171	18	17,92±1,124	159,48±12,132	9	26,74±1,944	129,38±11,161
CC	2,84±0,536	1	17,62±3,450	149,34±37,239	1	25,57±4,590	119,00±26,352
Reg. Linear			P=0,001	P=0,134		P=0,641	P=0,485
Doğum Ağırlığı			1,893±0,577	9,348± 6,224		0,467±0,998	-4,021± 5,73
			P=0,000	P=0,000		P=0,059	P=0,013
Yaş			0,066±0,017	-1,479± 0,179		0,066±0,034	-0,500±0,196
Genel	2,92±0,216	137	17,91±1,418	156,70±15,300	77	26,53±2,122	126,91±12,183

(CA: Canlı ağırlık, OGCAA: Ortalama Günlük Canlı Ağırlık Artışı)

Yaklaşık 6 aylık yaşa (ortalama 172,73 gün) denk gelen 2. tartımında oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 26,53 kg, 1. Tartımdan bu tartıma kadar geçen süreçteki OGCAA ise 126,91 g'dır. Oğlakların bu dönemdeki OGCAA ilk döneme göre daha düşüktür. Her iki büyüme özelliği bakımından da hem işletme ortalamaları arası hem de cinsiyet ortalamaları arası farklar istatistiki olarak önemlidir ($P<0,01$). Bu dönemde hem *PstI* hem de *AluI* genotipleri için canlı ağırlık ve OGCAA ortalamaları birbirine oldukça benzer olup aralarındaki farklar önemsizdir ($P>0,05$). Doğum tipi bakımından tekizler lehine dikkat çekici bir avantaj sözkonusu iken ortalamalar arası fark önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Modeldeki sürekli değişken olarak yer alan doğum ağırlığının hem 2. Tartım oğlak canlı ağırlığı hem de bu dönemdeki OGCAA üzerine regresyonu önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Modeldeki diğer sürekli değişken olan tartımdaki oğlak yaşının ise 2. Tartım oğlak canlı ağırlığı önemsiz iken ($P>0,05$), OGCAA üzerine regresyonu önemli ($P<0,05$) bulunmuştur.

4. TARTIŞMA

PstI ve *AluI* enzim kesimine dayalı olarak POU1F1 geni polimorfizmi çalışmalarından elde edilen genotip ve gen frekansları “2. GENEL BİLGİLER” bölümünde yer alan Tablo 2.1.’de özetlenmiştir. Tabloda özetlenen çalışmalar Çin, Endonazya, Moğolistan ve Türkiye’de bulunan ırklara yöneliktir. Türkiye’de *PstI* enzim kesimine dayalı yapılan tek çalışmada (Ouchar, 2019) Kıl, Ankara, Honamlı, Helep, Saanen ve Kilis keçilerinde tanımlama yapılmış, ırkların hiçbirinde CC genotipine rastlanmamış, TT genotipinin frekansı ise TC’ye göre Saanen ırkında yüksek, diğer ırklarda ise çok yüksek olarak gözlenmiştir. Çalışmamızda ele aldığımız Kıl keçisi için karşılaştırma yapılacak olursa benzer şekilde CC genotipi gözlenmemiştir. TT ve TC genotiplerine yönelik frekanslar çalışmamızda sırasıyla 0,95 ve 0,05 iken diğer çalışmada (Ouchar, 2019) 0,808 ve 0,192’dir. Aydın ve Denizli illerindeki Kıl keçilerinde TT genotipinin frekansı daha yüksek olup sabitlenmeye yakındır. Tablo 2.1.’de görüleceği üzere sadece Çin’deki Guanzhong keçi ırkında TT genotipinin frekansı TC genotipinden düşük (Zhou ve ark., 2016), diğer tüm ırklarda ise yüksektir. Hatta Çin’de bulunan Beyaz Kaşmir keçilerinde TT genotipi sabitlenmiştir (Zhu ve ark., 2019).

AluI enzim kesimine dayalı genotipleme ise Çin’deki Beyaz Kaşmir ve Guanzhong keçilerinde ve Türkiye’deki Kilis ve Saanen keçilerinde yapılmıştır (Tablo 2.1). Kıl keçilerinde ise yapılan çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda TT, TC ve CC genotipleri için elde edilen sırasıyla 0,86, 0,13 ve 0,01 frekanslarıyla karşılaştırıldığında TT genotipinin frekansı Guanzhong keçileri için elde edilen frekanstan düşük, diğer keçi ırkları (Beyaz Kaşmir, Saanen, Kilis) için elde edilen frekanslardan yüksektir. Guanzhong dışındaki tüm ırklarda CC genotipli bireylere kısıtlı sayıda da olsa rastlanmıştır.

