



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
ZZO-YL-2010-0001**

**YERLİ GEN KAYNAĞI ÇİNE ÇAPARI KOYUNLARIN
SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ VE β -LAKTOGLOBULİN
GEN POLİMORFİZMİ**

Fatih ERDOĞAN

**DANIŞMAN
Doç. Dr. İbrahim CEMAL**

AYDIN-2010

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
ZZO-YL-2010-0001**

**YERLİ GEN KAYNAĞI ÇİNE ÇAPARI KOYUNLARIN
SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ VE β -LAKTOGLOBULİN
GEN POLİMORFİZMİ**

Fatih ERDOĞAN

**DANIŞMAN
Doç. Dr. İbrahim CEMAL**

AYDIN-2010

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı : **Fatih ERDOĞAN**

İmza :

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
İNTİHAL BEYAN SAYFASI.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
EKLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Gen Kaynaklarının Önemi ve Korunma Nedenleri.....	4
2.2. Gen Kaynağı Olarak Çine Çaparı Koyun Irkı.....	5
2.3. Koyunlarda Süt Verim Özellikleri.....	8
2.4. Koyunlarda Süt Proteinleri	10
2.4.1. Süt Proteinlerin Çeşitleri	10
2.4.2. Süt Protein Genlerinin Belirlenmesi.....	12
2.4.3. Süt Protein Genlerinin Önemi ve Kullanım Alanları.....	13
2.4.4. β-LGB Gen Polimorfizmi.....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal	19
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Koyunlarda Süt Verim Özelliklerinin Belirlenmesi.....	19
3.2.2. β-LGB Genotiplerinin Belirlenmesi.....	20
3.2.2.1. Kan örneklerinin toplanması ve DNA ekstraksiyonu.....	20
3.2.2.2. PCR ile DNA çoğaltımı.....	22
3.2.2.3. PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi.....	24
3.2.2.4. Jel Elektroforezi ve görüntüleme.....	25
3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	27

3.3.1. Süt Verim Özelliklerine Yönelik Analizler.....	27
3.3.2. β -LGB Genotiplerine Yönelik Değerlendirmeler.....	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	29
4.1. β -LGB Geni Bakımından Genotipler.....	29
4.1.1. β -LGB Genotiplerine İlişkin Jel Görüntüleri.....	29
4.1.2. β -LGB Geni Bakımından Gen ve Genotip Frekansları.....	31
4.2. Koyunlarda Süt Verim Özellikleri.....	34
5. SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR.....	41
EKLER.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	50

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YERLİ GEN KAYNAĞI ÇİNE ÇAPARI KOYUNLARIN SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ VE β -LAKTOGLOBULİN GEN POLİMORFİZMİ

Fatih ERDOĞAN

Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İbrahim CEMAL

Bu çalışma, yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olan Çine Çaparı koyunlarda süt verim özelliklerinin tanımlanması ve süt protein genlerinden biri olan β -Laktoglobulin (β -LGB) geni bakımından varolan polimorfizmin PCR-RFLP metodu kullanılarak tanımlanması amacıyla yapılmıştır. Süt verim denetimleri bir sürüde bulunan 40 baş koyunda, β -LGB genotipleri ise Çine Çaparı popülasyonunun tümünü oluşturan üç sürüde bulunan toplam 128 baş koyunda belirlenmiştir.

İncelenen popülasyonda β -LGB geninin sadece A ve B alellere rastlanmış, C aleline ise rastlanılmamıştır. Olası üç genotip olan AA, AB ve BB için gözlenen genotip frekansları sırasıyla 0.078, 0.453 ve 0.469 iken A ve B için allel frekansları sırasıyla 0.3047 ve 0.6953 olarak bulunmuştur. Yapılan ki-kare analizi sonucunda Mustafa VURAL'a ait sürü dışındaki tüm sürülerin Hardy-Weinberg dengesinde olduğu anlaşılmıştır. Günlük ortalama süt verimi, laktasyon süresi ve laktasyon süt verimi için en küçük kareler ortalamaları sırasıyla 0.521 kg, 159.5 gün ve 81.78 kg olarak tespit edilmiştir. Ele alınan tüm özellikler bakımından koyun yaşı ve doğum tipi istatistiki olarak önemli bir varyasyon yaratmamıştır ($P>0.05$). β -LGB genotiplerinin (AA, AB, BB) laktasyon süresi ve laktasyon süt verimi üzerinde istatistiki olarak önemli ($P<0.05$), günlük ortalama süt verimi üzerinde ise önemsiz ($P>0.05$) etki yaratmıştır. Çalışma sonucunda, Çine Çaparı koyun ırkının konumunda korunmasına yönelik aktivitelere yönelik kimi öneriler sunulmuştur.

2009, 50 sayfa

Anahtar Sözcükler

Çine Çaparı, süt verimi, β -laktoglobulin, gen polimorfizmi, PCR-RFLP

ABSTRACT

M.Sci. Thesis

**MILK YIELD CHARACTERISTICS and β -LACTOGLOBULIN GENE
POLYMORPHISM in INDIGENOUS ÇİNE ÇAPARI SHEEP**

Fatih ERDOĞAN

Adnan Menderes University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim CEMAL

This study was carried out to determine milk yield characteristics of indigenous Çine Çaparı sheep under conservation. The genetic polymorphism for β -Lactoglobulin (β -LGB) gene were also determined by PCR-RFLP method. Milk yield characteristics were determined for 40 ewes in one flock. β -LGB genotyping were performed for 128 animals in all conservation population that comprising three flocks.

Only A and B alleles of β -LGB gene were observed in Çine Çaparı sheep population, but none of the animals have C allele. The observed frequencies for AA, AB and BB genotypes were found as 0.078, 0.453 and 0.469, respectively. The allele frequencies were found as 0.3047 and 0.6953 for A and B alleles, respectively. The chi-square analysis indicates that all the flocks except Mustafa VURAL's were in Hardy-Weinberg equilibrium. Least square means for average daily milk yield, lactation length and lactation milk yield were 0.521 kg, 159.5 day and 81.78 kg, respectively. All the milk yield characteristics investigated were not significantly ($P>0.05$) influenced ewe age and litter size. The effect of β -LGB genotypes (AA, AB, BB) were significant ($P<0.05$) on lactation length and lactation milk yield, but not have a significant effect ($P>0.05$) on average daily milk yield. As a result of the study, some suggestions were given on activities for *in situ* conservation of Çine Çaparı sheep.

2009, 50 pages**Key Words**Çine Çaparı, milk yield, β -lactoglobulin, gene polymorphism, PCR-RFLP

ÖNSÖZ

Bu çalışma ile hem gen kaynaklarının korunmasına yönelik etkinliklerin önemini kavramış, hem de koyunlarda verim denetimi, laboratuvar çalışma prensipleri ve en önemlisi DNA analizleri ve sonuçlarının yorumlanması gibi birçok konuda deneyim kazanmış oldum. Bu süreçte, başta danışmanım olmak üzere, birçok kişiden büyük destek aldım. Aşağıda bir kısmının desteklerine değindiğim tüm kişilere minnettarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince sürekli destek olan, bu çalışmanın planlanıp yürütülmesine öncülük eden, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, karşılaştığım problemlerin çözümünde daima yanımda olan değerli danışmanım Doç.Dr. İbrahim CEMAL'e,

Deneme materyalimi oluşturan Çine Çaparı koruma sürüsünün oluşturulmasına öncü olmakla birlikte mevcut yetiştiricileri teşvik edip sürülerin korunup günümüze ulaştırılmasını sağlayan ve denememi bu materyalde gerçekleştirmemi olanaklı kılan değerli hocam Prof.Dr. Orhan KARACA'ya ve koruma sürüsünün şekillendirilip günümüze ulaştırılmasında katkısı olan diğer kişilere,

İrkin korunmasını özümseyen, sürülerinden örnek almamıza izin veren son iki Çine Çaparı yetiştiricisi olan Erdoğan AKTÜRK (Tatarmemişler köyü, Çine, AYDIN) ve Mustafa VURAL'a (Dereköy, Koçarlı, Aydın),

Tez savunma sınav jürimde danışmanım dışında yer alan, eleştiri ve önerileri ile çok değerli katkılar sağlayan Prof.Dr. Orhan KARACA ve Prof. Dr. Cengiz ELMACI hocama,

Aynı populasyonda daha önce yürüttüğü çalışmada yoğun emek vererek elde ettiği DNA örneklerinden de yararlanmama olanak sağlayan ve laboratuvarında analiz aşamasında deneyimlerini benimle paylaşan Ziraat Yüksek Mühendisi Pelin BİNBAŞ'a,

Hayvanlardan kan örneklerinin alınması, doğum sonuçlarının izlenmesi ve süt verim denetimleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Arş.Gör. Onur YILMAZ ile bölümümüz koyunculuk ünitesinde çalışan hayvan bakıcıları ile ailelerine,

Laboratuvar altyapısı ve huzurlu çalışma ortamı sunan Adnan Menderes Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ADÜ-BİLTEM) yönetimine ve laboratuvar çalışanlarına,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında daha rahat çalışabilmem için maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme,

Tezin yürütülebilmesi için finansman sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığına (FBE-08011) şükranlarımı sunarım.

SİMGELER DİZİNİ

β -LGB	: Beta Lactoglobulin
PCR-RFLP	: Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimeraz Zincir Reaksiyonu – Kısıtlanmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)
GOSV	: Günlük Ortalama Süt Verimi
LS	: Laktasyon Süresi
LSV	: Laktasyon Süt Verimi
EA	: Erdoğan AKTÜRK
MV	: Mustafa VURAL
ADÜ-ÇÇKP	: Adnan Menderes Üniversitesi - Çine Çaparı Koruma Programı
DNA	: DeoxyriboNucleic Acid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Çine Çaparı koyun, koç ve kuzularına ait bazı fotoğraflar.....	8
Şekil 2.2.	Süt protein unsurları.....	11
Şekil 2.3.	Koyunda β -LGB geninin tam nükleotid dizilimi (toplam 7379 bç) ve iki allel arası farkı oluşturan nokta mutasyonu.....	16
Şekil 3.1.	DNA çoğaltımı için kullanılan PCR koşulları.....	23
Şekil 3.2.	DNA bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan DNA boy markörü.....	26
Şekil 4.1.	ADÜ-ÇÇKP koruma sürüsündeki kimi hayvanların β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü.....	29
Şekil 4.2.	EA sürüsündeki kimi hayvanların β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü	30
Şekil 4.3.	MV sürüsündeki kimi hayvanların β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü.....	30
Şekil 4.4.	ADÜ-ÇÇKP sürüsündeki koyun DNA'larına ait PCR ürünlerinin MspI restriksiyon enzimi ile kesiminin sonucu elde edilen bant görüntüsü.....	31
Şekil 4.5.	Çine Çaparı populasyonunda β -LGB genotiplerinin dağılımı.....	32
Şekil 4.6.	Günlük ortalama süt verimi (GOSV)'nin β -LGB genotiplerine göre değişimi.....	36
Şekil 4.7.	Laktasyon süresi (LS)'nin β -LGB genotiplerine göre değişimi.....	37
Şekil 4.8.	Laktasyon süt verimi (LSV)'nin β -LGB genotiplerine göre değişimi.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Varlığını sürdüren Çine Çaparı sürülerindeki güncel hayvan sayıları	7
Çizelge 2.2.	Akkaraman ve Hamdani x Akkaraman melezi koyunlarda süt verimi özelliklerine ilişkin en küçük kareler ortalama ve standart hataları	9
Çizelge 2.3.	Kimi koyun populasyonlarında tespit edilen β - LGB allel frekansları.....	17
Çizelge 3.1.	PCR Reaksiyonu bileşenleri.....	23
Çizelge 3.2.	β -LGB geni alellerinin ayırımı için uygulanan restriksiyonun bileşenleri.....	24
Çizelge 4.1.	Çine Çaparı ırkına yönelik 3 sürüde β -LGB geni bakımından genotiplerin dağılımı ve genotip frekansları.....	32
Çizelge 4.2.	Çine Çaparı ırkına yönelik 3 sürüde β -LGB bakımından gen frekansları.....	33
Çizelge 4.3.	β -LGB geni bakımından genotipler ait gözlenen ve beklenen sayılar ile ki-kare (χ^2) analiz sonuçları.....	33
Çizelge 4.4.	Süt verim özelliklerine ait en küçük kareler ortalama ve standart hataları.....	35

EKLER DİZİNİ

Ek-1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler.....	44
Ek-2. Elektroforez Aşamasında Kullanılan Çözeltiler.....	46
Ek-3. Koyunda β -Lactoglobulin Genin Tam Nükleotid Dizilimi.....	47

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihi içinde binlerce yıllık tarım toplumu sürecinde şekillenen, farklı coğrafyaların ekolojik, sosyolojik ve ekonomik şartlarına uyum sağlayan yerli ırklar hayvan yetiştiriciliğinin ana unsuru durumundadırlar. Sanayileşme ile birlikte hızla değişmekte olan sosyolojik ve ekonomik koşullar yerli ırklardan daha fazla yararlanmaya sevk etmiştir. Birim hayvandan daha fazla yararlanma gereksinimi, bilgi birikimi ve gelişen teknolojiyle birleşince, yerli ırkların yerini büyük bir hızla gerek saf yetiştirme gerekse melezlemeler yoluyla oluşturulan yüksek verimli kültür ırkları almaya başlamıştır. Bu ıslah çalışmalarının etkinliğine paralel olarak yerli ırkların azalması ve kaybolması tehlikesi ortaya çıkmıştır (Karaca ve Cemal, 1998).

Türkiye'nin iklimi, topoğrafik yapısı ve bitki örtüsüne bağlı olarak şekillenen tarımsal alt yapısı, koyun yetiştiriciliğine elverişli bir ortam oluşturmuştur. Bu ortamda farklı bölgelerde hatta yörelerde birçok yerli koyun ırkı mevcuttur (Düzgüneş, 1990). Özellikle Batı Anadolu'da tarımın hızla entansifleşen yapısı içinde gerek yerli ırklar arasındaki melezlemelerle ve gerekse ıslah amacıyla oluşturulan yeni koyun tiplerinin devreye girmesi ile yerli koyun formlarının giderek devreden çıktığı gözlenebilmektedir (Karaca ve ark., 1999b). Bu durum Çine Çaparı koyun ırkımızda da görülmektedir. Yöredeki yetiştiriciler koyun sütü yanında, kuzu gelirlerini arttırmak için kuzu eti ve kalitesinin yükseltilmesi anlamında Sakız ve Kıvırcık ırklarını melezlemeyle devreye sokmuşlardır. Özellikle son 15–20 yılda yetiştiriciler tarafından uygulanan sistemsiz çevirme melezlemeleri sonucunda yöredeki Çine Çaparı koyunlar kuyruksuz bir forma dönüştürülmüştür. Dolayısıyla saf Çine Çaparı koyun sayısı oldukça azalmış ve bu değişim ırkın varlığını ağır tehdit altına sokmuştur. Nitekim aynı yaklaşım ve uygulamalar sonucunda Ödemiş koyun ırkımız da çok yakın geçmişte yok olmuştur. Benzer uygulamalar başta Dağlıç olmak üzere diğer yerli ırklarımızı da tehdit etmektedir (Karaca ve Cemal, 2005).

Varlığı ağır tehdit altına giren ve özellikleri bakımından yeterli bilimsel veriye sahip olmadığı Çine Çaparı koyun ırkının korunması ve kimi özelliklerinin tanımlanması amacıyla 1996 yılında Adnan Menderes Üniversitesinde sürü kurma

çalışmaları başlatılmıştır. Kimi sürülerde Çine Çaparı koyunlara ender olsa da rastlanmakla birlikte saf Çine Çaparı koyun sürüsü ve yetiştiricisi yok denecek kadar azalmıştır. Aydın ilinin Çine ve Koçarlı ilçelerinin dağ köylerinde biri 50 diğeri 39 baş hayvanı olan iki işletme varlıklarını sürdürmektedir. Oldukça sınırlı gelire sahip bu yetiştiricilerin de sürülerini her an elden çıkarmaları riski oldukça yüksektir. Sürü yapılarını değiştirmekte direndiği gözlenen bu yetiştiricilerin temel gerekçeleri ırkın ortaya koyduğu bakım ve yönetim kolaylığı yanında hastalıklara dirençli ve sıcağa dayanıklı olmasıdır. Irkın genetik kaynak olarak korunması amacıyla oluşturulan *Adnan Menderes Üniversitesi Çine Çaparı Koruma Programı (ADÜ-ÇÇKP)* çerçevesinde, ırkın tanımlanması yanında koruma altyapısının şekillendirilmesine yönelik araştırmalar devreye sokulmuş ve bunlardan bir kısmı tamamlanmıştır. Koruma sürüsü ve anılan iki yetiştirici sürüsündeki koyunların verim ve pedigrî kayıtları tutulmakta ve minimum akrabalı yetiştirmeyi sağlayacak çiftleşme planları uygulanmaktadır (Karaca ve Cemal, 2005).

Hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik değere sahip karakterlerin ıslahında ve verimin artırılmasında uygulanacak yöntemin başarısı, populasyonun genetik yapısının tanınmasına bağlıdır (Çak ve Küçük, 2005). Özellikle biyoteknolojinin gelişmesiyle günümüzde hayvanların genetik yapıları kan, süt, hormon v.s. gibi çeşitli özelliklerden kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Bu durum ırkların genetik orjininin tanınması, populasyonlarının birbirleriyle olan ilişki ve yakınlıklarının bilinmesi, taksonomik dağılımdaki yerlerinin belirlenmesi, soy kütüklü sürülerde ebeveynlerin kontrol edilmesi, kimliklerin belirlenmesi, genetik mesafe tespiti, tek yumurta ikizlerinin belirlenmesi, gen ve genotip frekanslarının zaman içerisinde göstereceği değişimin seyri gibi pratik amaçlarla kullanılmaktadır (Doğru ve ark., 1997a).

Yukarıda bahsedilen özelliklerden biri olan süt, çiftlik hayvanlarının önemli ürünlerinden biridir. Yeni doğan yavrunun gelişip büyüebilmesi için mutlaka tüketmesi gereken bir ürün olup sütün insan ve yavru hayvanların beslenmesindeki öneminin temel kaynağı bünyesinde birçok temel besin maddesini içermesidir. Bu maddelerin en önemlilerinden biri, özellikle canlıların büyüme ve gelişme dönemleri için çok büyük önemi olan süt serum proteinleridir. Süt proteinlerinin yapısı sütün, özellikle peynir gibi, süt ürünlerine işlenmesi bakımından önem sergilemektedir.

Ruminant hayvanların sütlerinde bulunan en önemli süt serum proteini β -LGB dir. Bugüne kadar sığır, koyun ve keçilerde gerek protein gerekse DNA düzeyinde β -LGB polimorfizmine yönelik çok sayıda çalışma yapılmış ve bu lokusun polimorfik olduğu belirlenerek çeşitli allellerinin varlığı saptanmıştır (Doğru ve ark., 1997a; Elmacı ve ark., 2006, 2008; Erhardt, 1989). Koyunlarda β -LGB lokusunda *A* ve *B* olmak üzere iki allelin varlığı belirlenmiştir. Ayrıca *A* allelinin bir alt varyantı olan ancak nadir olarak gözlenen *C* alleli de tespit edilmiştir (Moioli ve ark., 1998; Erhardt, 1989).

Çevre koşullarından etkilenmemeleri, birkaç allel gen tarafından idare edilmeleri ve kodominant kalıtmı olmaları gibi avantajları nedeniyle polimorfik biyokimyasal sistemler popülasyondaki bireylerin genetik yapılarının araştırılması çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Yüce ve Bilgen, 2004). Süt protein genlerinin bu üstünlüklerinden yararlanılarak kısa zamanda popülasyonların genetik yapısını belirleyebilmekteyiz. Daha kaliteli süt ve süt ürünleri üretilebilmesi için süt protein varyantlarının ve bunların allellerinin belirlenmesi ve gerekli durumlarda kimi allel frekanslarının seleksiyon çalışmaları ile artırılması yoluna gidilebilir.

Bu çalışma, koruma altına alınan yerli gen kaynağı Çine Çaparı koyunlarda süt verim özelliklerinin tanımlanması ve süt protein genlerinden biri olan β -Laktoglobulin (β -LGB) geni bakımından varolan polimorfizmin PCR-RFLP metodu kullanılarak tanımlanması amacıyla yapılmıştır. Ayrıca, ele alınan süt verim özelliklerinin β -LGB genotiplerine göre değişim gösterip göstermediğine yönelik bilgiler de ortaya konmaya çalışılacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. GEN KAYNAKLARININ ÖNEMİ VE KORUNMA NEDENLERİ

Verim arttırma yönünde sürekli yapılan ıslah çalışmalarının hayvanların uyum yeteneğini zayıflatması, gelecek kuşaklar tarafından genetik kaynaklarının hangi amaçlarla kullanılacağı, yani şimdiden kestirilemeyen gelecekteki istem ve beklentiler, insan emeğiyle gerek bilgi birikimi gerekse üretimle ilgili fiziki birikimler sonucu çok uzun süreçlerde oluşmuş ve geçmiş nesillerden kalan tarihi ve kültürel mirasların korunması gerekliliği tartışma götürmez bir husustur (Karaca ve ark., 1999b). Buradan hareketle gen kaynaklarının korunmasının genel olarak; ekonomik, bilimsel ve kültürel nedenler olmak üzere üç önemli gerekçesi vardır.

Ekonomik nedenleri, çiftlik hayvanlarının üretim potansiyellerinden gelecekte de yararlanılabilmesi, genetik varyasyonun korunması ve gelecekteki ıslah çalışmalarının temelini oluşturması, heterosis olanağının korunması şeklinde sıralayabiliriz. Ayrıca, yok olma sürecindeki ırkların orijinal bölgeleri dışında da ekonomik potansiyele sahip olabilmeleri ve yerli ırkların kendi çevresel koşullarında kültür ırk ve melezlerine göre daha verimli olmaları da yine gen kaynaklarının korunması gerekliliğinin ekonomik nedenlerindedir. Yerli gen kaynakları, geliştirilen popülasyonların; fizyolojik, genetik, beslenme, üreme, uyum ve davranım özelliklerinde sağlanan veya ortaya çıkan değişikliklerini belirlemede kontrol materyali olarak kullanılabilirler. Bunun yanı sıra hastalıklara direnç, duyarlılık ve benzeri konulardaki araştırmalar için farklı genetik yapıdaki materyale gereksinim duyulması, bazı ırk ve popülasyonların diğer türlerdeki araştırmalar için biyolojik model olarak kullanılması gibi nedenleri de bilimsel nedenler olarak saymak mümkündür. Kültürel nedenlerle hayvan tür ve ırklarının pek çoğu yetiştirildikleri bölgelerin tarihinde önemli rol oynamışlardır. Örneğin, Teksas Longhorn sığırı ABD'nin sınırlarının genişlemesinde, Merinos koyunu İspanya'nın, Ankara keçisi Türkiye'nin, ipek böceği Çin'in ekonomi tarihinde önemli yere sahip olmuşlardır. Yerli ırklar hayvan ıslahının tarihsel gelişim ölçütü olmaları nedeniyle eğitsel değere sahiptirler (Ertuğrul ve ark., 2005).

2.2. GEN KAYNAĞI OLARAK ÇİNE ÇAPARI KOYUN IRKI

Şekil 2.1’de birkaç fotoğrafı verilen Çine Çaparı Aydın yöresinin özgün yerli koyunudur. Başlıca yayılma alanı, Aydın il sınırları içinde bulunan ve geniş bir yayılma alanı olan Madran dağı ve eteklerinde bulunan Çine ve Bozdoğan ilçeleridir. Bunun yanında Koçarlı ve Nazilli ilçelerinin kimi dağlık köylerinde de yetiştirilmiştir. Yağlı kuyruklu olan Çine Çaparı ırkının kuyruk yapısı diğer yağlı kuyruklu koyun ırklarımızdan farklılık gösterir. Karaman ırkına benzeşmediği gibi Dağlıç ve Ödemiş gibi kuyruk sarkık değil, daha toplu ve kuyruk ucu genellikle içe kıvrıktır. Bu ırk yöresel ekolojiye çok iyi uyum sağlamıştır. Vücut beyaz, baş, bacaklar ve karın altı kahverengi-siyah-beyaz beneklidir. Erkeklerin tümü spiral boynuzlu, dişler ise genellikle boynuzsuzdur. Irkın sahip olduğu uysal yapı dolayısıyla merada sürü idaresi yöredeki diğer genotiplere oranla daha kolaydır. Sürü idaresinin kolay olduğu yetiştiricilerin ortak kanısıdır. Bunun yanında sıcağa da dayanıklı olduğu ve süt veriminin yüksek olduğu yetiştiriciler tarafından dile getirilmiştir. Yağlı kuyruklu olan bu ırkın varlığına ilk kez Sönmez (1974) dikkat çekmiş olup ırkın geçmişteki sayısal durumu, tam olarak yayılma alanı ve verim özellikleri konusunda son yıllarda yapılan araştırmalar dışında herhangi bir yazılı kaynağa rastlanamamıştır. Dolayısıyla yörede yetiştiriciler ile yapılan görüşmeler ve son yıllarda yapılan çalışmalar (Karaca ve Cemal, 1998; Karaca ve ark., 1999a; Karaca ve ark., 1999b; Karaca ve ark., 2004; Karaca ve Cemal, 2005; Binbaş, 2006) temel kaynak niteliğindedir.

Özellikle Batı Anadolu’da tarımın hızla entansifleşen yapısı içinde gerek yerli ırklar arasındaki melezlemelerle ve gerekse ıslah amacıyla oluşturulan yeni koyun tiplerinin devreye girmesi ile yerli koyun formlarının giderek devreden çıktığı gözlenebilmektedir (Karaca ve ark., 1999b). Bu durum Çine Çaparı koyun ırkımızda da görülmektedir. Yöredeki yetiştiriciler koyun sütü yanında, kuzu gelirlerinin giderek artırılması ile kuzu eti ve kalitesinin yükseltilmesi anlamında Sakız ve Kıvırcık ırklarını melezleme amacıyla devreye sokmuşlardır. Özellikle son 15–20 yılda yetiştiriciler tarafından uygulanan sistemsiz çevirme melezlemeleri sonucunda yöredeki Çine Çaparı koyunlar kuyruksuz bir forma dönüştürülmüştür. Dolayısıyla saf Çine Çaparı koyun sayısı oldukça azalmış ve bu değişim ırkın varlığını ağır tehdit altına sokmuştur.

Aydın yöresinde 1995-1996 yıllarında yapılan gözlemler ve yetiştiricilerle görüşmeler sonucunda sürülerin büyük çounluğunun dönüştüğü, sadece birkaç sürünün halen Çine Çaparı koç kullandığı ve kimi sürülerde az sayıda saf Çine Çaparı koyunların olduğu belirlenmiştir. Bu gözlemler sonucunda ırkın koruma altyapısının zaman geçirilmeden oluşturulması ve ırkın korunması amacıyla 1996 yılında Adnan Menderes Üniversitesi'nde sürü kurma ve ırkın özelliklerinin tanımlanmasına yönelik araştırmalara başlanmıştır. Bu kapsamda kısıtlı imkânlarla küçük çaplı bir koruma sürüsü şekillendirilmiş ve bu sürünün geliştirilmesine yönelik çalışmalar diğer yetiştiricilerle iletişim içerisinde günümüze kadar sürdürülmüştür. Irkın korunmasına yönelik çalışmaların kurumsallaştırılması için Adnan Menderes Üniversitesi - Çine Çaparı Koruma Programı (ADÜ-ÇÇKP) isimli stratejik yönelim programı devreye sokulmuştur. (Karaca ve ark., 2004; Karaca ve Cemal, 2005).

ADÜ-ÇÇKP kapsamında koruma amaçlı oluşturulan koyun sürüsü şu anda Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Koyunculuk Araştırma ve Uygulama Ünitesinde bulunmaktadır. Üniversitedeki bu koruma sürüsü dışında günümüzde sadece 2 yetiştirici sürüsü mevcuttur. Bunlardan biri Aydın ili Çine ilçesi Tatarmemişler köyünde bulunan Erdoğan AKTÜRK isimli yetiştiriciye ait sürü, diğeri ise Aydın ili koçarlı ilçesi Dereköy köyünde bulunan Mustafa VURAL'a ait sürüdür. Şu anda koruma altında olan ve yok olmadan günümüze ulaşan Çine Çaparı popülasyonunun bütününi kapsayan Üniversite bünyesindeki sürü ile son iki yetiştiriciye ait sürülerdeki güncel hayvan sayıları Ağustos-2009 itibariyle Çizelge 2.1.'de verilmiştir. Ayrıca, şu anda devam eden TÜRKHAYGEN-I projesi kapsamında yürütölen *ex situ-in vitro* koruma çalışmaları için bu 3 sürüden satın alınan 27 baş koç ile 14 baş anaç koyun Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde bulunmaktadır. Yetiştiricilerin sürülerindeki koyunlar numaralanarak kayıt altına alınmıştır. İşletmelere yapılan periyodik ziyaretlerle hayvanlara ilişkin kimi performans kayıtları ile pedigrî bilgileri kaydedilmektedir. Adnan Menderes Üniversitesi tarafından 2008 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'na yapılan başvuru sonucunda Çine Çaparı koyunu ırk olarak tescil edilmiştir. Irk, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından "*Hayvancılığın Desteklenmesi Hakkında Uygulama Esasları Tebliğı*" ile yerinde koruma amaçlı olarak destekleme kapsamına alınmıştır.

Yetiştiricilere ait 2 sürünün bu desteklemelerden yararlanması yetiştiricilerin motivasyonunu güçlendirmiştir (Orhan Karaca, kişisel görüşme).

Çizelge 2.1. Varlığını sürdüren Çine Çaparı sürülerindeki güncel hayvan sayıları

Sürüler ve adresleri	Koç	Koyun	♂Toklu	♀Toklu	Toplam
ADÜ-ÇÇKP Koruma Sürüsü (ADÜ Ziraat Fakültesi, Aydın)	18	48	3	11	80
Erdoğan Aktürk'e ait sürü (Tatarmemişler köyü, Çine-Aydın)	5	45	3	13	66
Mustafa Vural'a ait sürü (Dereköy, Koçarlı-Aydın)	2	37	1	10	50
Toplam	25	130	7	34	196

Saf hayvan sayısı oldukça azaldığından ırkın gen havuzu oldukça küçülmüştür. Dolayısıyla da akrabalı yetiştirmeyi en düşük düzeyde tutacak önlemlerin devreye sokulmasına gereksinim duyulmuştur. Bu amaçla, ırkın genetik yapısının olabildiğince en üst düzeyde korunup geleceğe ulaştırılabilmesi için çiftleşmeler belli bir plan dâhilinde, yetiştirici sürülerini kapsayacak şekilde kontrollü olarak yürütülmektedir. Bu kapsamda koruma amaçlı sürüde koyunların kızgınlıkları hormonal uygulamalarla her yıl senkronize edilerek önceden hazırlanan çiftleşme planları uygulanmakta ve böylece sağlıklı pedigrî kayıtlarının da tutulabilmesi mümkün olmaktadır. Yine bu kapsamda 2003 yılında koruma amaçlı sürüde, aynı ırkın koçlarının taze sulandırılmış sperması kullanılarak, laparoskopi ile intra-uterin olarak tohumlanmıştır. Bu uygulama sonucunda tohumlama başarısı % 70 gibi oldukça tatmin edici bir düzeyde olmuştur. Ayrıca, koruma sürüsündeki çiftleşmeler 2004 yılından itibaren sürüdeki tüm bireyleri kapsayan akrabalık matrisi oluşturulup, bu matris esas alınarak uygulanmaktadır.

Diğer taraftan doğal aşım uygulanan yetiştiricilerin sürülerinde ise akrabalı yetiştirmeyi önlemek amacıyla bu sürülerin koçları ile koruma amaçlı sürünün koçları takas edilerek yetiştiricilerin koçları koruma sürüsünde, koruma sürüsünün

koçları ise yetiştirici sürülerinde kullanılmaktadır. Yöre koşullarında diğer genotiplere oranla yetiştirilmesi dezavantajlı bir durumda olan bu genotipi yetiştirmeyi sürdüren bu yetiştiricilerin kayıplarının önlenmesi için maddi olarak desteklenmesi ve üstlendikleri bu misyondan dolayı onurlandırılmaları can alıcı bir öneme sahiptir. Çine Çaparı koyunlara yönelik çalışmaların önemi, yok olmak üzere olan bu yerli koyun ırkının genetik kaynak olarak korunması alt yapısının oluşturulması bakımından öne çıkmaktadır (Karaca ve Cemal, 2005).



Şekil 2.1. Çine Çaparı koyun, koç ve kuzularına ait bazı fotoğraflar

2.3. KOYUNLARDA SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ

Koyunlarda süt veriminin iyileştirilmesinin temelini verim denetimleri ve kayıtlar oluşturur. Koyunlarda süt verimini bilmek ve buna göre seleksiyon yapmak ancak belirli aralıklarla yapılan süt kontrolleri ile mümkündür. Verim denetimleri; damızlık seçiminin doğru yapılmasına, besleme ve sürü idaresi programlarının hayvanların gereksinimi ve işletme ekonomisine göre düzenlenmesine olanak sağlar (Sönmez ve ark., 1988).

Koyun sütünün yetiştiricilikte önem taşıdığı durumlarda, süt verimi damızlık seçiminde değerlendirilmesi gereken bir özelliktir. Bu anlamda da sütün miktar ve bileşimini etkileyen faktörler ile genetik varyasyona ilişkin bilgilerin elde edilmesi gerekir. Populasyonların süt verim yeteneklerinin tanımında yaş ve bakım-besleme gibi çevre faktörleri değerlendirmede esas alınır. Ancak bu şekilde koyunların gerçek verim yetenekleri ortaya çıkar. Damızlık seçimindeki başarı ancak gerçek verim yeteneğine göre yapılacak seçimle mümkündür. Koyunlarda süt verim özellikleri üzerine yaş etkisinin önemli olduğu yönünde araştırma bulguları bulunmasına karşılık, bunun aksi yönünde bildirişler de vardır. Ayrıca kuzulama şeklinin de süt verim özellikleri üzerine etkili olduğu yönünde bulgular söz konusudur (Karaca ve ark., 2002).

