T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRK HOLSTEİN BOĞALARININ FASN GENİ VARYANT GENOTİPLERİ İLE ETİN YAĞ ASİTLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

HİLAL ARSLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. SÜLEYMAN KÖK

EDİRNE-2023

HİLAL ARSLAN'ın hazırladığı "**TÜRK HOLSTEİN BOĞALARININ FASN GENİ VARYANT GENOTİPLERİ İLE ETİN YAĞ ASİTLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:	İmza
Doç. Dr. Süleyman KÖK (Danışman)	……
Prof. Dr. Ümit GEÇGEL	……
Doç. Dr. Gökhan KAÇAR	……

Tez Savunma Tarihi: 12/01/2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

	İmza
Doç. Dr. Süleyman KÖK Tez Danışmanı	……
Öğr. Gör. Dr. Sertaç ATALAY İkinci Tez Danışmanı	……

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

……

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

12 / 01 / 2023

Hilal ARSLAN

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Türk Holstein Boğalarının FASN Geni Varyant Genotipleri ile Etin Yağ Asitleri Arasındaki İlişki

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı

ÖZET

Tüketici beğenisi, etin kalitesine ve aromasına bağlıdır. Etin kalitesini etkileyen birçok unsur vardır. Bunlardan birisi de etteki mermerleşme oranıdır. Ancak sığır eti kalitesi yalnızca mermerleşme oranına değil aynı zamanda etin yağ asidi bileşimine de bağlıdır. Sığır etinde kas içi dokusunun yağ asidi bileşimi, sığır eti endüstrisinde önemli hale gelmiştir. Bol miktarda tekli doymamış yağ asidi (MUFA) içeren yağ dokusu, daha düşük bir erime noktası verir. Bu da sığır eti aromasına ve gevrekliğine olumlu katkıda bulunur. Sığır eti yağ dokusunda, en yüksek oranda bulunan yağ asidi oleik asittir. Etin lezzetine önemli bir katkı sağlamaktadır. Etlerdeki daha yüksek oranda oleik asit içeriğinin, sığır eti lezzetine olumlu olarak etki ettiği çalışmalarda gösterilmiştir. Daha gevrek sığır etinin daha yüksek doymamış yağ asidi içerdiği ve bu tip fenotipik özellikteki sığırların daha yüksek et kalitesinde olduğu bildirilmiştir. Sığırlarda, et kalitesi ve yağ asidi içeriği ile ilişkili genler üzerine de çalışmalar yürütülmüştür. Yağ asidi sentaz (FASN) geninin sığırlarda yağ asidi bileşimindeki kalıtsal farklılıklar için bir aday gen olduğu ve etin kalite özelliklerini korurken yağ asidi bileşiminin istenen yönde iyileştirilmesinde kullanılabileceği önerilmektedir.

Bu çalışmada FASN genindeki eksonik tek nükleotid polimorfizmlerin (SNP) doymuş ve doymamış yağ asitleri ile olan ilişkileri hakkında genetik bilgi elde edilmiştir. Türk Holstein boğaların (THB) genetik olarak etinin lezzetini iyileştirmeye yönelik Markır Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılması amacıyla araştırma yapılmıştır. Ayrıca THB'lerin yağ asitleri bakımından sağlık indekslerine (HI) bakılmıştır. Araştırmamızda Edirne'deki 82 adet THB'lerin *Musculus Longissimus Dorsi*

(MLD) etlerinden örnek alınarak yağ asitleri kompozisyonu Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazında belirlenmiştir.

THB'nda FASN gen varyasyonları DNA dizi analizi metodu ile belirlenmiştir. 34, 35 ve 36. ekzonların tamamı, 34 ve 35. intronların tamamı, 33 ve 36. intronlar ise kısmen dizilenmiştir. Dizileme sonucu 34. eksonda iki adet SNP (rs208645216 ve rs209734560) belirlenmiştir. Dizileme işlemi ile rs208645216 ve rs209734560 lokuslarının polimorfik olduğu belirlenmiştir. rs209734560 SNP'nin rs208645216 SNP'ye 14 bazlık uzaklıkta olduğu ve bağlantı dengesizliği (LD) oluşturduğu tespit edilmiştir. Holstein ırkına ait 3 farklı varyant genotipi (GG, GA, AA) olarak tespit edilmiştir. rs208645216 G alel frekansı 0,7988 ve A alel frekansının 0,2012 olduğu ve G alel frekansının A alel frekansından daha büyük olduğu tespit edilmiştir. THB'lerin rs208645216 SNP lokusundaki GG, GA ve AA genotipik frekansları sırasıyla 0,638, 0,321 ve 0,041 olarak belirlenmiştir. Bu yüzden CC, CT ve TT genotipteki polimorfizmler ile rs208645216 polimorfizmi genotipik varyantları (GG, GA ve AA) aynı frekansa sahiptir. Genotipler arası frekans dağılımları Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olduğu ve genotipik frekanslar arası farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Bu çalışmada, sığır FASN genotipleri ile THB'lerin MLD kasının yağ asidi bileşimi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Belirtilen iki SNP'de C18:1 (ω-9) (Oleik Asit) ve C18:2 (Linoleik Asit) yağ asidi konsantrasyonları ile genotipler arasında önemli ilişkiler gözlemlenmiştir ($p<0,05$). FASN geni SNP varyantları ile THB'lerin MLD yağ asitleri kompozisyonu arasındaki ilişki ortaya konulmuştur.