Gündüz ve Biçer (2020) tarafından Kilis keçilerinde POU1F1/*AluI* gen polimorfizmi tanımlanarak süt verim özellikleri ile ilişkisi araştırılmış, laktasyon süt verimi, laktasyon süresi ve ortalama günlük süt verimi üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Buna karşın büyüme özelliklerinin genotiplere göre değişimi incelenmemiştir.

Işık ve Bilgen (2019) Saanen Keçi ırkında yürüttükleri çalışmada TT, TC ve CC genotip frekansları *PstI* lokusunda sırasıyla 0,648, 0,315 ve 0,037, *AluI* lokusunda ise 0,546, 0,315 ve 0,139 olarak saptamışlardır.

POU1F1/*AluI* bakımından TC ve CC genotiplilerin TT genotiplilere göre laktasyon süt verimlerinin ve doğumda oğlak sayılarının daha yüksek olduğu, POU1F1/*PstI* bakımından ise CC genotipli bireylerin doğum ağırlıklarının yüksek olduğu bildirilmiş, POU1F1 geninin üreme, büyüme, süt verim ve içeriği gibi ekonomik özellikler için moleküler markör olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır. Kıl keçilerinde yaptığımız çalışmada her iki enzim kesimine dayalı elde edilen genotip ortalamaları doğum ağırlığı bakımından önemli fark sergilememiştir. *PstI* bakımından CC genotipi gözlenmediğinden Saanen ırkıyla mukayese şansı bulunmamaktadır. Ancak TC genotipli bireylerin ortalaması çok az farkla TT genotiplilerden yüksektir. *AluI* bakımından ise T allelinin yarattığı fark ilave araştırmalara konu edilebilecek düzeydedir.

Zhu ve ark. (2019) Çin'deki Beyaz Kaşmir keçi ırkında yaptıkları çalışmada, POU1F1/*PstI* genotipi ile süt performansı üzerine anlamlı bir ilişki bulmamış olmalarına karşın POU1F1/*AluI* genotipi ile önemli bir ilişki bulmuşlardır. Büyüme özellikleri ise değerlendirilmeye alınmamıştır.

Zhou ve ark (2016) yaptıkları çalışmada, Guanzhong süt keçilerinde POU1F1/*PstI* ve POU1F1/*AluI* lokuslarının polimorfizmleri tespit edilmiş ve süt performansı ile ilişkileri değerlendirilmiştir. Guanzhong süt keçilerinde POU1F1/*PstI* lokusu ile süt özellikleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ($p>0,05$), POU1F1/*AluI* lokusuna ait genotiplerle ise önemli fark yarattığını bildirerek, POU1F1/*AluI* lokusunun süt performansı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu, TT genotipinin süt yağı içeriği veya asitliği için etkili bir DNA belirteci olabileceği, markör destekli seleksiyon (MAS) ile keçilerin ıslahına yardımcı olacağı belirtilmiştir. Bu çalışma da büyüme özellikleri incelenmemiştir.

Lan ve ark. (2009) tarafından Moğolistan'da 847 baş Beyaz Kaşmir keçilerinde yapılan çalışmada, T ve C allel frekansları sırası ile 0,959 ve 0,041 olarak bulunmuş, *PstI* polimorfizmi ile kaşmir verimleri arası önemli ilişki olduğu bildirmiştir. Büyüme özellikleri ile ilişkilendirme ele alınmamıştır.

Lan ve ark. (2007) tarafından Çin'deki 9 yeri keçi ırkında yapılan çalışmada POU1F1/*AluI* polimorfizmi bakımından sadece 2 ırkta CC genotipine rastlanmış, TT ve TC genotipli bireylerin ortalamalarının karşılaştırılması sonucunda süt verimi bakımından TC genotipli bireylerin TT genotiplilere göre önemli üstünlük sergilediği (593,30 kg'a karşın 503,04 kg, $p<0,05$), doğum ağırlığı bakımından ise tersine bir durumla TT (3,28 kg) genotiplilerin TC (3,00 kg) genotiplilerden üstün olduğu ($p<0,05$) bildirilmiştir. İncelenen diğer performans