Koyunlarda süt verim denetimleri bireysel veya toplu olarak yapılabilir. Gerek bireysel, gerekse toplu yapılan denetimlerde doğumla veya süttten kesimle başlayan sağım düzeni uygulanabilir. Bireysel yapılan süt verim denetimlerinde doğumla başlayan sağım düzeni bireyin gerçek verimini tahmin etmedeki güvenilirliği nedeniyle benimsenmelidir (Kaymakçı ve Sönmez, 1992).

Bazı yerli koyun ırk veya genotiplerinin süt verim özelliklerine yönelik araştırmalarda Akkaraman ve Hamdani ırkı ile melezleri (Altın, 2001), Karya (Karaca ve ark., 1999a), Çine Çaparı (Karaca ve ark., 1999b) ve yöresel Kıvırcık genotipi (Yılmaz ve Altın, 2004) için elde edilen değerler Çizelge 2.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Kimi yerli koyun genotiplerinde süt verim özelliklerine ilişkin en küçük kareler ortalaması ve standart hataları

Genotip	Çevre	N	Laktasyon Süt ver. (lt)	Laktasyon Süresi (gün)	Günlük ort. süt. Ver. (ml)
Akkaraman	Van	24	62.32±5.76	173.3±10.7	359.1±23.0
Hamdani x Akkaraman	Van	16	50.65±6.36	144.8±11.8	332.7±25.4
Karya	Aydın	86	101.76±8.97	170.1± 9.8	617.5±54.4
Çine Çaparı	Aydın	20	47.69±2.57	146.0± 8.5	333.0±22.2
Yöresel Kıvırcık	Aydın	105	93.08±4.32	207.3± 4.5	446.3±17.8

2.4. KOYUNLARDA SÜT PROTEİNLERİ

Süt, çiftlik hayvanlarının önemli ürünlerinden biri olup hem doğrudan hem de ürünlere işlenmiş olarak tüketilmesi insan beslenmesinde büyük bir yere sahiptir. Bunun yanında, yeni doğan yavrunun gelişip büyüebilmesi için de mutlaka tüketmesi gereken bir üründür. Sütün insan ve yavru hayvanların beslenmesindeki önemi bünyesinde birçok temel besin maddesini içermesinden kaynaklanmaktadır. Bu maddelerden en önemlilerinden biri de özellikle de canlıların büyüme gelişme dönemleri için çok büyük önemi olan süt proteinleridir. Süt proteinleri, türlere göre farklılık sergileyebilen birçok alt protein varyantlarından oluşmaktadır.

Süt proteinlerinin yapısı sütün, özellikle peynir gibi, süt ürünlerine işlenmesi bakımından önem sergilemektedir. Daha kaliteli süt ve süt ürünleri üretilebilmesi için süt protein varyantlarının ve bunların alellerinin belirlenmesi ve gerekli durumlarda kimi allel frekanslarının seleksiyon çalışmaları ile artırılması yoluna gidilebilir. Süt proteinlerinin ve bunların bireyler bazında genotiplerinin belirlenebilmesi için yakın geçmişe kadar doğrudan süttten tespit yoluna gidilmiştir. Bu amaçla süt proteinleri genelde nişasta jel elektroforezinde alt unsurlarına ayrıştırılmış ve genotip tayini yapılabiliştir. Günümüzde ise süt proteinleri eskiden olduğu gibi direkt süttten değil, DNA'dan belirlenebilmektedir. Bu da bize özellikle zaman açısından avantaj sağlamaktadır. Artık hayvanın laktasyon dönemini beklemeden çok daha erken yaşlarda herhangi bir doku örneğinden (kan, et, kıl vb gibi) DNA izole edilip uygun moleküler genetik yöntemlerle süt protein genleri ve alleleri çok daha doğru bir şekilde belirlenebilmektedir. Bu gen ve alleleri belirlemede moleküler genetik yöntemlerden biri olan PCR-RFLP yöntemi uygulama şekli, kolaylığı ve masrafların düşüklüğü nedeniyle son zamanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

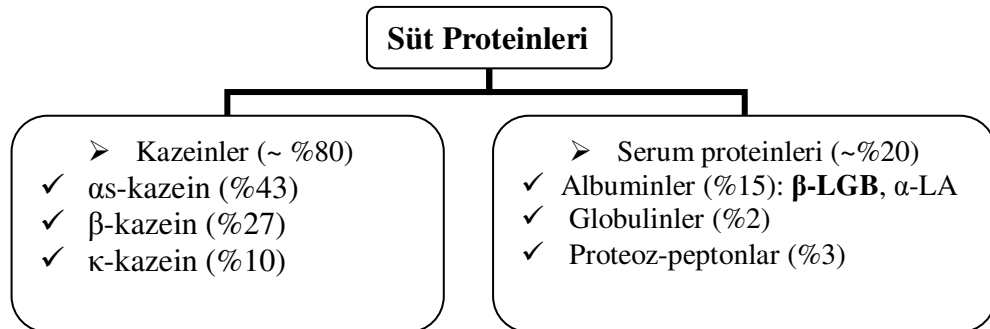
2.4.1. Süt Proteinlerinin Çeşitleri

Günümüze değin süt proteinlerine yönelik araştırmalar daha çok ırkların tanımlanmasına, ırklar arası genetik ilişkilerin belirlenmesine yönelik olmuştur. Bununla birlikte süt protein genleri bakımından genotipler ile süt verimi arasındaki ilişkiler de araştırılmıştır. Bugüne kadar süt protein genleri hakkında yapılan

çalışmaların sonucunda (Bochkarev, 1998; Bolla ve ark., 1989; Garzon ve ark., 1992; Mohammadi ve ark., 2006; Mele ve ark., 2007; Moioli ve ark., 2007) süt protein allellerinin süt verim ve kalitesine olan etkilerinin yön ve büyüklüğü hakkında çok net yargılara varılamamıştır. Ancak bu konudaki bilgi birikimi giderek artmaktadır.

Bunun yanında süt proteinleri çok karmaşık yapıda olup 30'dan fazla unsurlardan oluşan bir madde grubudur. Ancak Sığır ve koyunda genel olarak *kazeinler* ve *serum proteinleri* şeklinde iki grup altında gruplandırılırlar (Şekil 2.2.).

Sütteki proteinlerin yaklaşık %80'lik kısmı kazein formundadır. Süt sığırlarında kazeinin α , β ve κ olmak üzere üç formu bulunmaktadır (Kaygısız ve Doğan, 1999). Sütün esas proteini olarak bilinen kazein, çiğ sütün 20°C'de 4.6 pH'ya asitlendirilmesi sonucu pıhtılaşarak ayrılan kısımdır. Peynir yapımı sırasında kazein çöktükten sonra geride kalan çözelti içerisindeki proteinlere ise *serum proteinleri* veya *peyniraltı suyu proteinleri (whey protein)* denir. Peyniraltı suyu proteinleri sütteki proteinlerin yaklaşık olarak % 20'sini oluştururlar. Serum proteinleri tek bir madde olmayıp, yarı doymuş amonyum sülfatla veya doymuş magnezyum sülfatla çöktürüldüğünde iki kısma ayrılır. Çözünür olan kısma *albumin*, çözünmeyen kısma ise *globulin* denir. Çok iyi çözünen peyniraltı suyu proteinleri α laktalbumin (α -LA), β -laktoglobulin (β -LGB), kan serum albumini, immunglobulinler, çeşitli proteinler ve polipeptitler şeklinde sınıflandırılırlar (Bylund, 2003).



Şekil 2.2. Süt protein unsurları

Süt proteinin yaklaşık olarak 4/5'ini teşkil eden kazein ile serum proteini olan laktoglobulinin fiziksel ve kimyasal nitelik ve nicelikleri birbirinden farklı, elektrik yükü, amino asit, azot, fosfor muhtevaları değişik alt unsurlara (α , β , κ) ayrıldığı ve her birinin kalıtsal polimorfik nitelikte olduğunun çok sayıda araştırmacı tarafından bildirildiği Doğru ve ark. (1997b) tarafından aktarılmaktadır.

2.4.2. Süt Protein Genlerinin Belirlenmesi

Çiftlik hayvanlarında veya süt salgılama yeteneğindeki diğer canlılarda süt protein gen ve genotiplerinin belirlenmesi iki şekilde gerçekleştirilebilir. Bunlar:

- a- Süt proteinlerinin ayrıştırılmasıyla genotip tayini.
- b- Direkt DNA'dan genotip tayini şeklindedir.

Önceleri, polimorfik biyokimyasal sistemler incelenirken genler yerine gen ürünleri (örn, süt veya kandaki proteinler) incelenebiliyordu. Bunun içinde hayvanın laktasyon dönemine ulaşması beklenip salgıladığı sütteki proteinler izole edilip özel yöntemlerle ayrıştırılıyordu. Ancak genetik biliminin gelişmesi ve biyoteknoloji alanındaki kullanımının artmasıyla DNA'ya dayalı daha pratik ve daha doğru sonuç veren yöntemler geliştirilmiştir.

Doğrudan DNA analizine dayalı yöntemlerin gelişmesi ile laktasyonu beklenmeden çok daha önceki dönemlerde hayvanın kan veya diğer herhangi bir dokusundan DNA ayrıştırılıp genotiplendirme yapılabilmektedir.

Süt proteinlerinin ayrıştırılmasıyla genotip tayini;

Laktasyonda olan bireyden süt örneği alındıktan sonra santrifüj işlemine tutularak yağlar ve proteinler ayrıştırılır. Ayrıştırılan proteinler nişasta-jel elektroforezde yürütülerek kat ettiği mesafeye göre uluslararası standartlarda tiplendirme yapılır.

Direkt DNA'dan genotip tayini;

Farklı DNA analiz teknikleri kullanılabilir. Ancak son dönemlerde yaygınlaşan ve en pratik kullanılan PCR-RFLP yöntemidir. PCR-RFLP yönteminde DNA'nın elde edilmesinden elektroforeze kadar aşamalar şöyledir;

Protein genlerini belirlerken DNA'dan yararlandığımız için vücuttaki herhangi bir hücreden DNA izolasyonu gerçekleştirilebilmektedir. Ancak beyaz kan hücrelerinden DNA izolasyonu daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Alman beyaz kan hücreleri çeşitli etkenlerle (deterjan, enzim, fiziksel etken v.s.) parçalanır. Daha sonra çeşitli santrifüj işlemlerinden geçirilip DNA elde edilmiş olur. Son yıllarda geliştirilen ticari DNA ekstraksiyon kitleri ile bu işlem çok daha pratik hale gelmiştir. DNA izole edildikten sonra, önceden hazırlanmış hedefe özgü primerlerler kullanılarak hedef DNA bölgeleri çoğaltılır. Ardından, PCR ürünü, DNA dizilişine özel restriksiyon (kesici) enzimleri kullanılarak kesilir. Sonrasında da agaroz jel üzerine yüklenen DNA, elektroforez işlemi ile boyutlarına göre ayrıştırılır. En son aşamada ise jeller etidiyum bromid ile boyanıp fotoğraflanarak elde edilen bant görüntülerinden genotipler tayin edilir.

2.4.3. Süt Protein Genlerinin Önemi ve Bunlardan Yararlanma Olanakları

Türkiye'de hayvancılığın ülke ekonomisine olan katkısını artırmak için yıllardan beri seleksiyon, melezleme gibi klasik ıslah ve yetiştirme sistemleri uygulanarak hayvan popülasyonlarının verimleri artırılmaya çalışılmıştır. Çiftlik hayvanlarında ekonomik öneme sahip süt, yapağı, yumurta ve et verimi gibi karakterler çok sayıda genin kontrolü altındadır. Bu karakterler çevre faktörleri tarafından da büyük ölçüde etkilenmektedir. Bu nedenle kantitatif karakterlerde fenotipik değer, çoğu kez genetik değeri iyi şekilde yansıtmamakta ve fenotipe dayalı seleksiyonda başarı şansı düşük düzeyde olmaktadır. Bu gibi durumlarda erken yaşta ortaya çıkan, saptanması kolay ve üzerinde durulan karakterle genetik korelasyon halinde bulunan diğer karakter ya da karakterler seleksiyon kriteri olarak kullanılabilir (Düzgüneş ve ark., 1991). Hayvanların genetik yapılarının kan, süt, hormon v.s. gibi çeşitli özelliklerden şu veya bu şekilde belirlenmesi genel olarak yetiştiricilik ve ıslah açısından önemlidir.

Genetik polimorfik sistemlerin ekonomik verim özellikleriyle ilgisi genlerin pleiotropik etkisinden kaynaklanmaktadır. Genlerin bu fonksiyonları aynı zamanda

genetik korelasyona yol açmaktadır. Genetik korelasyon dolaylı seleksiyonla sağlanacak ilerlemeyi, yani seleksiyonun verimliliğini etkileyen en önemli genetik parametredir. Bu bakımdan, süt protein polimorfizmi ile ekonomik verimler arasındaki ilginin bilinmesi önem taşımaktadır (Kaygısız, 2000). Populasyonlarda genetik yapıyı en iyi temsil eden vasıflar bakımından gen ve genotip frekanslarının belirlenmesi genetik kimliğin tanınmasını sağlamakla birlikte daha anlamlı ve somut mesajlar verebilir (Doğru ve ark., 1997b).

Başka bir ifadeyle, populasyonların genetik yapısı kendilerini oluşturan genotiplerin damızlık değerine dayanır. Bir genotipin genetik değerinin en iyi ölçüsü damızlık değeridir. Damızlık değeri teorik olarak genlerin ortalama etkileri toplamı ile ölçülür. Diğer bir deyimle, damızlık değeri toplanabilir gen etkilerinin bir ürünüdür. Populasyonun genetik yapısını ve potansiyelini geliştirmek ancak gen veya genotipik değere dayalı bir seleksiyonla sağlanabilir. Polifaktöriyel kalıtım yolu izleyen kantitatif karakterlerde fenotip, çoğu kez genotipin iyi bir göstergesi değildir. Bu bakımdan, fenotipik değer seleksiyon için her zaman iyi bir kriter olmamakta ve dolayısıyla herhangi bir kantitatif karakterlerle ilgili genotipik değer tahmininde doğruluk derecesi daha yüksek ve güvenilir metotların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. İhtiyaç duyulan bu metotlardan biri de güvenilirlik derecesi yüksek olan moleküler genetik yöntemlerle çeşitli dokulardan (kan, süt, kıl v.b.) ilgilenilen gene ait genotiplerin doğrudan tesbitidir.

Süt protein genleri erkek ve dişi tüm bireylerin genomlarında bulunmalarına karşı sadece dişi bireylerde meme dokusunda laktasyon döneminde aktif olmaktadır. Dolayısıyla doğrudan sütte oluşan proteinlerden yola çıkılarak yapılan tanımlama dişi birey ile sınırlı kalmaktadır. Ancak DNA esaslı tanımlama kullanıldığında hem cinsiyet sınırlaması ve hem de laktasyon dönemini bekleme sıkıntısı ortadan kalkmaktadır. Süt proteinlerine yönelik şu ana kadar çok çalışmanın yapılması ve bu proteinlerin alt unsurlarının büyük oranda aydınlatılmış olması bir avantajdır.

Genetik yapının analiz edilmesiyle populasyonların gerek sistematik yapı özellikleri gerekse verim potansiyelleri bakımından mukayeseli değerlendirme fırsatı yakalanmıştır.

Bu çalışmaların asıl önemli olan tarafı genetik yapının iyi bir göstergesi olan kimyasal polimorfik vasıfların aynı zamanda verim potansiyelinin de belirleyicisi olabileceğinin vurgulanmasıdır. Bu durum hayvancılıkta dolaylı seleksiyon kavramının aktif ve güvenli biçimde uygulanabileceği sonucunu doğurmuştur (Doğru ve ark., 1997a). Polimorfik biyokimyasal sistemler, çevre koşullarından etkilenmemeleri, birkaç allel gen tarafından idare edilmeleri ve kodominant kalıtmalı olmaları gibi avantajları nedeniyle popülasyondaki bireylerin genetik yapılarının araştırılması çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Yüce ve Bilgen, 2004). Süt protein genlerinin bu üstünlüklerinden yararlanılarak kısa zamanda popülasyonların genetik yapısını belirleyebilmekteyiz. Polimorfizm: Popülasyondaki genetik dengenin bir ürünü olup, söz konusu bir popülasyonda herhangi bir özelliğin iki ya da daha fazla formunun aynı anda ve sadece tekrarlanan mutasyonlarla açıklanamayan oranlarda bulunmasını ifade eder (Çak ve Küçük, 2005).

Hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik değere sahip karakterlerin ıslahında ve verimin artırılmasında uygulanacak yöntemin başarısı, popülasyonun genetik yapısının tanınmasına bağlıdır. Son yıllarda elektroforetik yöntemlerin uygulama alanına girmesiyle evcil hayvanlarda biyokimyasal polimorfizme yönelik çalışmalarda yoğunlaşmış ve böylece genetik yapının daha iyi tanınması olanağı elde edilmiştir (Yüce ve Bilgen, 2004; Çak ve Küçük, 2005).