özellikleri bakımından ise genotipler arası farklar önemli bulunmamıştır. Doğum ağırlığı bakımından Kıl keçilerinde de TT genotipinin ortalaması TC'den yüksektir. Bu sonuç Lan ve ark. (2007) tarafından bildirilen sonuçla paraleldir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Aydın ve Denizli illerinde bulunan 6 Kıl keçisi sürüsünde doğan oğlaklarda yürütülen bu çalışma kapsamında, PCR-RFLP tekniği kullanılarak POU1F1 geninin 450 bç bölgesindeki genetik polimorfizm iki farklı restriksiyon enzim kesimine dayalı tanımlanmakla birlikte POU1F1 genotiplerine göre oğlak büyüme özelliklerinin değişimi incelenmiştir. Daha önce yapılan farklı bir çalışma (Ouchar, 2019) kapsamında Kıl keçilerinde sadece *PstI* enzim kesimine dayalı polimorfizm tanımlanmış olmasına karşın, bu çalışmamızda *PstI* enzim kesimine dayalı tanımlama tekrarlanmakla birlikte bu ırkta ilk kez ilgili gen bölgesinde *AluI* enzim kesimine dayalı polimorfizm tanımlanmış, ayrıca her iki enzim kesimine dayalı genotipler ile oğlak büyüme özellikleri ilk kez ilişkilendirilmiştir. Milyonlarca hayvan sayısı ile ülkemiz sathında yetiştiriciliği yapılan başat keçi ırkımızda ilk kez yapılmış özgünlüğünü taşıyan bu çalışma ile elde edilen sonuçları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür:

- Spesifik primer çiftleri kullanılarak yapılan PCR ile POU1F1 gen bölgesinin 450 bç uzunluğundaki bölgesi 150 DNA örneğinin 138'inde sorunsuzca çoğaltılmıştır.
- PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda; *PstI* enzim kesimi ile 450, 216, 124 ve 110 bç uzunluğunda fragmanlar (jelde bantlar), *AluI* enzim kesimi ile ise 450, 340 ve 80 bç uzunluğunda fragmanlar elde edilmiştir.
- *PstI* enzim kesimi sonucunda olası TT, TC ve CC genotiplerinden sadece ilk ikisine rastlanmış, genotip frekansları sırasıyla 0,95, 0,05 ve 0,00 olarak belirlenmiştir. T ve C allellerinin frekansları ise 0,97 ve 0,03 olarak hesaplanmıştır.
- *AluI* enzim kesimi sonucunda ise olası TT, TC ve CC genotiplerinin tamamı gözlenmiş, bu genotiplere ait frekanslar sırasıyla 0,86, 0,13 ve 0,01 olarak belirlenmiştir. Bunun sonucunda T ve C allelleri için gen frekansları sırasıyla 0,93 ve 0,07 olarak hesaplanmıştır.
- Her iki enzim kesimi bakımından da TT genotipi oldukça yüksek frekansta gözlenmiştir. Heterozigot bireylerin (TC) nispeti düşüktür. Homozigot CC genotipi ise *AluI* enzim kesiminde nadir olarak sadece bir yetiştirici sürüsünde gözlenmiş, *PstI* enzim kesiminde ise gözlenmemiştir. Buna bağlı olarak her iki enzim kesimi bakımından da T alleli C allele oranla çok yüksek frekansa sahip olmuştur. Bu

sonuçlar, Dünya'daki incelenen diğer keçi ırkları için elde edilen değerlerle (Tablo 2.1) büyük paralellik ortaya koymaktadır.

- İşletme verilerinin bir araya getirilmesinden oluşan genel veriler için her iki enzim kesimi açısından da gözlenen ve beklenen genotip sayılarının ki-kare analizine dayalı uyum testi sonucunda popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

- Oğlak büyüme özelliklerini belirlemek ve genotiplerle ilişkilendirmek için doğum ağırlığı, iki farklı dönem (yaklaşık 3 ve 6 aylık yaş) canlı ağırlığı, doğum ile bu iki tartım dönemi arası ortalama günlük canlı ağırlık artışları incelenmiştir.

- Genel ortalaması 2,92 kg olan doğum ağırlığı bakımından POU1F1 geni incelenen bölgesinde *PstI* ve *AluI* enzim kesimi ile elde edilen genotiplerin ortalamaları arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamaktadır. İstatistiki olarak önemli çıkmamakla birlikte *AluI* bakımından TC genotipine göre TT genotipinin doğum ağırlığında ortaya koyduğu 130 gramlık farkın etkisine yönelik daha geniş materyalde çalışma yürütülmesi anlamlı sonuçlar doğurma ihtimaline sahiptir.

- Yaklaşık 3 aylık yaşa (ortalama 95,24 gün) denk gelen 1. tartımında oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 17,91 kg, doğumdan bu tartıma kadar geçen süreçteki ortalama günlük canlı ağırlık artışı (OGCAA) ise 156,70 g'dır. Her iki özellik bakımından da *PstI* ve *AluI* için elde edilen genotiplerin ortalamaları arası fark nemsizken TT genotipinin ortaya koyduğu yüksek ortalamaların geniş materyale dayalı ilave araştırmalarla incelenmesinde fayda vardır.

- Yaklaşık 6 aylık yaşa (ortalama 172,73 gün) denk gelen 2. tartımında ise oğlak canlı ağırlığının genel ortalaması 26,53 kg, 1. tartımdan bu tartıma kadar geçen süreçteki OGCAA ise 126,91 g olarak tespit edilmiştir. Bu dönemde de her iki özellik bakımından genotip ortalamaları arası farklar istatistiki anlamda önemli bulunmazken T alleli taşıyan genotiplerin ortaya koyduğu daha yüksek ortalamalar ek araştırmaların yapılmasına işaret etmektedir.

Ülkemizde de keçi yetiştiriciliği önemli hayvancılık dallarından biri olmakla birlikte keçiler et, süt ve kıl üretimi anlamında önemli hayvanlardır. Ülkemizde keçi popülasyonun çoğunluğunu oluşturan Kıl keçisi birçok insana istihdam oluşturması yanında özellikle değeri düşük bitkisel materyali etkin bir şekilde hayvansal ürüne çevirmesi anlamında da önemlidir. Nüfusun ve birey başına tüketimin artması nedeniyle evre şartlarının ve hayvan genotiplerinin

iyileştirilmesi yoluyla Kıl keçilerinin verimlerinin artırılması önemli bir ihtiyaç olarak karşımızda durmaktadır. Fenotipik verilere dayalı ıslah çalışmaları yanında genomik yaklaşımların da devreye alınmasında fayda vardır. Bu bağlamda en pratik yaklaşımlardan biri bu verimler bakımından aday genlerin popülasyonda araştırılması ve önemli ilişki yakalandığında markör destekli seleksiyon çalışmalarının devreye konmasıdır. GH, PRL ve TSH β gibi genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı bilinen POU1F1 geninin çeşitli verim özellikleri (büyüme, üreme, süt verim ve bileşenleri gibi) için markör destekli seleksiyon çalışmalarında potansiyel bir aday gen olduğu düşünülmektedir.

Başta Kıl keçisi olmak üzere ülkemizde yetiştirilen önemli sayısal büyüklüğe sahip keçi ırklarında POU1F1 ve benzeri genlerin polimorfizminin tanımlanması, bundan daha da önemlisi olası genotiplerin verimler üzerine etkilerinin ortaya konması önemlidir. Bu çalışma kapsamında da Kıl keçilerinde POU1F1 geni *Pst*I ve *Alu*I polimorfizmi tanımlanmış ve büyüme özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. İncelenen büyüme özellikleri bakımından genotipler arası farklar istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte T alleleline sahip genotip ortalamalarının yüksek olması ilave araştırmaların yapılmasına işaret etmektedir. Bilindiği üzere verim özellikleri poligenik kalıtım tarzına sahip olup, etkili genlerin etki düzeyleri genellikle küçüktür. Dolayısıyla bu tür tür genlerin etkilerini sağlıklı tanımlayabilmek için çalışmaların çok daha yüksek sayıda hayvanda gerçekleştirilmesinde yarar vardır. Ayrıca incelenen genlerin dizilimindeki olası tüm DNA farklılıklarının tanımlanmasında ve ilgili verim özellikleri ile ilişkilerine bakılmasında fayda vardır. Bu açıdan da bu genin bütününe DNA diziliminin çıkartılması daha ayrıntılı analizlere olanak sağlayacaktır. Transkripsiyon faktörü olarak önemi göz önüne alındığında, POU1F1 geninde polimorfizmlerin ortaya çıkmasından sonra genin mRNA ekspresyon seviyesini belirlemek, verim gibi nicel özellikleri etkileyen genler üzerindeki dolaylı etkilerini ortaya çıkarmada faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmadi, M. M., Mirzaei, A., Sharifiyazdi, H., Hajibemani, A., & Ghasrodashti, A. R. (2015). Pituitary-specific transcription factor 1 (Pit-1) polymorphism and its association on milk production and some reproductive performance in Holstein dairy cows. *Revue de Medecine Veterinaire*, 166(5-6), 127-131.
- Ahn, S., & Tanksley, S. D. (1993). Comparative linkage maps of the rice and maize genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7980-7984.
- Akçapınar, H., & Özbeyaz, C. (1999). Hayvan yetiştiriciliği temel bilgileri. *Kariyer Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara*, 0-7.
- Akers, R. M. (2006). Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *Journal of dairy science*, 89(4), 1222-1234.
- Anonim, 2005c. Tür ve Irklarına Göre Hayvan Sayısı. <http://www.tuik.gov.tr>
- Arber, W., & Linn, S. (1969). DNA modification and restriction. *Annual review of biochemistry*, 38(1), 467-500.
- Awemu, E. M., Nwakalor, L. N., & Abubakar, B. Y. (1999). Environmental influences on preweaning mortality and reproductive performance of Red Sokoto does. *Small Ruminant Research*, 34(2), 161-165.
- Bark, O. H., & Havey, M. J. (1995). Similarities and relationships among populations of the bulb onion as estimated by nuclear RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(3), 407-414.
- Bastos, E., Santos, I., Parmentier, I., Castrillo, J. L., Cravador, A., Guedes-Pinto, H., & Renaville, R. (2006). Ovis aries POU1F1 gene: cloning, characterization and polymorphism analysis. *Genetica*, 126(3), 303-314.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314.