2.4.4. β -LGB Gen Polimorfizmi

Ruminant hayvanların sütlerinde bulunan en önemli süt serum proteini β -LGB'dir. Bugüne kadar koyunlarda gerek protein gerekse DNA düzeyinde β -LGB polimorfizmine yönelik birçok çalışma yapılmış (Elmacı ve ark. 2006; Erhardt, 1989; Feligini ve ark., 1998; Kolde and Braunitzer, 1983) ve bu lokusun polimorfik olduğu belirlenerek çeşitli allellerinin varlığı saptanmıştır. Koyunlarda β -LGB lokusunda A ve B olmak üzere iki allelin varlığı belirlenmiş, daha sonra A allelinin bir alt varyantı olan C allelide tespit edilmiştir (Anton ve ark., 1999; Erhardt, 1989).

Tam nükleotid dizilimi EK-2’de verilen koyun β - LGB geni toplam 7379 nükleotid içermektedir (Harris ve ark., 1988; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>). Genin A ve B alelleri arasındaki tek fark Şekil 2.3’te de işaret edildiği üzere genin nükleotid diziliminde 1617. sırada yer alan nükleotidinde oluşan nokta mutasyonudur. Bu mutasyon ile anılan noktadaki T alelinin C’ye dönüşmesi sonucunda genin oluşturduğu proteinin yapısında 20. sırada yer alan Tyr aminoasidinin yerini His aminoasiti almaktadır (Kolde and Braunitzer, 1983). Bu mutasyon sonucunda RsaI enziminin tanıdığı iki kesim noktasından biri ortadan kalkmıştır. A ve B alellerinin ayrımı için genin exon 2 bölgesinin DNA diziliminde 1581 ile 1700. pozisyonlar arası 120 baz çifti uzunluğundaki kısım PCR ile çoğaltılıp RsaII enzimi ile kesime tabi tutulmaktadır. A alleli üzerinde 2 ve B alleli üzerinde 1 kesim noktasının var olmasından dolayı kesici enzimle muamele sonrasında A alleli 3 bant (66, 37 ve 17 bç) ve B alleli 2 bant (103 ve 17 bç) oluşturmaktadır. Dolayısı ile A ve B alellerinin her ikisini taşıyan heterozigot AB genotipli bireyler bu parçaların karışımından oluşan 4 bant (103, 66, 37 ve 17 bç) ile karakterize olmaktadır.

1	gtgctcagca	acacacccag	caccagcatt	cccgctgctc	ctgaggtctg	caggcagctc
.
.
.
1501	gagtatctca	gggctgocca	ggccgggggtg	ggacagagag	cccactgtgg	ggctggggggc
1561	cccttcccac	ccccagagtg	caactcaagg	tccctctcca	ggtggcgggg	acttggcact
1621	cettggctat	ggcggccagc	gacatctccc	tgctggatgc	ccagagtgcc	ccctgagag
1681	tgtacgtgga	ggagctgaag	cccacccccg	agggaacct	ggagatcctg	ctgcagaaat
1741	ggtgggcgtc	tctccccaac	atggaacccc	cactccccag	ggctgtggac	ccccggggg
.
.
.
7321	tgcgaggct	tctctctagt	ttctctctag	tcttctctta	tcacagagca	gtctctaga

İki allel arası tek fark 1617. sıradaki nükleotitte oluşan nokta mutasyonudur

Şekil 2.3. Koyunda β -LGB geninin tam nükleotid dizilimi (toplam 7379 bç) ve iki allel arası farkı oluşturan nokta mutasyonu

Koyunda β -LGB geninin C alleli ilk defa Alman Merinoland koyunları (frekansı 0.175) ile Macaristan'daki Merinos melezi koyunlarda belirlenmiştir (Erhardt, 1989). İspanyol Merinos koyunlarında ise çok düşük frekansta (0.013) var olduğu tesbit edilmiştir (Recio ve ark. 1997). Sonraki yıllarda diğer birçok koyun ırkında yapılan araştırmalarda (Barrillet ve ark., 2005; Amigo ve ark., 2000; Dario ve ark., 2008; Jandurova ve ark., 2005; Elmacı ve ark., 2006) C alleleline rastlanmamıştır.

Çeşitli yerli ve yabancı koyun popülasyonlarında tespit edilen β -LGB allel frekansları Çizelge 2.3'te verilmiştir. C alleli sadece Merinos ırkında tesbit edilmiştir. Kimi ırklarda A, kimi ırklarda ise B allelinin frekansı yüksek bulunmuştur. Ancak, A allelinin frekansının yüksek olduğu ırk sayısı daha fazladır.

Çizelge 2.3. Kimi koyun popülasyonlarında tespit edilen β - LGB allel frekansları

İrklar	Literatür	n	β - LGB		
			A	B	C
Lacaune	Barillet ve ark., 2005	1054	0.643	0.357	-
Lacaune	Barillet ve ark., 2005	517	0.627	0.373	-
Churra	Barillet ve ark., 2005	901	0.325	0.675	-
Merino	Amigo ve ark., 2000	340	0.58	0.41	0.01
Manchega	Barillet ve ark., 2005	238	0.32	0.68	-
Merino	Barillet ve ark., 2005	15	0.77	0.23	-
Sadra	Amigo ve ark., 2000	72	0.47	0.53	-
Leccese	Dario ve ark., 2008	192	0.63	0.37	-
Sumava	Jandurova ve ark., 2005	54	0.204	0.796	-
Valachian I	Jandurova ve ark., 2005	31	0.358	0.642	-
Valachian I	Jandurova ve ark., 2005	29	0.338	0.662	-
Improved Valachian	Jandurova ve ark., 2005	53	0.443	0.557	-
Kıvırcık	Elmacı ve ark., 2006	29	0.776	0.224	-
Gökçeada	Elmacı ve ark., 2006	38	0.763	0.237	-
Sakız	Elmacı ve ark., 2006	41	0.976	0.024	-
Iran Kurdi	Nassiry ve ark., 2007	100	0.51	0.49	-

Ruminantlarda sütteki peynir altı suyu protein β -LGB tarafından kodlanmaktadır. Çalışmalar bu proteinin polimorfik olduğu sonucunu ortaya koymuş olup ekonomik özellikleri etkileyebilir düşüncesiyle çoğu ülkede β -LGB kapsamlı çalışma alanı olmuştur. Araştırmalarda BB genotipi yüksek süt verimi ile bağlantılı gözükürken, AA ve AB genotiplerinin protein ve kazein içeriği daha yüksek gözükmektedir (Bolla ve ark. 1989; Garzon ve ark. 1992). Ancak diğer çalışmalarda β -LGB süt üretim özelliklerine herhangi bir etkisi saptanamamıştır (Barillet ve ark. 1993; Recio ve ark. 1997). Ayrıca, Bochkarev (1998) β -LGB AB varyantı ile yüksek vücut ağırlığı arasında ilişki olduğunu bildirmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Çalışmanın hayvan materyalini, şu anda koruma altında olan ve yok olmadan günümüze ulaşan Çine Çaparı popülasyonunun bütününe kapsayan tüm sürüler (toplam 3 sürü) oluşturmaktadır. Sürülere ait bilgiler izleyen şekildedir:

1. Sürü: ADÜ-ÇÇKP (Adnan Menderes Üniversitesi - Çine Çaparı Koruma Programı) kapsamında oluşturulan ve Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Koyunculuk Araştırma ve Uygulama Ünitesinde yer alan Çine Çaparı koruma sürüsü,
2. Sürü: ADÜ-ÇÇKP kapsamında izlenen, Aydın ili Çine ilçesi Tatarmemişler köyünde bulunan EA isimli yetiştiriciye ait sürü
3. Sürü: Yine ADÜ-ÇÇKP kapsamında izlenen, Aydın ili koçarlı ilçesi Dereköy köyünde bulunan MV'a ait sürü

Süt verim özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ADÜ-ÇÇKP koruma sürüsünde bulunan 44 baş anaç koyun süt verim denetimine alınmış, ırkta β -LGB gen polimorfizminin ortaya konması amacıyla ADÜ-ÇÇKP kapsamındaki koruma amaçlı sürüden 83, Erdoğan Aktürk isimli yetiştiriciye ait sürüden 32 ve Mustafa Vural isimli yetiştiriciye ait sürüden 14 olmak üzere toplam 128 (129 baş hayvandan 1 tanesi elektroforezde bant vermedi) baş hayvandan toplanan kan örneklerinden elde edilen DNA örnekleri incelenmiştir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Koyunlarda Süt Verim Özelliklerinin Belirlenmesi

2007-2008 üretim dönemi için kızgınlıkları hormonal uygulama ile senkronize edilen koyunlar 2008 yılı Mart ayında doğum yapmışlardır. Sağım denetimlerine başlama zamanının kararlaştırılabilmesi ve süt verim özelliklerinin hesaplanması için doğumlar

izlenerek ayrıntılı doğum kayıtları tutulmuştur. Doğumlardan ortalama bir ay sonra süt verim denetimlerine başlanılmış ve 3'er haftalık (21 gün) aralıklarla, sabah ve akşam olmak üzere günde iki sağım esasına göre, süt verim denetimleri yapılmıştır. Yetiştirici işletmelerine ulaşım zor olduğundan süt verim denetimleri sadece ADÜ-ÇÇKP kapsamında oluşturulan koruma sürüsünde bulunan sınırlı sayıda koyunda yapılabilmektedir. Koyunlarda yapılan süt verim denetimleri sonucunda elde edilen değerler ile doğum döneminde toplanan doğum tarihi verileri kullanılarak her hayvana ait süt verim özellikleri belirlenmiştir. Süt verim özelliklerinin hesaplanmasında, ayrıntıları "3.3.1. Süt Verim Özelliklerine Yönelik Analizler" başlığı altında verilen, Hollanda yöntemi kullanılmıştır.

3.2.2. β -LGB Genotiplerinin Belirlenmesi

Üzerinde durulan β -LGB alleleri (A, B ve C) bakımından genotipleri ve mevcut polimorfizmi belirlemek için DNA ekstraksiyonu sonrasında 2 ayrı primer çifti ile hedef DNA bölgeleri PCR ile çoğaltılmış, PCR ile elde edilen ürünler restriksiyon (kesim) enzimleri ile kesildikten sonra agaroz jelde elektroforez ile ayrıştırılmış ve sonrasında etidiyum bromid ile boyanarak fotoğraflanmıştır. Elde edilen fotoğraflardaki bantlardan bireylere ait genotipler saptanmıştır. Analiz aşamalarına ait ayrıntılar aşağıda alt başlıklar altında ayrıntılı olarak verilmiştir:

3.2.2.1. Kan örneklerinin toplanması ve DNA ekstraksiyonu

Toplam 129 baş koyundan alınan kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu Miller et al (1988) tarafından bildirilen ve yine Montgomery ve Sise (1990) tarafından da önerilen tuzla çökeltme prosedürü esas alınarak aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

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

- Çözdürülen kan örneklerinden 2.5 ml alınarak içerisine önceden 5 ml T10E10 (Tris- EDTA) çözeltisi konan 15 ml'lik tüplere (Falcon) ilave edilerek 20-30 saniye vortekslenmiş ve ardından tüpler 20 dakika süreyle +4°C 1500g'de santrifüjlenmiştir.
- Santrifüj sonrası tüpün tabanında 1-2 ml sıvı kalacak şekilde üstteki sıvının tamamı atılmış, oluşan pelet üzerine 5 ml T10E1 (Tris-EDTA) çözeltisinden eklenmiş ve tüpün dibindeki bütün yığınların vorteks ile iyice parçalanması sağlandıktan sonra tüpler 20 dakika süreyle +4 °C 1500g'de santrifüjlenmiştir (peletin iyice temizlenmesi için bu işlem 2-3 kez tekrarlanmıştır).
- Santrifüjleme sonrasında tüpün dibinde 1-2 ml sıvı kalacak şekilde üstteki sıvının tamamı atılmış, tüpe 1.5 ml digestion çözeltisinden (400mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 2mM EDTA; pH: 8.2) eklenmiş ve vortekslenmiştir.
- Daha sonra tüpe 250 µl Proteinaz K solüsyonu ve 100µl %10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) solüsyonu eklenip vortekslenmiş ve tüpler yaklaşık 2 saat süreyle 65 °C'ye ayarlanan su banyosunda inkübe edilmiştir.
- Su banyosundan alındıktan sonra proteinleri çöktürmek için her bir tüpe 6 M NaCl (Sodyum Klorür) solüsyonundan 0.5 ml eklenmiş ve 30 saniye vortekslenmiştir. Ardından tüpler 20 dakika süreyle +4 °C 1500 g'de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası üstteki berrak sıvı 15 ml'lik temiz tüplere alınmış, DNA'yı çöktürmek üzere alınan sıvı hacminin 2 katı hacimde %100'lük soğuk etanol (-20°C) eklenmiş ve tüpler hafifçe alt üst edilerek DNA'nın yeterince yoğunlaşmış viskoz bir materyal olarak görülmesi sağlanmıştır.
- Ardından DNA temiz bir cam pastör pipetiyle alınarak içinde 1 ml %70'lik etanol bulunan 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılmıştır.
- Tüplerdeki %70'lik etanol dikkatli bir şekilde boşaltıldıktan sonra tüpler birkaç dakika süreyle kapakları açık bir şekilde tutularak tüpte kalan etanolün uçması sağlanmıştır.
- Etanolu uzaklaştırılan tüplere 1 ml steril T10E1 (Tris-EDTA) çözeltisi eklenerek DNA'nın çözünmesi sağlanmıştır. Oldukça yoğun olan DNA'nın tam olarak çözünmesini sağlayabilmek için tüpler 37 °C sıcaklıkta 48 saat süreyle çalkalayıcı üzerinde tutulmuştur.
- Spektrofotometrede örneklerdeki DNA miktarı belirlendikten sonra µl'de 25ng olacak şekilde yoğunluk ayarlaması yapılmış ve örnekler tüplere pay edilmiştir.

Tüplerin bir kısmı PCR aşamasına kadar +4 °C, diğer tüpler ise uzun süreli koruma amacıyla derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

3.2.2.2. PCR ile DNA çoğaltımı

A ve B allellerinin ayrıştırılması ve yine nadir görülen C alelinin bu genotipte var olup olmadığının ortaya konabilmesi için aşağıdaki nükleotid dizilimine sahip 2 ayrı primer çifti kullanılmıştır. Primer çiftlerine ait dizilimler C alleli için Anton ve ark. (1999); Feligini ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmalarda kullanılan dizilimler esas alınarak belirlenmiştir. A ve B alellerinin ayrımı için genin exon 2 bölgesinin DNA diziliminde 1581 ile 1700. pozisyonlar arası 120 baz çifti uzunluğundaki kısım çoğaltılmış, C alelinin ayrımı için ise exon 5 bölgesinin 4551 ile 4655. pozisyonları arasında kalan 105 baz çifti uzunluğundaki kısım çoğaltılmıştır. Toplam 7379 baz çiftinden oluşan koyun β -LGB geninin tam nükleotid dizilimi ve mevcut alellerin ayrımı için farklı 2 primer çifti ile çoğaltılan bölgeler EK-2’de verilmiştir.

A ve B Alellerinin Ayrımında Kullanılan Primer Çiftinin Nükleotid Dizilimi:

İleri (Forward): 5'-CAACTCAAGGTCCCTCTCCA-3'

Geri (Reverse) : 5'-CTTCAGCTCCTCCACGTACA-3'

C Alellinin Ayrımında Kullanılan Primer Çiftinin Nükleotid Dizilimi:

İleri (Forward): 5'- TCAGGACCCCGGAGGTGGACAAC -3'

Geri (Reverse) : 5'- CCTCCAGCTGGGTCGGGTTGAAG -3'

Bireylerin taşıdığı alellerin belirlenebilmesi için öncelikle bu gen kapsamındaki hedef bölge, PCR metoduyla yukarıdaki primer çiftleri kullanılarak çoğaltılmıştır. A ve B alellerinin ayrımı için ayrı bir PCR, C alelinin varlığının ortaya konması için ise ayrı bir PCR yapılmıştır. PCR amacıyla 0.2 μ l'lik ince cidarlı eppendorf tüpleri kullanılmış ve her bir örnek için tüplere konan toplam 10 μ l'lik PCR karışımının bileşenleri Çizelge 3.1’de verildiği gibi hazırlanmıştır.

PCR bileşenleri tüplere konduktan sonra tüpler termal çevirici (thermal cycler, Eppendorf Mastercycler® Gradient) içerisine yerleştirilmiş ve Şekil 3.1’de verilen

koşullar kullanılarak DNA çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. A ve B alellerinin çoğaltımı için 35 döngü, C allelinin çoğaltımı için ise 30 döngü uygulanmıştır. PCR aşaması sonunda elde edilen PCR ürünleri restriksiyon enzimleri ile kesme aşamasına kadar +4 °C’de bekletilmiştir.

Çizelge 3.1. PCR Reaksiyonu bileşenleri.