- Brunsch, C., Sternstein, I., Reinecke, P., & Bieniek, J. (2002). Analysis of associations of PIT1 genotypes with growth, meat quality and carcass composition traits in pigs. *Journal of Applied Genetics*, 43(1), 85-92.
- Cemal, İ., Yılmaz, O., Karaca, O., Binbaş, P. and Ata, N., 2013. Analysis of genetic diversity in indigenous Çine Çapari sheep under conservation by microsatellite markers. *Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine*, 19 (3): 383-390.
- Cohen, L. E., Wondisford, F. E., & Radovick, S. (1996). Role of Pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 25(3), 523-540.
- Daga, C., Paludo, M., Luridiana, S., Mura, M. C., Bodano, S., Pazzola, M., ... & Carcangiu, V. (2013). Identification of novel SNPs in the Sarda breed goats POU1F1 gene and their association with milk productive performance. *Molecular biology reports*, 40(4), 2829-2835.
- Dagong, M. I. A., Rahim, L., Bugiwati, S. R. A., & Prahesti, K. I. (2016). Genetic Polymorphisms of Pituitary Specific Transcription Factor-1 (Pit-1) Gene from Indonesian Local Goat Population Reared in South Sulawesi Province. *Advances in Environmental Biology*, 10(5), 121-125.
- Dellal, L., Erkuç, A., Eliçin, A., & Dellal, G. (1997). Türkiye'de kıl keçisi yetiştiriciliği ve ekonomik önemi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 7(1), 31-34.
- Erlich, H. A., Gelfand, D., & Sninsky, J. J. (1991). Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science*, 252(5013), 1643-1651.
- Ertuğrul, M., Akman, N., Dellal, G., & Goncagül, T. (2000). Hayvan gen kaynaklarının korunması ve Türkiye hayvan gen kaynakları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi*, 1, 285-300.
- Feng, T., Chu, M. X., Cao, G. L., Tang, Q. Q., Di, R., Fang, L., & Li, N. (2012). Polymorphisms of caprine POU1F1 gene and their association with litter size in Jining Grey goats. *Molecular biology reports*, 39(4), 4029-4038.
- Gündüz, Z., & Biçer, O. (2020). Kilis Keçilerinde POU1F1, PRLR, β -LG, GH Gen Polimorfizmleri ve Süt Verim Özellikleri ile İlişkisi. doktora tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Hadidi, A., Levy, L., & Podleckis, E. V. (1995). Polymerase chain reaction technology in plant

- pathology. *Molecular methods in plant pathology*, 167-187.
- Harrison, S. C. (1991). A structural taxonomy of DNA-binding domains. *Nature*, 353(6346), 715-719.
- Herr, W., Sturm, R. A., Clerc, R. G., Corcoran, L. M., Baltimore, D., Sharp, P. A., ... & Ruvkun, G. (1988). The POU domain: a large conserved region in the mammalian pit-1, oct-1, oct-2, and *Caenorhabditis elegans* unc-86 gene products. *Genes Dev*, 2(12A), 1513-6.
- Holland, P. W., Booth, H. A. F., & Bruford, E. A. (2007). Classification and nomenclature of all human homeobox genes. *BMC biology*, 5(1), 1-28.
- Howe C.J., Ward E.S., (1989). Nucleic acids sequencing. IRL Pres at Oxford University Pres, Oxford, page 53-114.
- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., & White, T. J. (Eds.). (2012). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic press. 3-12.
- Işık, R., Bilgen, G. (2019). Associations between genetic variants of the POU1F1 gene and production traits in Saanen goats. *Archives Animal Breeding*, 62, 249–255.
- Jalil-Sarghale, A., Moradi Shahrababak, M., Moradi Sharbabak, H., Sadeghi, M., & Mura, M. C. (2014). Association of pituitary specific transcription factor-1 (POU1F1) gene polymorphism with growth and biometric traits and blood metabolites in Iranian Zel and Lori-Bakhtiari sheep. *Molecular biology reports*, 41(9), 5787-5792.
- Karaca, O. ve Cemal, İ., 1998. Batı Anadolu koyunculüğunda genetik kaynakların korunma ve kullanımı. Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi, s. 573-582, Aydın.
- Karaca, O., 1998. Ekstansif yetiştirme koşullarında yöresel sentetik koyun tipleri ve sakız ırkı koyunlarda döl verimine ilişkin kimi fenotipik ve genetic parameter tahminleri. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Aydın.
- Karaca, O., Cemal, İ. ve Altın, T., 2002. Çine tipi koyunlarda batın genişliği ve kuzu yaşama gücüne ilişkin parameter tahminleri. III. Ulusal Zootekni ve Bilim Kongresi, Ankara.
- Karaca, O., Cemal, İ., Yılmaz, O., Yaralı, E., İnce, D. ve Ata, N., 2013. Türkiye koyunculüğunda ıslah planlaması önerileri. 8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, s. 235, Çanakkale.
- Karin, M. (1990). Too many transcription factors: positive and negative interactions. *The New Biologist*, 2(2), 126-131.