Bileşen Adı	1 Örnek İçin (µl)	Son Konsantrasyon
ddH ₂ O (otoklavlanmış, pH 7.0)	2,925	-
10X PCR Buffer	1,00	1X
MgCl ₂ (25 mM)	0,80	2.0 mM
dNTP karışımı* (3 mM)	*2,65	0.2 mM
İleri (F) Primer (10 µM)	0,50	0.5 µM
Geri (R) Primer (10 µM)	0,50	0.5 µM
Taq DNA Polimeraz Enzimi (5 U/µl)	0,125	0.625 U
Genomik DNA (~50 ng/µl)	1,50	~75 ng
Toplam	10,00	-

* 4 dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)’nin her birinden 0,6625 µl olmak üzere toplam 2,65 µl.

	Aşama	Sıcaklık	Süre	
A ve B Alellerinin Çoğaltımı	İlk ayırım (start denaturation)	95°C	10 dakika	} 35 döngü
	Ayırım (denaturation)	93 °C	15 saniye	
	Bağlanma (annealing)	60 °C	30 saniye	
	Uzama (extension)	72 °C	30 saniye	
	Son uzama (final extension)	72 °C	10 dakika	
C Alelinin Çoğaltımı	İlk ayırım (start denaturation)	94 °C	1 dakika	} 30 döngü
	Ayırım (denaturation)	94 °C	15 saniye	
	Bağlanma (annealing)	60 °C	1 dakika	
	Uzama (extension)	72 °C	10 saniye	
	Son uzama (final extension)	72 °C	10 dakika	

Şekil 3.1. DNA çoğaltımı için kullanılan PCR koşulları

3.2.2.3. PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi

β -LGB geninin A ve B allellerinin ayrımı amacıyla yapılan PCR ile DNA çoğaltımında tüm bireyler için 120 baz çifti (bç) uzunluğunda PCR ürünleri elde edilmiştir. Ayrıca nadir olarak bulunan C alelinin varlığına yönelik yapılan PCR sonucunda ise 105 bç uzunluğunda ürünler elde edilmiştir. Bu ürünlerin varlığı agaroz jel elektroforezi ile de ortaya konmuştur. Burada tüm bireyler için çoğaltılan hedef DNA bölgesi eşit baz çifti uzunluğunda olduğundan bireyler arası bir ayrım söz konusu olamamaktadır. Dolayısıyla aleller arası ayrımın ortaya konabilmesi için çoğaltılan bölgenin spesifik kesim (restriksiyon) enzimleri ile restriksiyona tabi tutulması gerekmektedir. Genin A ve B allellerinin ayrımı için *RsaI* (Fermentas, Dateks, İzmir), C alelinin ayrımı için ise *MspI* (Fermentas, Dateks, İzmir) enzimlerinden faydalanılmıştır.

Restriksiyonla kesim aşamasında, PCR tüpleri içerisinde bulunan ve gene özgü çoğaltılmış spesifik DNA fragmanlarını içeren 10 μ l hacmindeki PCR ürünü üzerine Çizelge 3.2.'de verilen ve restriksiyon enzimini de içeren bileşenler eklenmiş ve tüpler 37 °C'lik su banyosuna konarak en az 2 saat inkübe edilmiştir.

Çizelge 3.2. β -LGB geni alellerinin ayrımı için uygulanan restriksiyonun bileşenleri

B-LGB geni A ve B alellerinin ayrımı için kullanılan bileşenler		β -LGB geni C alelinin ayrımı için kullanılan bileşenler	
Bileşenler	1 Örnek İçin (μ l)	Bileşenler	1 Örnek İçin (μ l)
bdH ₂ O	8.0	bdH ₂ O	8.0
10X Buffer Tango	2.0	10X Buffer Tango	2.0
RsaI enzimi (10 U/ μ l)	0.8	MspI enzimi (10 U/ μ l)	1.0
Toplam	10.8	Toplam	11.0

Genin A ve B alellerinin ayrımına yönelik primer çifti ile elde edilen 120 bç uzunluğundaki PCR ürünü DNA fragmanlarının enzimle kesimi sonucunda A alleli

için 66, 37 ve 17 bç uzunluğunda üç parça oluşurken, B alelinden 103 ve 17 bç uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. Heterozigot yani AB genotipli bireylerde ise yukarıdaki parçaların karışımı şeklinde 103, 66, 37 ve 17 bç uzunluğunda dört parça oluşmaktadır. Farklı boylarda bantların oluşma nedeni gen kapsamındaki 1617. nükleotitte oluşan nokta mutasyonu (T→C) sonucu *RsaI* enziminin kesim noktalarından birinin ortadan kalkmasıdır (Feligini ve ark., 1998). Diğer bir ifade ile *RsaI* enzimi tarafından tanınan kesim yapılan baz dizilimi (GT[▼]AC) değiştiğinden yeni alele ait baz diziliminde (GCAC) bu kesim bölgesi iki adetten bir adete düşmektedir.

A allelinin bir alt varyantı olan C allelinin belirlenmesinde ise kullanılan primer çifti ile tüm koyunlar için çoğaltılan 105 bç uzunluğundaki DNA fragmanı *MspI* enzimi ile kesime tabi tutulmaktadır. C allelinin var olmaması durumunda sadece bir kesim noktasının varlığından dolayı 75 ve 30 bç uzunluğunda 2 fragman gözlenmektedir. Ancak, C alleli var olduğu zaman 2. bir enzim kesim noktasının varlığından dolayı oluşan 3 DNA fragmanına (57, 30 ve 18 bç) ait bant görüntüsü elde edilmektedir.

Restriksiyon enzimleri ile kesim sonrası oluşan bu DNA parçalarının ayrıştırılıp gözlemlenebilmesinde bir sonraki aşamayı elektroforez oluşturmaktadır.

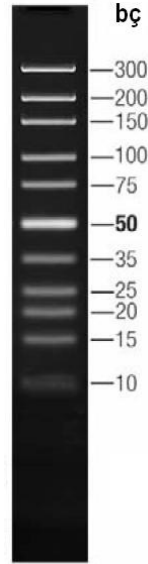
3.2.2.4. Jel Elektroforezi ve görüntüleme

PCR ile çoğaltım sonrası restriksiyon enzimleri ile kesilen farklı boyutlardaki DNA parçalarının ayrıştırılması için yatay agaroz jel elektroforezinden faydalanılmıştır. DNA parçalarının ayrımı için %3'lük agaroz jel kullanılmıştır. Bu amaçla, erlenmayer içerisine tartılan 3 gr agaroz (Applichem) üzerine 100 ml 0.5X TBE çözeltisi (pH 8.3) eklenmiş ve mikrodalga fırında şeffaf bir hal alıncaya kadar, arada bir iki kez hafifçe çalkalanarak kaynatılmıştır. Şeffaf durumdaki jel mikrodalgadan alındıktan sonra soğuk su altında bir miktar soğutulduktan sonra örneklerin yükleneceği kuyucukların oluşmasını sağlayacak tarakların takılı olduğu yatay elektroforez tankına dökülerek katılması beklenmiştir. Yaklaşık 20-25 dakikada katılan jelden taraklar özenli bir şekilde çıkarıldıktan sonra üzerine 0.5X TBE

çözeltisi dökülerek elektroforez tankı örneklerin yüklenmesi için hazır hale getirilmiştir.

Jelde iki sıra halinde bulunan örnek yükleme kuyucuklarının her bir sırasının ilk ve son kuyucuğuna elektroforez işlemi sonunda oluşacak bantların boylarının belirlenebilmesi için Şekil 3.2.'de jel görüntüsü verilen düşük sınırlı DNA boy markörü (ladder) yüklenmiştir. Bu amaçla, 2µl (0.5-1µg) DNA ladder, 1µl 6X yükleme boyası solüsyonu ve 3 ml deiyonize su karıştırılarak elde edilen toplam 6 µl karışım her bir kuyucuk için kullanılmıştır.

Örneklerin jele yüklenmesi aşamasında ise restriksiyon uygulanan PCR ürünlerinin her birinden 15'er µl alınarak 3'er µl 6X yükleme boyası ile karıştırılmış ve toplam 18 µl olarak jel kuyucuğuna yüklenmiştir.



Şekil 3.2. DNA bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan DNA boy markörü

Bütün örnekler jele yüklendikten sonra elektroforez tankı güç kaynağına bağlanmış ve örnekler agaroz jelde 80 voltta 120 dakika süreyle yürütülmüştür. Yürütme işlemi sonrasında jel, içinde 0.5X TBE çözeltisi bulunan bir kaba alınmış ve üzerine kap içinde bulunan çözelti miktarına göre hesaplanan etidyum bromid (1 ml çözelti için 0.5 µl etidyum bromid) koyulduktan sonra 10 dakika çalkalayıcı da çalkalanmıştır. Çalkalama işlemi sonunda görüntüleme ve dokümantasyon sistemi kullanılarak UV

ışığı altında jeldeki bant görüntüsü elde edilmiş ve sonraki değerlendirmeler için fotoğrafı çekilerek dijital ortamda saklanmıştır.

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

3.3.1. Süt Verim Özelliklerine Yönelik Analizler

Çine Çaparı koyunlarda yapılan süt verim denetimleri sonucunda elde edilen değerler ile doğum döneminde toplanan doğum tarihi verileri kullanılarak her hayvana ait süt günlük ortalama süt verimi (GOSV), laktasyon süresi (LS) ve laktasyon süt verimi (LSV) hesaplanmıştır. Süt verim özelliklerinin hesaplanmasında ayrıntıları aşağıda verilen Hollanda yöntemi (Kaymakçı ve Sönmez, 1992) kullanılmıştır. Bu yöntemde bir hayvan için tüm denetim günlerinde ölçülen süt verimleri toplanıp denetim sayısına bölünerek GOSV belirlenmiştir. Ardından izleyen formül kullanılarak LS (gün) bulunmuştur:

$$L = n \cdot a - (a/2 - A)$$

Burada:

n =Denetim sayısı

a : Denetim aralığı

A : Kuzulama ile ilk süt verim denetimi arası süre (gün)

Ardından, izleyen formülde de gösterildiği üzere LS ile GOSV değeri çarpılarak LSV elde edilmiştir.

$$\hat{X} = \left(\sum k_i / n \right) \cdot L$$

Burada:

\hat{X} : Laktasyon süt verimi veya sağılan süt verimi (kg veya litre)

$\sum k_i$: Denetim günlerinde saptanan süt verimlerinin toplamı (kg veya litre)

n =Denetim sayısı

L : Laktasyon süresi (gün)

Daha sonra, verim denetimleri ile belirlenen gerçek süt verim özellikleri izleyen modele göre analiz edilmiştir:

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + e_{ijkl}$$

Modelde;

Y_{ijkl} = i. yaştan, j. doğum tipli, k. β -LGB genotipli bir koyuna ait herhangi bir süt verim özelliği (GOSV, LS ve LSV),

μ = populasyonun beklenen ortalaması,

a_i = i. koyun yaşının etki miktarı,

b_j = j. doğum tipinin etki miktarı,

c_k = k. β -LGB genotipinin etki miktarı,

e_{ijkl} = bağımsız ve rastlantıya bağlı hata olarak tanımlanmıştır.

3.3.2. β -LGB Genotiplerine Yönelik Değerlendirmeler

Jel fotoğraflarından her bireye ait genotip belirlenip not edildikten sonra β -LGB genetik varyantları bakımından gen ve genotip frekansları direkt sayım yöntemi ile belirlenmiştir. Gen ve genotip frekansları 3 sürü için ayrı ayrı hesaplanmakla birlikte populasyonun tamamı için de hesaplanmıştır. Ayrıca sürülerin veya populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını kontrol etmek üzere ki-kare (χ^2) testinden faydalanılmıştır. Tüm hesaplamalar ve χ^2 analizleri için PopGene32 programı (Yeh ve ark., 1997) kullanılmıştır.

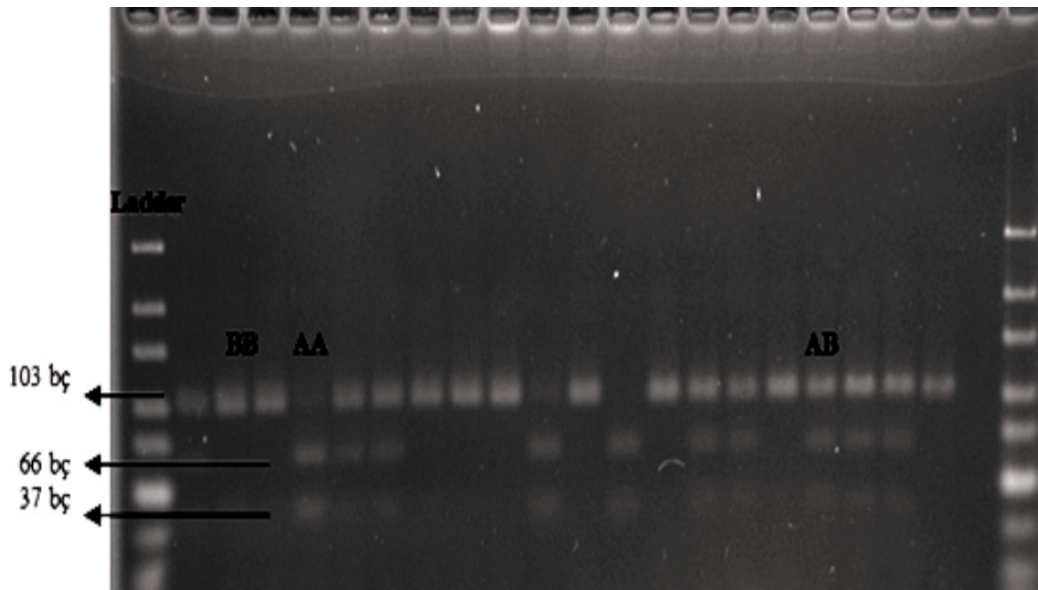
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. β -LGB GENİ BAKIMINDAN GENOTİPLER

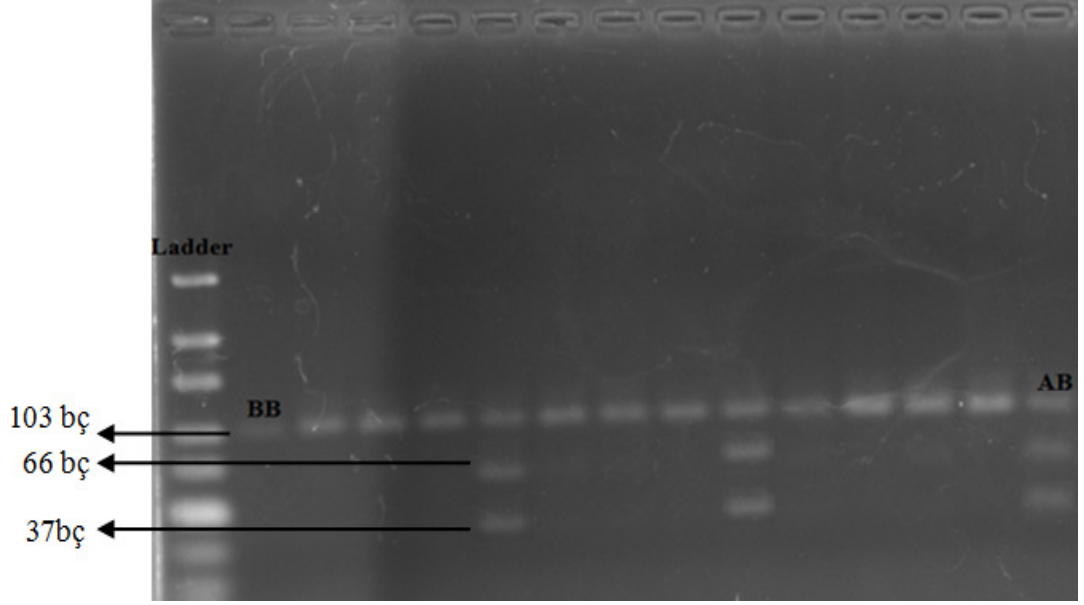
4.1.1. β -LGB Genotiplerine İlişkin Jel Görüntüleri

Çalışma materyali olan ve tüm Çine Çaparı populasyonunu oluşturan 3 sürüdeki bireylere ait DNA örnekleri incelenerek β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotip saptamaya yönelik örnek jel fotoğrafları her üç sürü için ayrı ayrı olarak Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te verilmiştir. Spesifik primer çifti kullanılarak elde edilen 120 bç uzunluğundaki gene ait PCR ürünü DNA parçasının RsaI restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda A alleli için oluşan 66, 37 ve 17 bç uzunluğundaki üç parça ile B aleli için oluşan 103 ve 17 bç uzunluğunda iki parça net bir şekilde ayrılmıştır. Ancak küçük fragmanlar jel üzerinde daha zayıf bantlar oluşturmuş, hatta 17 bç uzunluğundaki çok küçük fragmanlar gözükmemektedir.

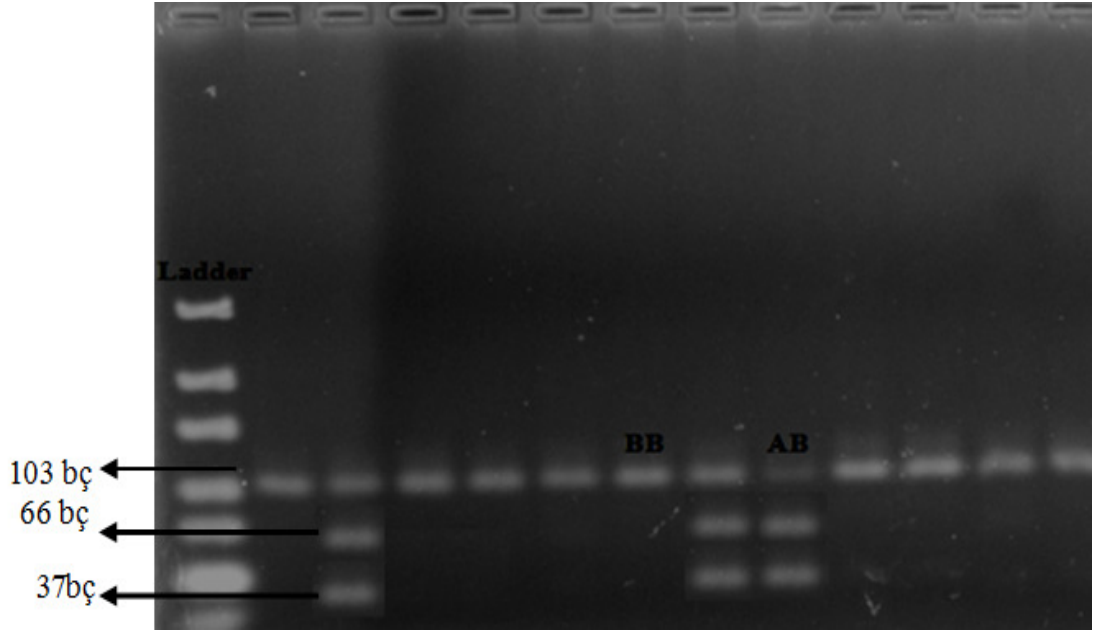
Birçok sürüden alınan hayvanlardan oluşan ADÜ-ÇÇKP sürüsündeki koyunlar için üç genotip (AA, AB ve BB) elde edilirken EA ve MV sürülerinde AA genotipine rastlanmamıştır. MV sürüsündeki bir koyunda (CC-309) PCR sonucunda hedef DNA bölgesi çoğaltılamamıştır. PCR tekrarları da benzer sonuç vermiştir. Dolayısıyla, incelenen toplam 129 baş koyunun ancak 128 başında genotip belirlenebilmiştir.



Şekil 4.1. ADÜ-ÇÇKP koruma sürüsündeki kimi hayvanların β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü

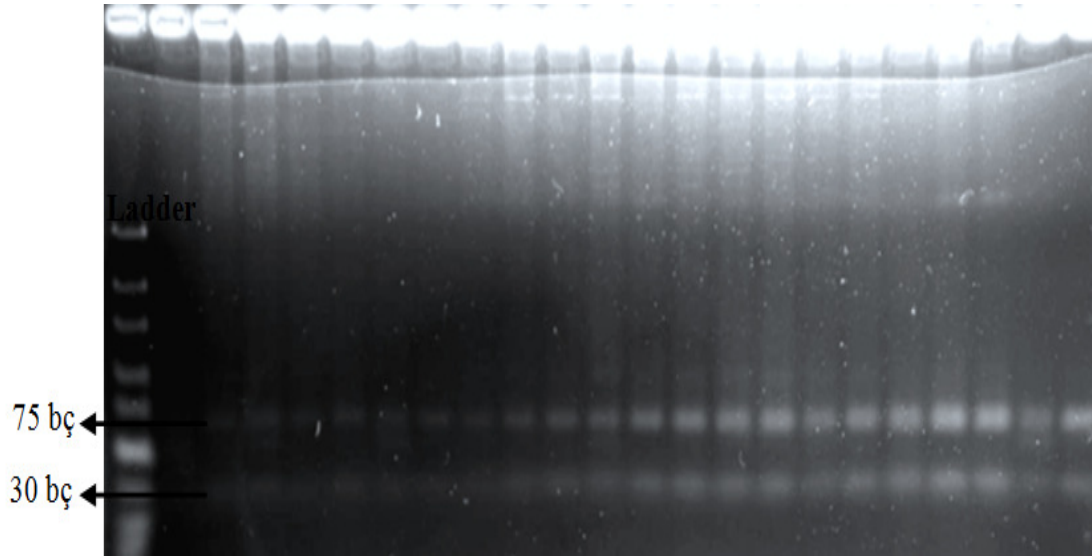


Şekil 4.2. EA sürüsündeki kimi hayvanların β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.3. MV sürüsündeki kimi hayvanların β -LGB geni A ve B alleleri bakımından genotiplerine ait jel görüntüsü

A allelinin bir alt varyantı olan C allelinin belirlenmesi amacıyla yapılan PCR ve enzim kesimi sonrası elde edilen bantlara ait jel fotoğrafı Şekil 4.4'te verilmiştir. A ve B allelerinde yer alan tek kesim noktasından dolayı 105 bç uzunluğundaki PCR ürününden 75 ve 30 bç uzunluğunda 2 parçaya ait bant görüntüleri elde edilmiştir. Bireyler arasında hiçbir polimorfizm gözlenememiştir. C allelinin varlığına yönelik herhangi bir işarete rastlanmamıştır.



Şekil 4.4. ADÜ-ÇÇKP sürüsündeki koyun DNA'larına ait PCR ürünlerinin MspI restriksiyon enzimi ile kesiminin sonucu elde edilen bant görüntüsü

4.1.2. β -LGB Geni Bakımından Gen ve Genotip Frekansları

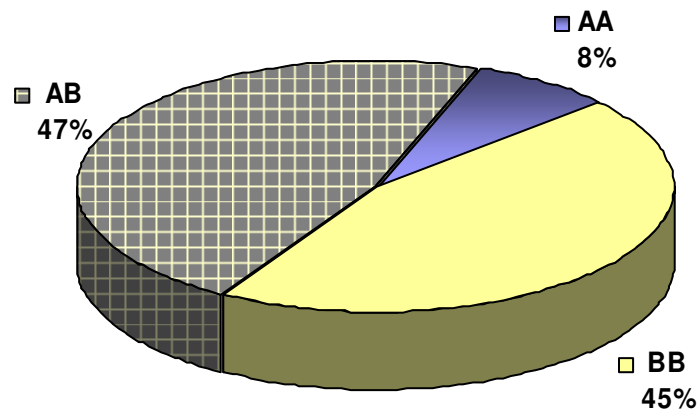
β -LGB geni bakımından C alleli taşıyan bireylere rastlanmadığından AA, AB ve BB genotipleri için elde edilen sayılar kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. β -LGB genotipleri belirlenen 3 sürüdeki koyunlar için ve tüm populasyon için genotiplerin dağılımı ve genotip frekansları Çizelge 4.1'de verilmiştir. AA genotipi sadece ADÜ-ÇÇKP koruma sürüsünde gözlenmiş, diğer iki yetiştiricide ise bu genotipten bireylere rastlanmamıştır. ADÜ-ÇÇKP sürüsünün %12'si, tüm populasyonun ise %7.8 gibi küçük bir kısmı AA genotipli bireylerden oluşmaktadır. ADÜ-ÇÇKP ve EA sürülerinde en yüksek frekans BB alleleline ait iken MV sürüsünde en yüksek

frekans heterozigot (AB) bireylere aittir. Aynı zamanda tüm sürüler içeirsinde BB genotipin frekansı diğer genotiplerden daha yüksektir.

Çizelge 4.1. Çine Çaparı ırkına yönelik 3 sürüde β -LGB geni bakımından genotiplerin dağılımı ve genotip frekansları

Sürü	N	β -LGB Genotiplerinin Sürülere Göre Dağılımı			Sürülere Göre β -LGB Genotip Frekansları		
		AA	AB	BB	AA	AB	BB
ADÜ-ÇÇKP	83	10	33	40	0.120	0.398	0.482
Erdoğan AKTÜRK	32	0	15	17	0	0.469	0.531
Mustafa VURAL	13	0	10	3	0	0.769	0.231
Tüm Sürüler	128	10	58	60	0.078	0.453	0.469

Üç sürüden oluşan ırk kapsamındaki hayvanların tamamını oluşturan populasyonda β -LGB genotiplerinin dağılımına ait grafik Şekil 4.5’de verilmiştir. AA genotipli bireyler popülasyonun yaklaşık %8’ini oluştururken AB ve BB genotipli bireyler biri birlerine benzer oranda sırasıyla popülasyonun %47 ve %45’ini oluşturmaktadırlar.



Şekil 4.5. Çine Çaparı popülasyonunda β -LGB genotiplerinin dağılımı

β -LGB lokusu A ve B allel frekansları 3 sürünün oluşturduğu tüm populasyonda sırasıyla 0.3047 ve 0.6953 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). Tüm sürülerde benzer şekilde B allelinin frekansı A allelinin frekansından oldukça yüksektir.

Çizelge 4.2. Çine Çaparı ırkına yönelik 3 sürüde β -LGB bakımından gen frekansları

Sürü	N	Gen Frekansları	
		β -LG A	β -LG B
ADÜ-ÇÇKP	83	0.3193	0.6807
Erdoğan AKTÜRK	32	0.2344	0.7656
Mustafa VURAL	13	0.3846	0.6154
Tüm Sürüler	128	0.3047	0.6953

Gözlenen ve beklenen genotip sayıları ile Hardy-Weinberg dengesine yönelik χ^2 (ki-kare) analiz sonuçları Çizelge 4.3.'te verilmiştir. Yapılan ki-kare analizi sonucunda Mustafa VURAL'a ait sürü dışındaki diğer iki sürünün Hardy-Weinberg dengesinde olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, 3 sürüyü içeren populasyonun tamamına yönelik analiz sonucunda da populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. β -LGB geni bakımından genotipler ait gözlenen ve beklenen sayılar ile ki-kare (χ^2) analiz sonuçları

Sürü	N	Gözlenen Sayılar			Beklenen Sayılar			$\chi^2_{sd=1}$	P
		AA	AB	BB	AA	AB	BB		
ADÜ-ÇÇKP	83	10	33	40	8.46	36.08	38.46	0.696	0.404
Erdoğan AKTÜRK	32	0	15	17	1.76	11.49	18.76	2.768	0.096
Mustafa VURAL	13	0	10	3	1.92	6.15	4.92	4.500	0.034*
Tüm Sürüler	128	10	58	60	11.88	54.24	61.88	0.551	0.458

*: P<0.05

“Kaynak Özetleri” bölümünde verilen kimi koyun ırklarına yönelik β -LGB gen frekanslarının özetlendiği Çizelge 2.3’e bakıldığında genel itibariyle β -LGB A allelinin frekansı yüksek olmasına karşın Çine Çaparı koyunlarda β -LGB B allelin frekansı (Çizelge 4.2) daha yüksek çıkmıştır.

4.2. KOYUNLARDA SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ

Koyunlarda süt verim özelliklerine ait genel ortalama ile koyun yaşı, doğum tipi ve β -LGB genotipi değişkenlerinin alt seviyelerine göre ortalamalar Çizelge 4.4’te verilmiştir. Genel ortalamalar GOSV, LS ve LSV için sırasıyla 0.521 kg, 159.5 gün ve 81.78 kg’dır. Ele alınan tüm özellikler bakımından koyun yaşı ve doğum tipi istatistiki olarak önemli bir varyasyon yaratmamıştır ($P>0.05$). Önemsiz olmasına karşın yaşla birlikte GOSV artmış ve 5 yaşında pike ulaşmış ve sonrasında yaşlanmayla birlikte düşüşe geçmiştir. Yaşları 5 olan koyunlarda LS’nin kısmen daha kısa olmasına bağlı olarak bu yaş için LSV ortalamasının yakın yaşlara oranla düşük olduğu hariç tutulduğunda GOSV’de olduğu gibi yaşla birlikte LS ve LSV değerlerinde de bir artış ve 6–7 yaşından sonra olağan bir şekilde düşüş olduğu görülebilir. Doğum tipi için elde edilen ortalamalar incelendiğinde ise istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte beklenildiği üzere ikiz doğum yapan koyunlar GOSV, LS ve LSV özelliklerinin her üçü bakımından da tekizlere oranla daha yüksek performans sergilemişlerdir.

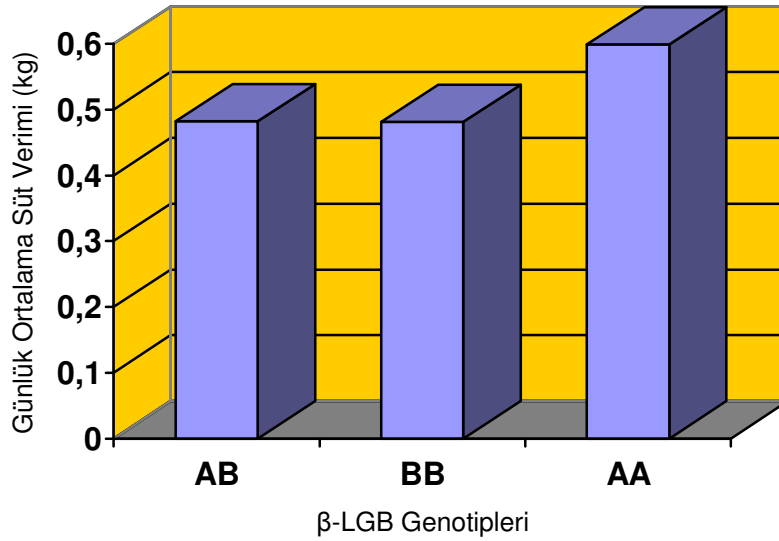
Çizelge 4.4. Süt verim özelliklerine ait en küçük kareler ortalama ve standart hataları

Değişken	N	Günlük Ortalama Süt Ver. (kg)	Laktasyon Süresi (Gün)	Laktasyon Süt Verimi (kg)
Genel Ortalama	40	0.521	159.5	81.78
Koyun Yaşı		Ö.S.	Ö.S.	Ö.S.
2	6	0.469±0.074	127.1±17.6	58.79±10.48
3	10	0.445±0.051	158.3±12.1	72.39± 7.21
4	6	0.567±0.060	165.2±14.2	90.28± 8.46
5	6	0.585±0.062	154.0±14.6	85.62± 8.73
6-7	5	0.559±0.067	183.0±15.9	98.76± 9.51
8	7	0.498±0.055	170.9±13.1	84.81± 7.81
Doğum da kuzu sayısı		Ö.S.	Ö.S.	Ö.S.
Tekiz	33	0.475±0.031	155.5± 7.3	73.56±4.35
İkiz	7	0.566±0.057	164.0±13.5	90.00±8.07
β-LGB Genotipi		Ö.S.	*	*
AA	4	0.599±0.075	184.8±17.8a	104.69±10.61a
AB	21	0.481±0.037	135.9± 8.8b	64.25± 5.28b
BB	15	0.482±0.042	158.5± 9.9ab	76.39± 5.91ab

*: P<0.05, Ö.S.: Önemsiz (P>0.05)

Bu çalışma ile Çine Çaparı ırkı için elde edilen GOSV daha önce aynı ırkta yapılan bir çalışmada (Karaca ve ark., 1999a) bildirilen 333 ml değerinden yüksektir. Benzer şekilde, yörede yetiştirilen Kıvırcık genotipi için bildirilen (Yılmaz ve Altın, 2004) 446.3 ml değerinden de yüksektir. Buna karşın, yine aynı yörede yetiştirilen ve ağırlıklı olarak Sakız x Kıvırcık kanı taşıyan Karya koyunlara ait GOSV değeri olan 617.5 ml değerinden (Karaca ve ark., 1999a) daha düşüktür.

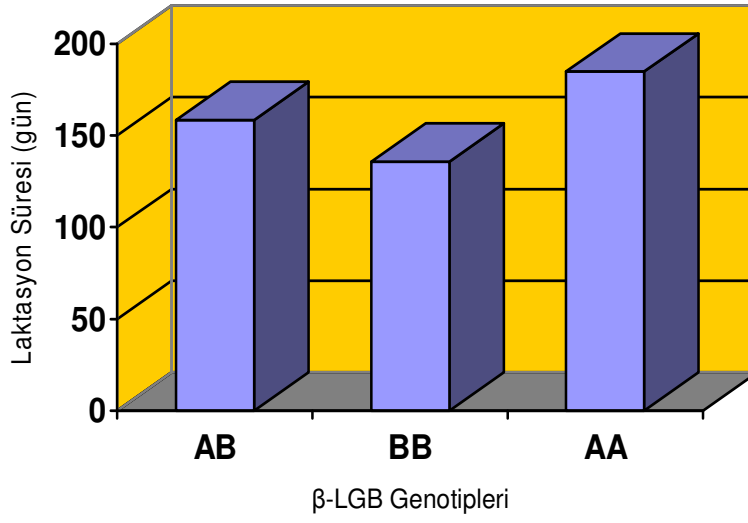
Analiz sonucunda β-LGB genotipleri için elde edilen genotip ortalamaları incelendiğinde GOSV bakımından genotipler arası fark önemli bulunmazken (P>0.05), LS ve LSV bakımından genotipler arası fark istatistiki olarak önemli (P<0.05) bulunmuştur. Her ne kadar GOSV bakımından genotipler arası farklar istatistiki olarak önemli değilse de Şekil 4.6'dan da görüleceği üzere AA genotipli koyunlar diğer 2 genotipe sahip koyunlara göre daha yüksek değer sergilemişlerdir. Ancak AA genotipine sahip birey sayısının sadece 4 birey ile sınırlı olması sağlıklı yorum yapmayı olanaksız kılmaktadır. Ayrıca, AB genotipli bireyler ile BB genotipli bireylerin neredeyse aynı performansı ortaya koymaları da alellerin GOSV üzerine herhangi bir etkisi olmadığına işaret etmektedir.