- Kessler, C., & Manta, V. (1990). Specificity of restriction endonucleases and DNA modification methyltransferases—a review (edition 3). *Gene*, 92(1-2), 1-240.
- Kim, G. W., Yoo, J. Y., & Kim, H. Y. (2014). Association of genotype of POU1F1 intron 1 with carcass characteristics in crossbred pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, 56(1), 1-6.
- Klug, W.S. and Cummings, M.R., 2011, Genetik Kavramlar, 8. Basım, (Çev. C. Öner) Palme Yayıncılık, Ankara, 677 s.
- Kobayashi, I. (2001). Behavior of restriction–modification systems as selfish mobile elements and their impact on genome evolution. *Nucleic acids research*, 29(18), 3742-3756.
- Krüger, D. H., & Bickle, T. A. (1983). Bacteriophage survival: multiple mechanisms for avoiding the deoxyribonucleic acid restriction systems of their hosts. *Microbiological reviews*, 47(3), 345-360.
- Kumar, S., Vihan, V. S., & Deoghare, P. R. (2003). Economic implication of diseases in goats in India with reference to implementation of a health plan calendar. *Small Ruminant Research*, 47(2), 159-164.
- Lan, X. Y., Li, M. J., Chen, H., Zhang, L. Z., Jing, Y. J., Wei, T. B., ... & Lei, C. Z. (2009b). Analysis of caprine pituitary specific transcription factor-1 gene polymorphism in indigenous Chinese goats. *Molecular biology reports*, 36(4), 705-709.
- Lan, X. Y., Pan, C. Y., Chen, H., Lei, C. Z., Li, F. Y., Zhang, H. Y., & Ni, Y. S. (2009a). Association of novel SNP of goat prolactin (PRL) gene with cashmere traits. *Journal of Applied Genetics*, 50(1), 51-54.
- Lan, X. Y., Pan, C. Y., Chen, H., Zhang, C. L., Li, J. Y., Zhao, M., ... & Zhang, L. (2007). An AluI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POU1F1 locus and its association with production traits. *Small Ruminant Research*, 73(1-3), 8-12.
- Lan, X. Y., Pan, C. Y., Li, J. Y., Guo, Y. W., Hu, S., Wang, J., ... & Chen, H. (2009d). Twelve novel SNPs of the goat POU1F1 gene and their associations with cashmere traits. *Small Ruminant Research*, 85(2-3), 116-121.
- Lan, X. Y., Shu, J. H., Chen, H., Pan, C. Y., Lei, C. Z., Wang, X., ... & Zhang, Y. B. (2009c). A PstI polymorphism at 3' UTR of goat POU1F1 gene and its effect on cashmere production. *Molecular biology reports*, 36(6), 1371-1374.

- Lan, XY, Shu, JH, Chen, H., Pan, CY, Lei, CZ, Wang, X., ... & Zhang, YB (2009). A PstI polymorphism in the 3' UTR of the goat POU1F1 gene and its effect on cashmere production. *Molecular system of systems*, 36 (6), 1371-1374.
- Latchman, D. S. (1997). Transcription factors: an overview. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(12), 1305-1312.
- Lee, T. I., & Young, R. A. (2000). Transcription of eukaryotic protein-coding genes. *Annual review of genetics*, 34(1), 77-137.
- Li S, Crenshaw EB III, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG (1990) Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene Pit-1. *Nature* 347:528–533
- Lin, M., Qin, Q., Yang, Q., Zhang, M., Zhao, H., Pan, C., ... & Lan, X. (2017). Associations of six SNPs of POU1F1-PROP1-PITX1-SIX3 pathway genes with growth traits in two Chinese indigenous goat breeds. *Annals of Animal Science*, 17(2), 399.
- Lowe, A.J., Hinotte, O. and Guarino, L., (1996). Standardization of Molecular Genetic Techniques for The Characterization of Germplasm Collections: The Cause of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107, 50-54.
- Marai, I. F. M., Abou-Fandoud, E. I., Daader, A. H., & Abu-Ella, A. A. (2002). Reproductive doe traits of the Nubian (Zaraibi) goats in Egypt. *Small Ruminant Research*, 46(2-3), 201-205.
- McPherson MJ, Moller SG, (2000), The Basics. New York: *Cromwell Press*, 1-45 pp.
- Mullis, K. B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*, 262(4), 56-65.
- Mura, M. C., Daga, C., Paludo, M., Luridiana, S., Pazzola, M., Bodano, S., ... & Carcangiu, V. (2012). Analysis of polymorphism within POU1F1 gene in relation to milk production traits in dairy Sarda sheep breed. *Molecular biology reports*, 39(6), 6975-6979.
- NCBI, 2016, National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5449> (Erişim tarihi: 24 Nisan 2022).
- Nfisslein-Volhardt, C., & Wieschaus, E. (1980). Segmentation in Drosophila: Mutations affecting segment number and polarity. *Nature*, 287, 795-801.