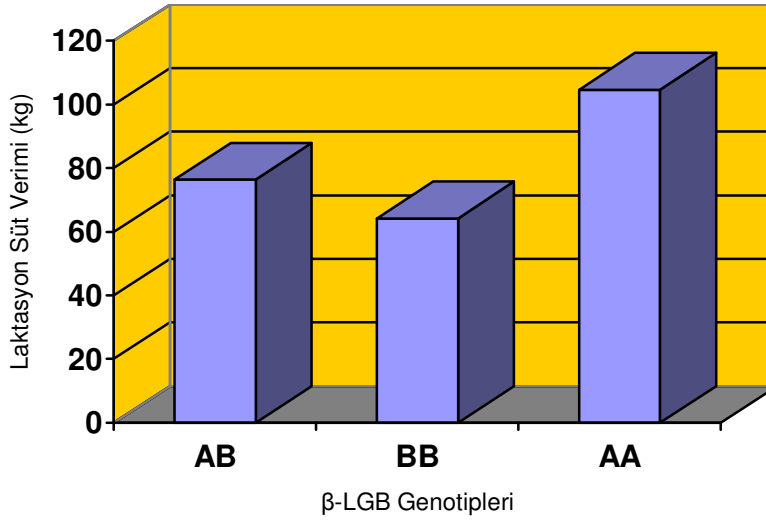
Şekil 4.6. Günlük ortalama süt verimi (GOSV)'nin β -LGB genotiplerine göre değişimi

β -LGB genotiplerine göre LS ve LSV bakımından ortalamalar dikkate alınarak oluşturulan, sırasıyla Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'de yer alan grafikler incelendiğinde her iki özellik için benzer bir profilin ortaya çıktığı görülebilir. Bunun da temel sebebi LSV'nin LS'ne bağlı olarak doğrudan değişmesidir. Genotip grupları arasında LS bakımından mevcut ve istatistiki olarak önemli bulunan fark aynı durumun LSV bakımından da ortaya çıkmasına neden olmuştur. Sütün protein bileşimi üzerine etkili olan β -LGB genotiplerinin LS üzerine etkisine yönelik herhangi bir literatür bildirişine rastlanmamıştır. Örnek sayısının sınırlı olması bu durumun temel sebebi olarak düşünülebilir.

Günümüzde süt proteinlerine ait varyantlar tanımlanmış, bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Süt protein genotipleri ile süt verim ve kalitesi veya sütün ürüne işleme kalitesi arasındaki araştırmalarda farklı farklı sonuçlar alınmıştır. Dolayısıyla β -LGB ve diğer bazı süt protein genlerinin verim ve ürün kalitesi ile ilişkileri net tanımlanamamıştır.



Şekil 4.7. Laktasyon süresi (LS)'nin β-LGB genotiplerine göre değişimi



Şekil 4.8. Laktasyon süt verimi (LSV)'nin β-LGB genotiplerine göre değişimi

5. SONUÇ

Bu araştırmada, yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olan ine aparı koyunlarda β -LGB geni bakımından var olan polimorfizmi PCR-RFLP metodu kullanılarak tanımlanması, mevcut üç sürü (ADÜ-KP, EA ve MV sürüleri) bünyesindeki koyunlarda sürüler içi ve sürüler arası benzerlik ve farklılıkları tanımlayıp, ırkın süt verim potansiyeli ortaya konulmuştur. Çalışma ile elde edilen sonuçları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür:

- Türkiye’de koyun popülasyonlarında β -LGB polimorfizmine yönelik DNA düzeyinde sınırlı sayıda yapılan araştırmalarda β -LGB bakımından polimorfizm olduğu görülmüştür. β -LGB lokusunda β -LGB A ve β -LGB B olmak üzere 2 allel saptanmış olup en yaygın olanı β -LGB B alleli dir. Diğer kimi yerli ırklara benzer şekilde ine aparı koyunlarda da β -LGB geninin sadece A ve B alleleri tesbit edilmiş, C alleleline rastlanmamıştır (izelge 4.2).
- İncelenen 129 baş ine aparı koyunun 128 başında genotip tayini yapılmış, 1 baş koyunda (MV isimli yetiştiriciye ait CC-309 nolu koyun) ise her iki primer çifti için de bant oluşmadığından genotip tayini yapılamamıştır. Üst üste yapılan denemelerde bu koyun için bant elde edilememiştir. DNA ekstraksiyonunda problem olacağı düşünülerek bu hayvana ait DNA örneği jelde yürütölmüş ve bir problem olmadığı tesbit edilmiştir. Elde edilen sonuç, bu bireyin anılan lokusta farklı bir baz dizilime sahip olabileceği kuşkusunu uyandırmaktadır. Allellerin ayrımı için kullanılan primerlerin bağlandığı bölgede olası bir mutasyondan dolayı primerlerin bağlanamaması olasılıklar arasındadır. Daha sonra yapılacak bir çalışma ile bu bölgenin DNA diziliminin çıkartılıp incelenmesi bu sonucun aydınlatılmasını sağayacaktır.
- β -LGB allel frekansları A ve B alleleri için sırasıyla 0.3047 ve 0.6953 olarak bulunmuştur. Dünyadaki koyun ırklarının çoğunda β -LGB A allelinin frekansı yüksek olmasına karşın az sayıda diğer ırka benzer şekilde ine aparı koyunlarda β -LGB geninin B allelinin frekansı daha yüksek çıkmıştır.

- Yapılan ki-kare analizi sonucunda ADÜ-ÇÇKP ve EA sürülerinin Hardy-Weinberg dengesinde, MV sürüsünün ise dengede olmadığı anlaşılmıştır. Hardy-Weinberg dengesinde olmayan MV sürüsü en az hayvana sahip sürüdür. Sürünün kendilenmiş olma olasılığı da söz konusudur.
- Az sayıda bireye dayalı olsada ırkın süt verim yeteneğine yönelik bilgiler elde edilmiştir. Süt verim özellikleri olarak alınan GOSV, LS ve LSV için genel ortalamalar için sırasıyla 0.521 kg, 159.5 gün ve 81.78 kg olarak tespit edilmiştir. Bu değer yerli ırklara ait değerlerle benzeşmektedir.
- β -LGB genotipleri söz konusu olduğunda GOSV bakımından genotipler arası fark önemli bulunmazken, LS ve LSV bakımından genotipler arası fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. LS ve LSV bakımından genotipler sıralandığında homozigotlar heterozigotlardan yüksek ortalamaya sahiptir (AA>BB>AB). LSV bakımından genotipler arası önemli bulunan bu farkın genotiplere ait LS farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.
- Genotipler ile süt verim özellikleri arası ilişkilerin daha güvenilir şekilde ortaya konabilmesi için daha fazla hayvanda performans tanımlaması gereklidir. Bundan da önemlisi genotipler ile süt kalitesi ve özellikle protein içerik ve bileşimi arasındaki ilişkiler araştırılmalıdır. Bu kapsamda sütün süt ürünlerine işlenme kalitesi ile de ilişkiler araştırılabilir.
- Hayvan sayısı sınırlı olan EA ve özellikle MV sürülerinde çiftleşme programlarında daha fazla erkek bireye çiftleşme şansının tanınması ve sürüler arası hayvan transferlerinin daha da artırılması önerilmektedir.
- β -LGB lokusu için elde edilen bilgiler ırkın korunma sürecinde referans olarak kullanılabilir. İleriki yıllarda yapılacak benzer çalışmalar için karşılaştırma yapma ve geçen süreçteki gen ve genotip frekanslarındaki değişimi ortaya koyma ve koruma etkinliklerini buna göre yönlendirme şansı tanıyacaktır.

- Günümüzde süt protein genotiplerinin tespitinde DNA analizleri üründeki proteinlerin ayrştırılmasına dayalı genotip tayininin büyük oranda yerini almıştır. DNA analizleri ile proteinleri kodlayan genlerin allelleri yüksek bir doğrulukta tespit edilebilmektedir.
- β -LGB ve kimi diğer süt protein genotipleri ile süt verim ve kalitesi ile sütün ürüne işleme kalitesi arasındaki ilişkilerin tanımlanmasına yönelik çalışmalarda değişken sonuçlar alınmış, çok net yargılar ortaya konamamştır. Süt protein genotipleri ile verim performansı ve ürün kalitesi arası ilişkilerin net tanımlanabilmesi durumunda bu genotiplere ait bilgiler de ıslah programlarına dahil edilebilirler.

KAYNAKLAR

- Altın, T., 2001. Koyunlarda Süt Veriminin Laktasyon Boyunca Değişimi ve Farklı Yöntemlere Göre Tahmin Edilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, **Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)**, 2001, 11(2):1-7.
- Amigo, L., Recio, I., Ramos, M., 2000. Genetic Polymorphism of Ovine Milk Proteins: Its Influence on Technological Properties of Milk - A Review. **International Dairy Journal** 10, 135–149.
- Anton, I., Zsolnai, A., Fésus, L., 1999. Identification of the Variant C of β -Lactoglobulin in Sheep Using a Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Method. **J. Anim. Breed. Genet.** 116: 525–528.
- Barillet, F., Sana, S., Boichard, D., Astruc, JM, Carta, M., Casu, S., 1993. Genetic evaluation of the Lacaune, Manech and Sadra Dairy Sheep with Animal Model. **J Anim Prod** 1(Suppl): 580–607.
- Barillet, F., Arranz, J.J., Carta, A., 2005. Mapping Quantitative Trait Loci for Milk Production and Genetic Polymorphisms of Milk Proteins in Dairy Sheep. **Genet. Sel. Evol.** 37 (Suppl. 1), 109–123.
- Binbaş, P., 2006. Çine Çaparı Koyunlarda Genetik Çeşitliliğin RAPD Yöntemi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Bochkarev, VV., 1998. The Molecular Analysis of β -lactoglobulin Locus in the Different Sheep Breeds. PhD. Thesis. Moscow University.
- Bolla, P., Caroli, A., Mezzelani, A., Rizzi, R., Pagnacco, G., Fraghi, A., Casu, S., 1989. Milk Protein Markers and Production in Sheep. **Anim Gen.** 20: 78.
- Bylund G., 2003. Dairy Processing Handbook. 2nd Ed., 440. Tetrapak, Sweden.
- Çak, B., Küçük, M., 2005. Renkli Tiftik Keçilerinde Hemoglobin ve Transferrin Tipleri. **YYÜ Vet. Fak. Der.**, 16 (2): 65-69.
- Dario, C., Carnicella, D., Dario, M., Bufano, G., 2008. Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene and effect on milk composition in Leccese sheep. **Small Ruminant Research** 74: 270–273.
- Doğru, Ü., Dayıoğlu H., Aksoy A., 1997a. Esmer, Siyah-Alaca, Sarı-Alaca Sığır Irklarının Süt Proteinleri Bakımından Genetik Yapısı. **Atatürk Üniv. Zir. Fak. Der.** 28 (1), 12-20.

- Doğru, Ü., Dayıoğlu, H., Doğrul, F., 1997b. Esmer, Siyah-Alaca, Sarı-Alaca ve Doğu Anadolu Kırmızısı Sığır Irklarının bazı Polimorfik Kan (Tf, Hb) Gen Etkileri Üzerine Araştırmalar. **Atatürk Ü. Zir. Fak. Der.** 28 (3), 340-353.
- Doğan, M., Kaygısız, A., 1996. Türkiye'deki İsviçre Esmer Sığırlarda Süt Protein Polimorfizmi ile Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler. **Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences** 23 (Ek Sayı 1), 47-49.
- Düzgüneş, O., 1990. Hayvancılıkta Genetik Kaynaklar. Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayınları, Ankara.
- Düzgüneş, O., Eliçin, A., Akman, N., 1991. Hayvan ıslahı. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1212. A.Ü.Ziraat Fakültesi Ofset Ünitesi. Ankara.
- Elmacı, C., Öner, Y., Balcıoğlu, M., S., 2006. Genetic Polymorphism of β -Lactoglobulin Gene in Native Turkish Sheep Breeds. **Biochemical Genetics**, Vol. 44, Nos. 7/8, August.
- Elmacı, C., Öner, Y., Koyuncu, M., 2008. Saanen Keçilerinde β -laktoglobulin Genotiplerinin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. **Hayvansal Üretim** 49(1): 1-4, Uludağ.
- Erhardt, G., 1989. Evidence for a third allele at the β -lactoglobulin (BLg) locus of sheep milk and its occurrence in different breeds. **Anim Genet.** 20: 197–204.
- Ertuğrul, M., G. Dellal, C. Elmacı, O. Akın, O. Karaca, T. Altın ve İ. Cemal, 2005. Hayvansal Gen Kaynaklarının Koruma ve Kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI Teknik Kongresi, 3–7 Mart 2005, Ankara.
- Feligini, M., Parma, P., Aleandri, R., Greppi, G.F., Enne, G., 1998. PCR-RFLP Test for Direct Determination of β -Lactoglobulin Genotype in Sheep. **Animal Genetics** 29, 460–477.
- Garzon, A.I., Martinez, J., 1992. β -lactoglobulin in Manchega Sheep Breed: Relationship with Milk Technological Index in Mandcraft Manufacture of Manchego Cheese. XXIII Int Conf Anim Genet. Thenameis OK. PP: 137.
- Harris, S., Ali, S., Anderson, S., Archibald, A.L. and Clark, A. J., 1988. Complete nucleotide sequence of the genomic ovine β -lactoglobulin gene. **Nucleic Acids Res.**, 16 (21): 10379 - 10380.
- Jandurova, O.M., Kott, T., Kottova, B., Czernekova, V., Milerski, M., 2005. Genetic Relationships Among Sumava, Valachian and Improved Valachian sheep. **Small Ruminant Research** 57: 157–165.
- Karaca, O. ve Cemal, İ., 1998. Batı Anadolu Koyunculuda Genetik Kaynakların Korunma ve Kullanımı. Ege Bölgesi 1.Tarım Kongresi, s.573-582,7-11 Eylül 1998, ADÜ Ziraat Fakültesi, Aydın.

- Karaca, O., Cemal, İ., Atay, O., 1999a. Ekstansif koyunculuk işletmelerinde döl ve süt verim performansları bakımından yetiştirici bildirimlerinden yararlanabilme olanakları. Uluslararası Hayvancılık'99 Kongresi, s.552-557, 21-24 Eylül 1999, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- Karaca, O., Çetiner, Ş., Cemal, İ., 1999b. Çine Çaparı koyunların kimi özellikleri ve genetik kaynak olarak korunması olanakları. Uluslararası Hayvancılık'99 Kongresi, s.558-563, 21-24 Eylül 1999, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- Karaca, O., Akyüz, N., Andiç, S., Altın, T., 2002. Karakaş Koyunların Süt Verim özellikleri. **Turk J Vet Anim Sci** 27 (2003) 589–594, Tübitak.
- Karaca, O., İ. Cemal ve T. Altın, 2004. Yerli Çine Çaparı Koyun Irkının Genetik Kaynak Olarak Korunması Çalışmaları. 4. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, 01-03 Eylül 2004, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Cilt 1 (Sözlü Bildiriler), s.33-38.
- Karaca, O., Cemal, İ., 2005. Gen kaynağı olarak risk altındaki yerli koyun ırklarımızdan: Çine Çaparı. **HASAD Hayvancılık**, 20, 239: 14-20.
- Kaygısız, A., Doğan, M., 1999. Siyah Alaca ineklerde Süt Protein Polimorfizminin Genetiği ve Süt Verim Özellikleri ile ilişkisi. **Turk J Vet Anim Sci**, 23 (Ek Sayı 3), 447–454.
- Kaygısız, A., 2000. Sarı Alaca Sığırların İslahında Süt Proteini Polimorfizminden Yararlanma İmkanları. (98-8-18) Nolu Proje Kesin Raporu, Kahramanmaraş.
- Kaymakçı, M., Sönmez, R., 1992. Koyun Yetiştiriciliği, Hasat Yayıncılık, Hayvancılık Serisi:3, İstanbul, 405s.
- Kolde, H. J., Braunitzer, G., 1983. The primary structure of ovine beta-lactoglobulin, 2: Discussion and genetic aspects. **Milchwissenschaft** 38:70-72.
- Mele M., Conte G., Serra A., Buccioni A., Secchiari P.: Relationship between betalactoglobulin polymorphism and milk fatty acid composition in milk of Massese dairy ewes. **Small Ruminant Research.**, 2007; 73 (1-3): 37-44.
- Miller, S.A., D.D. Dykes and H.F. Polesky, 1988. A Simple Salting out Procedure for Extracting DNA from Human Nucleated Cells. **Nucleic Acids Res.** 16(3): 1215.
- Mohammadi, A., Nassiry, M., R., Elyasi, G., Shodja J., 2006. Genetic Polymorphism of β -lactoglobulin in Certain Iranian and Russian Sheep Breeds. **Iranian Journal of Biotechnology**, Vol. 4, No. 4, October 2006.
- Moioli, B., Pilla, F., Tripaldi, C., 1998. Detection of Milk Protein Genetic Polymorphisms in Order to Improve Dairy Traits in Sheep and Goats: a review. **Small Ruminant Research** 27, 185-195.