- Nikolov, D. B., & Burley, S. K. (1997). RNA polymerase II transcription initiation: a structural view. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(1), 15-22.
- Ortega-Jimenez, E., Alexandre, G., Boval, M., Archimède, H., Mahieu, M., & Morand-Fehr, P. (2005). Intake and milk production of suckling Creole goats reared at pasture in humid tropics according to the post-grazing residue management. *Small Ruminant Research*, 59(2-3), 217-227.
- Ouchar, M. A. A. 2019. Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Keçi Irklarında Büyüme Hormonu Geni (GH-1), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF-1) ve Pitüiter Spesifik Transkripsiyon Faktörü-1 (PİT-1) Genleri Polimorfizmleri. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Ozmen, O., Kul, S., & Unal, E. O. (2014). Polymorphism of sheep POU1F1 gene exon 6 and 3'UTR region and their association with milk production traits. *Iranian journal of veterinary research*, 15(4), 331.
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295.
- Pingoud, A., Alves, J., & Geiger, R. (1993). Restriction enzymes. In *Enzymes of Molecular Biology* (pp. 107-200). Humana Press.
- Rafalski, J. A., Vogel, J. M., Morgante, M., Powell, W., Andre, C., & Tingey, S. V. (1996). Generating and using DNA markers in plants. In *Nonmammalian genomic analysis* (pp. 75-134). Academic Press.
- Ridout, C. J., Donini, P., Ridout, C. J., & Donini, P. (1999). Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science*, 4(2), 76-79.
- Roberts, R. J., & Murray, K. (1976). Restriction endonuclease. *CRC critical reviews in biochemistry*, 4(2), 123-164.
- Roeder, R. G. (1996). The role of general initiation factors in transcription by RNA polymerase II. *Trends in biochemical sciences*, 21(9), 327-335.
- Sadeghi, M., Jalil-Sarghale, A. L. I., & Moradi-Shahrbabak, M. (2014). Associations of POU1F1 gene polymorphisms and protein structure changes with growth traits and blood metabolites in two Iranian sheep breeds. *Journal of genetics*, 93(3), 831-835.
- Saiki, R. K., S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Arnheim.

1985. Enzymatic amplification of B-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230:1350-1354.
- Sambrook J., Russell D.W., 2001. Molecular cloning, A laboratory manual. Third edition, Volume 2, chapter 8, New York.
- Selvaggi, M., & Dario, C. (2011). Analysis of two Pit-1 gene polymorphisms: Single nucleotide polymorphisms (SNPs) distribution patterns in Podolica cattle breed. *African Journal of Biotechnology*, 10(55), 11360-11364.
- Seong, J., Oh, J. D., Cheong, I. C., Lee, K. W., Lee, H. K., Suh, D. S., ... & Kong, H. S. (2011). Association between polymorphisms of Myf5 and POU1F1 genes with growth and carcass traits in Hanwoo (Korean cattle). *Genes & Genomics*, 33(4), 425-430.
- Staub, J. E., Serquen, F. C., & Gupta, M. (1996). Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, 31(5), 729-741.
- Sun, H. S., Anderson, L. L., Yu, T. P., Kim, K. S., Klindt, J., & Tuggle, C. K. (2002). Neonatal Meishan pigs show POU1F1 genotype effects on plasma GH and PRL concentration. *Animal Reproduction Science*, 69(3-4), 223-237.
- Supakorn, C. (2009). The important candidate genes in goats—a review. *Walailak Journal of Science and Technology*, 6(1), 17-36.
- Svennersten-Sjaunja, K., & Olsson, K. (2005). Endocrinology of milk production. *Domestic animal endocrinology*, 29(2), 241-258.
- Şahin, F., Çiftçi, M., & Pirim, İ. (2000). Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR). II. *Uygulamalı moleküler biyoloji teknikleri kurs notları. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi.*
- ŞİMŞEK, Ü. G., & BAYRAKTAR, M. (2006). Kıl keçisi ve Saanen x Kıl keçisi (F1) melezlerine ait büyüme ve yaşama gücü özelliklerinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 20(3), 229-238.
- Tanksley, S. D., Ganal, M. W., Prince, J. P., De Vicente, M. C., Bonierbale, M. W., Broun, P., ... & Martin, G. (1992). High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, 132(4), 1141-1160.
- Tatsumi, K. and Amino, N., 1999, PIT1 Abnormality. *Growth Horm IGF Research*, 9, 18-22 pp.