- Moioli, B., D'Andrea, M., Pilla, F., 2007. Candidate Genes Affecting Sheep and Goat Milk Quality. **Small Ruminant Research** 68, 179-192.
- Montgomery, G.W. and J.A. SISE, 1990. Extraction of DNA from Sheep White Blood Cells. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 33: 437-441.
- Nassiry, M.R., Shahroudi, F.E., Tahmoorespur, M., Javadmanesh, A., 2007. Genetic Variability and Population Structure in Beta-Lactoglobulin, Calpastain and Calpain Loci in Iranian Kurdi Sheep. **Pak. J. Biol. Sci.** 10: 1062-1067.
- Recio, I., Fernandez-Fournier, A., Martin-Alvarez, PJ., Ramos, M., 1997. β -Lactoglobulin Polymorphism in Ovine Breeds: Influence of Cheese Making Properties and Milk Composition. **Lait** 77: 259-265.
- Sönmez, R., 1974. Koyunculuk ve Yapağı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 108, İzmir.
- Sönmez, R., Ç. Koçak ve M. Kaymakçı, 1988. Zootečni Uygulamaları. E Ü Zir. Fak.Yay. No:289, İzmir. 165s.
- Yeh, F.C., Yang, R-C., Boyle, T.B.J., Ye, Z-H., and Mao, J.X., 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. University of Alberta, Canada (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe>).
- Yılmaz, M., Altın, T., 2004. Yetiştirici Koşullarında Kıvırcık Koyunların Süt Verim Yetenekleri. 4. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, 01-03 Eylül 2004, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Cilt 1 (Sözlü Bildiriler), s.263-271.
- Yüce, H., Bilgen, G., 2004. Bornova Tipi Keçilerde Kan Proteinleri Polimorfizmi ile Bazı Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler. Ege Üniv. Zir. Fak., **Hayvansal Üretim**, 45(2): 28-32.

EK-1**DNA İZOLASYONUNDA KULLANILAN ÇÖZELTİLER**

100 ml 1M Tris-HCl Çözeltisi (pH:8,0)

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

100 ml 100mM EDTA Çözeltisi (pH:8,0)

2,923 gr EDTA tartılıp saf su ile 80 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı NaOH (sodyum hidroksit) ile 8,0'aya ayarlanıp saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

500 ml T₁₀E₁₀ Çözeltisi (pH:8,0)

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

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

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

500 ml T₁₀E₁ Çözeltisi

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

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

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

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

11,69 gr NaCl

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

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

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

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

1 ml Proteinaz K

0,1 gr SDS

2 ml 100mM EDTA

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

25 ml %10 SDS Çözeltisi

2,5 gr SDS saf su ile 25 ml'ye tamamlanarak çözdürülür.

100 ml 6M NaCl Çözeltisi

35,064 gr NaCl tartılıp 100 ml saf suda çözdürülür.

500 ml %70'lik Etanol Çözeltisi

364,60 ml %96'lık Etanol 500 ml'ye tamamlanıp karıştırılır.

EK-2**ELEKTROFOREZ AŞAMASINDA KULLANILAN ÇÖZELTİLER**

DNA Ladder

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

TBE 5X Çözeltisi (pH:8,3)

54 gr Tris-Base
27,5 Borik Asit
20 ml 0,5 M EDTA (pH: 8,0)
Çözelti hazırlandıktan sonra 800 ml'ye tamamlanarak pH'ı 8,3'e ayarlanır.
pH'ı ayarlanan çözelti 1000 ml'ye tamamlanır.

Ethidyum Bromide Çözeltisi

10µl Ethidyum Bromide
1900µl Deiyonize su

EK-3

KOYUNDA β -LACTOGLOBULİN GENİN TAM NÜKLEOTİD DİZİLİMİ (TOPLAM 7379 BÇ)

(Harris ve ark., 1988; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>)

```

1  gtgctcagca acacaccag caccagcatt cccgctgctc ctgaggtctg caggcagctc
61  gctgtagcct gagcgggtg gaggggaagtg tcctgggaga tttaaaatgt gagagggcggg
121 aggtgggagg ttgggccctg tgggcctgcc catcccacgt gcctgcatta gccccagtgc
181 tgctcagccg tgccccgcc gcaggggtca ggtcactttc cctgcctggg gttattatga
241 ctcttgatcat tgccattgcc atttttgcta ccctaactgg gcagcaggtg cttgcagagc
301 cctcgatacc gaccaggtcc tccctcggag ctgcacctga accccatgtc acccttgccc
361 cagcctgcag aggggtgggtg actgcagaga tcccttcacc caaggccacg gtcacatggg
421 ttggaggagc ttggtgccaa ggcagaggcc accctccagg acacacctgt ccccagtgtc
481 ggctctgacc tgtccttgc taagaggctg accccggaag tgttctggc actggcagcc
541 agcctggacc cagagtcacg acaccacct gtgccccgc ttctggggtc taccaggaac
601 cgtctaggcc cagaggggga ctctctgctt ggccttggat ggaagaaggc ctccatttgt
661 cctcgtagag gaagccacc cggggcctga ggatgagcca agtgggattc cgggaaccgc
721 gtgctggggg gccagcccg ggctggctgc cctgcatgag cctcctgtat aaggcccaa
781 gcctgcctgt ctcagccctc cactccctgc agagctcaga agcacgacct cagctcagc
841 catgaagtgc ctctgcttgc ccctggcctt ggccctcgcc tgtggcgtcc aggccatcat
901 cgtcaccagc accatgaaag gcctggacat ccagaaggtt cgagggttgg cggggtgggt
961 gagttgcagg gcgggcaagg gagctgggcc tcagagagcc aagagaggct gtgacgttgg
1021 gttcccacatca gtcagctagg gccacctgac aaatccccgc tggggcagct tcaaccaggc
1081 gttcactgtc ttgcattctg gaggetggaa gcccaagatc caggtgttgg cagggctggc
1141 ttctcctgag gccgctctct ggggagcaga cggccgtctt ctccagctct ctgcgcgccc
1201 tgatttctc ttcctgtgag gccaccaggc ctgctggaaa cacgctgccc tgcgcagctt
1261 cacacgacct ttgtcatctc tttaaaggcc atgtctccag agtcatgtgt tgaagtctctg
1321 ggggttagtg ggacacagtt cagcccctaa aagagtctct ctgcccctca aattttcccc
1381 acctccagcc atgtctcccc aagatccaaa tgttgctaca tgtggggggg ctcatctggg
1441 tccctctttg ggttcagtgt gagtctgggg agagcattcc ccagggtgca gagttggggg
1501 gatatctca gggctgccc ggcgggggtg ggacagagag gccactgtgg ggtcggggc
1561 cccctccac ccccagagtga▶caactcaagg tccctctcca ggtggcgggg acttggcact
1621 ccttggctat gggggccagc gacatctccc tgctggatgc ccagagtgcc cccctgagag
1681 tgtacgtgga ggagctgaag◀cccaccccc agggcaacct ggagatcctg ctgcagaaat
1741 ggtgggcgtc tctccccac atggaacccc cactcccag ggctgtggac cccccggggg
1801 gtgggtgca ggagggacca gggcccagg gctggggaag agggctcaga gtttactggg
1861 accggcgct ccaccaagg ctgcccacc agggctttt tttttttaa acttttatta
1921 atttgatgct tcagaacatc atcaacaaa tgaacataaa acattcattt ttgttactt
1981 ggaaggggag ataaaatcct ctgaagtgga aatgcatagc aaagatacat acaatgaggc
2041 aggtattctg aattccctgt tagtctgagg attacaagtg tatttgagca acagagagac
2101 attttcatca tttctagtct gaacacctca gtatctaaaa tgaacaagaa gtccctggaaa
2161 cgaagcagtg tgggatagg cccgtgtgaa ggctgctggg aggcagcaga cctgggtctt
2221 cgggctcaag cagttcccgc taccagccct gtccacctca gacgggggtc aggggtcagg
2281 agagagctgg atgggtgtgg gggcagagat ggggacctga accccagggc tgcccttttg
2341 ggggtcctgt ggtcaaggct ctccctgacc tttctctct ggcttcatct gacttctct
2401 ggcccatcca cccggtcccc tgtggcctga ggtgacagtg agtgcgccga ggctagtggg
2461 ccagctggct cctatgccc tgccacccc ctccagccct cctgggcccag cttctgcccc
2521 tggccctcag ttcatcctga tgaaaatgg ccatgccaat ggctcagaaa gcagctgtct
2581 ttcagggaga acggcgagtg tgctcagaag aagattattg cagaaaaaac caagatccct
2641 gcggtgttca agatcgatgg tgagtccggg tccctggggg acaccacca ccccccccc
2701 cgggactgt ggacaggtc aggggctgg cgtcgggcc ttggatgcta agggactggg
2761 ggtgatgaag acactgcctt gacacctgct tcaactgct cccctgccac ctgcccgggg
2821 ccttggggcg gtggccatgg gcaggtccc gctggcgggc taaccacca gggtagacc
2881 cgagctctct ttgctgggg gcgggcggtg ctctgggcc tcaggctgag ctcaggaggt
2941 acctgtgcc tcccaggggt aaccgagagc cgttgcccac tccaggggct caggtgccc
3001 acgaccacag cccgctccac agctcctca tctcctggag acaaacctctg tccgcccctg
3061 ctcatctact tgttcgtcct aaatccgaga tgataaagct tcgagggggg gttgggggtc
3121 catcagggt gcccttcgc cgggcagctt gggccacatc tgccctggc cccctcagga
3181 ctcaactctga ctggagccc ctgactgact gacgcaaggg tgcccagccc aggtctctg
3241 gcgcatcca gctgcaactg gtttgggtgc ttgctcctgcc ccaagctgc cggacacca
3301 caggcagccg gggctgccc ctggcctcgg tcagggtgag cccagctgc cccgctcag
3361 ggcttgcctc gacaatgacc ccatcctcag gacgacccc ccttcccttg ctgggagtg
3421 tccagcccca cccgagatcg ggggaagccc tatttcttga caactccagt ccctggggga

```

3481 gggggcctca gactgagtgg tgagtgttcc caagtccagg aggtggtgga gggctctggc
3541 ggatccagag ttgacagtga gggcttcctg ggccccatgc gcctggcagt ggcagcaggg
3601 aagaggaagc accatttcag ggggtgggga tgccagaggc gctccccacc ccgtcttcgc
3661 cgggtggtga cccccgggga gccccgctgg tcgtggaggg tgctgggggc tgactagcaa
3721 cccctcccc cccgttgaa ctacitttc tcccccttg accggtcca gccttgaatg
3781 agaacaaagt ccttgtgctg gacaccgact acaaaaagta cctgctcttc tgcatggaaa
3841 acagtgtgca gcccagcaa agcctggcct gccagtgcct ggggtgggtg caacctggc
3901 tgcccaggga gaccagctgc gtggctcttg ctgcaacagg ggggtggggg tgggagcttg
3961 atccccagga ggaggagggg tggggggtcc ctgagtcccg ccaggagaga gtggtcgcac
4021 accgggagcc agtctgctgt gggcctgtgg gtggctgggg acgggggcca gacacacagg
4081 ccgggagacg ggtgggtgc agaactgga ctgggtgtgac cgtcgcatg gggccgtgg
4141 tgactgaatc taacagcctt tggtagaatt cgacaaaat gagtttcaat taattccaa
4201 caggtacaaa gccatctttc aactacaca tcctgaaaac aaatggcagg tgacatcttc
4261 tgtgccgtag cagtcccact gggcattttc agggcccctg tgccaggggg gcgcgggcat
4321 cggcgagtgg aggctcctgg ctgtgtcagc cggcccaggg ggaggaaggg acccggacag
4381 ccagaggtgg ggggcaggct tccccctgt gacctgcaga cccactgcac tgccctggga
4441 ggaagggagg ggaactaggc caaggggaa gggcaggtgc tctggagggc aagggcagac
4501 ctgcagacca cctggggag cagggactga cccccgtccc tgccccatag tcaggacccc
4561 ggaggtggac aacgagccc tgagaaatt cgacaaaagcc ctcaagccc ctcccagca
4621 catccgctt gccttcaacc cgaccagct ggagggtgag caccagggcc ccgcccctcc
4681 ccagggcagg agccaccgg cccccggacg acctcctccc atggtgacc ccagctcccc
4741 aggcctcca ggaggaagg gtgggtgca gcaccctgt ggggcccct ccccacccc
4801 tgccaggcct ctctcccg ggtgtccagt cccatcctga ccccccatg actctccctc
4861 ccccacagg cagtgccacg tctaggtgag cccctgccgg tgctctggg gtaagctgcc
4921 tcccctgcc cacgtcctgg gcacacacat ggggtagggg gtcttgggg ggcctgggac
4981 gccacatcag gccctgggg cccccctgtg agaatggctg gaagctgggg tccctcctgg
5041 cgactgcaga gctggctggc cgcgtgccac tcttggggg gacctgtgtc ctggcctcac
5101 aactgacct cctccagctc ctccagcag agctaaggct aagtgagcca gaatggtacc
5161 taagggagg ctagcgtcc tctcccag gagggtctgt cctggaacca ccagccatgg
5221 agaggctggc aagggtctgg cagggtcccc agaatcaca ggggggccc atgtccatt
5281 cagggcccgg gaccttga ctctctggg gacagacgac gtcaccacc cccccccc
5341 atcagggga ctagaaggga ccaggactgc agtcaccctt cctggacc ccagccctcc
5401 agcccctcc tgggctcct gctctgggca gcttctcctt caccaataaa ggcataaacc
5461 tgtgctctcc ctctgagtc tttgctggac gacgggcagg ggggtggaga gtggtgggga
5521 gggagtctgg ctccagagat gacagcggg ctgggatcca gggcgtctgc atcacagtct
5581 tgtgacaact gggggcccac acacatcact gcggtcttt gaaacttca ggaaccaggg
5641 agggactcgg cagagacatc tgccagtta cttggagtgt tcagtcaaca cccaaactcg
5701 acaaggaca gaaagtggaa aatggctgtc tcttagtcta ataatattg atatgaact
5761 caagttgctc atggatcaat atgcctttat gatccagcca gccactactg tcgatcaac
5821 tcatgtacct aaacgcaact atctgtctgg ctaatgatga gagattccca gtagagagct
5881 ggcaagaggt cacagtgaga actgtctgca cacacagcag agtccaccag tcatcctaag
5941 gagatcagtc ctggtgttca ttggaggact gatgttgaag ctgaaactcc aatgctttgg
6001 ccacctgatg tgaagagctg actcatttga aaagacctg atgctgggaa agattgaggg
6061 caggaggaga aggggacgac agaggatgag atggttggat ggcatacca acacaatgga
6121 ctgggtttg ggtggactcc aggagtggg gatggacagg gaggctggc atgctacgga
6181 agcggtttat ggggtcacia agactgagtg actgaaactga gctgaaactga atggaaatga
6241 ggtatacagc aaagtgggga ttttttagat aataagaata tacacataac atagtgtata
6301 ctcatatctt tatgcatacc tgaatgctca gtcactcagt cgtatctgac tctgtgacct
6361 atggaccgta gccttccagg tttctctgt ccacagaatt ctccaaggca agaatactgg
6421 agtgggtagc ctttctctcc tccaggggat cctcccgacc cagggattga accggcatct
6481 cctgtattgg caggtggatt ctttaccact gtgcccacc ggaagcccgt gttactctct
6541 atgtcccact taattaccaa agctgtccca agaaaaagcc cctgtcccct ctgagcttcc
6601 cggcctgcag aggggtgtgg gggtagactg tgacctggga acacctccc gcttcaggac
6661 tcccgggcca cgtgaccac agtctctgac acagccgggt agctctgctc tcaaggctc
6721 attatcttta aaaaaactg aggtctatt tgtgacttcg ctgcccgaac ttctgaacat
6781 ccagtgcgat ggacaggacc tcctcccag gcctcagggg cttcagggag ccagccttca
6841 cctatgagtc accagacact cgggggtggc cccgcttca ggggtgtcac agtcttccca
6901 tctgctgat caaagagcaa gaccaatgac tcttaggag caagcagaca cccacaggac
6961 actgaggttc accagagctg agctgtcctt ttgaacctaa agacacacag ctctcgaagg
7021 tttctcttt aatctggatt taaggcctac ttgcccctca agaggggaaga cagtctgca
7081 tgtcccagc acagccactc ggtggcatcc gaggccactt agtattatct gaccgcacc
7141 tggaaatfaat cggtcctaac tggacaaaaa ccttgggtgg aagttcatc ccagaggcct
7201 caaccatcct gctttgacca ccctgcatct tttttcttt tatgtgtatg catgtatata
7261 tatatatata ttttttttt tttcatttt ttgctgtgct ggctgtctgt tgcatctgg
7321 tgccagggct tctctctagt ttctctctag tcttctcta tcacagaaga gtctctaga

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fatih ERDOĞAN
Doğum Yeri ve Tarihi : ERZURUM-1982

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İLETİŞİM

E-posta Adresi : fat.erdogan@gmail.com
Tarih : 29.12.2009