- Tölü C, Savaş T, Yurtman İ Y (2009) Türk Saanen keçilerinde canlı ağırlık ve değişimi üzerinde değerlendirmeler. *Hayvansal Üretim* 50: 9-17.
- Tuggle, C. K., & Trenkle, A. (1996). Control of growth hormone synthesis. *Domestic Animal Endocrinology*, 13(1), 1-33.
- Uyguner, Z.O., 2015, Hipofizer boy kısalığında genetik, I. Ege Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu, 25-27 Şubat, İzmir.
- W.S. and Cummings, M.R., 2011, Genetik Kavramlar, 8. Basım, (Çev. C. Öner) Palme Yayıncılık, Ankara, 677 s
- Wang, J., Li, G., Elzo, M. A., Yan, L., Chen, S., Jia, X., & Lai, S. (2015). A novel single nucleotide polymorphism of the POU1F1 gene associated with meat quality traits in rabbits. *Annals of Animal Science*, 15(3), 611-620.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531-6535.
- Woollard J, Tuggle CK, Ponce de Leon FA (2000) Rapid communication: localization of POU1F1 to bovine, ovine, and caprine 1q21–22. *J Anim Sci* 78:242–243
- Woollard, J., Schmitz, C. B., Freeman, A. E., & Tuggle, C. K. (1994). Rapid communication: HinfI polymorphism at the bovine Pit-1 locus. *Journal of animal science*, 72(12), 3267-3267.
- Yan, L. J., Fang, X. T., Liu, Y., Zhang, C. L., Liu, X. X., Zhao, J., ... & Chen, H. (2013). Effects of single and combined genotypes of MC4R and POU1F1 genes on two production traits in Langshan chicken. *Molecular biology reports*, 40(7), 4645-4650.
- Yanık, B., 2012, Hücre ve Moleküler Biyoloji, Nobel Tıp Yayınevi, Çeviri.(Nalini Chander, Susan Viselli), 453 s.
- Zeder, M. A., & Hesse, B. (2000). The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros mountains 10, 000 years ago. *Science*, 287(5461), 2254-2257.
- Zhou, F., Yang, Q., Lei, C., Chen, H., & Lan, X. (2016). Guanzhong süt keçilerinde POU1F1, PROP1, IGFBP3 genlerinin genetik varyantları ile süt performansı arasındaki ilişki. *Küçük Ruminant Araştırmaları*, 140, 40-45.

Zhu, H., Zhang, Y., Bai, Y., Yang, H., Yan, H., Liu, J., ... & Qu, L. (2019). Relationship between SNPs of POU1F1 gene and litter size and growth traits in Shaanbei white cashmere goats. *Animals*, 9(3), 114.



EKLER

Ek 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'sı 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'sı 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'sı 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'sı 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'sı NaOH veya HCl ile 8, 2 ayarlanır. pH'sı 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 2. Elektroforez aşamasında kullanılan özeltiler

DNA Ladder

2 μ l DNA Ladder

2 μ l 6 X Loading Dye

8 μ l Deiyonize su

TBE 5X özeltisi (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'sı 8, 3'e ayarlanır.

pH'sı ayarlanan çözelti 1000 ml'ye tamamlanır.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“POUIF1 GENOTİPLERİNİN KIL KEÇİLERİNDE BÜYÜME ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Betül TİN

26/04/2022

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı Adı : TİN Betül

Uyruk : T.C.

EĞİTİM

DERECE	KURUM	MEZUNİYET YILI
Lisans :	Adnan Menderes Üniversitesi	2017
Yüksek Lisans :	Adnan Menderes Üniversitesi	2022

İŞ DENEYİMİ

YIL	YER/KURUM	UNVAN
2018-2021	Öner Global Hayvancılık Ltd. Şti.	Proje Müdürü
2021- -	AYMUZ DEVTAŞ A.Ş.	Ziraat Mühendisi

İLETİŞİM

Tarih: 26/04/2022