Yıl : 2023

Sayfa Sayısı : 109

Anahtar Kelimeler : FASN geni, Sığır Eti, *Musculus Longissimus Dorsi* (MLD) Kası, Holstein, Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP), Sanger Dizileme, GC-MS, Yağ Asitleri, Oleik Asit, Markır Destekli Seleksiyon (MAS)

Master of Science (M.Sc) Thesis

The Relationship Between FASN Gene Variant Genotypes and Fatty Acids of Meat in Turkish Holstein Bulls

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Genetic and Bioengineering of Department

ABSTRACT

Consumer taste depends on the quality and flavor of the meat. There are many factors that affect the quality of meat. One of them is the marbling score in beef. However, beef quality depends not only on the marbling score, but also on the fatty acid composition of the beef. Adipose tissue with abundant monounsaturated fatty acids (MUFA) gives it a lower melting point. This situtation contributes positively to the flavor and tenderness of the beef. Studies have shown that higher oleic acid content in meats has a positive effect on beef flavor. Studies have also been conducted on genes associated with meat quality and fatty acid content in cattle. It is suggested that the fatty acid synthase (FASN) gene is a candidate gene for heritable differences in fatty acid composition in cattle and can be used to improve the fatty acid composition in the desired direction.

In this study, genetic information was obtained about the relationships of exonic single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the FASN gene with saturated and unsaturated fatty acids. Research has been carried out to genetically improve the palatability of Turkish Holstein bulls (THB) for their use in Marker Assisted Selection (MAS) studies. In addition, the health indices (HI) of THBs in terms of fatty acids were examined. In our research, samples were taken from 82 THB's *Musculus Longissimus Dorsi* (MLD) beef in Edirne. The fatty acid composition of these beef meats was determined in a Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) instrument.

FASN gene variations in THB were determined by DNA sequence analysis method. All exons 34, 35 and 36, all introns 34 and 35, and introns 33 and 36 were partially sequenced. As a result of sequencing, two SNPs (rs208645216 and

rs209734560) were identified in exon 34. By sequencing, rs208645216 and rs209734560 loci were determined to be polymorphic. It was determined that the rs209734560 SNP was 14 bases away from the rs208645216 SNP and created a linkage disequilibrium (LD). Three different variant genotypes (GG, GA, AA) of the Holstein breed were identified. rs208645216, where the G allele frequency is 0,7988 and the A allele frequency is 0,2012 and the G allele frequency is greater than the A allele frequency. The GG, GA and AA genotypic frequencies of THBs at the rs208645216 SNP locus were determined as 0.638, 0.321 and 0.041, respectively. Therefore, polymorphisms in the CC, CT, and TT genotypes and genotypic variants of the rs208645216 polymorphism (GG, GA, and AA) have the same frequency. It was determined that the frequency distributions between genotypes were in Hardy-Weinberg (HW) equilibrium and the difference between genotypic frequencies was not significant ($p>0.05$).

In this study, the relationship between bovine FASN genotypes and the fatty acid composition of THBs of MLD muscle was evaluated. Significant correlations were observed between C18:1 (ω-9) (Oleic Acid) and C18:2 (Linoleic Acid) fatty acid concentrations and genotypes of the two mentioned SNPs ($p<0.05$). The relationship between FASN gene SNP variants and MLD fatty acid composition of THBs has been demonstrated.

Year : 2023

Number of Pages : 109

Keywords : FASN gene, beef, *Musculus Longissimus Dorsi* Muscle, Holstein, Single Nucleotide Polymorphism (SNP), Sanger sequencing, GC-MS, fatty acids, Oleic acid, Marker Assisted Selection (MAS)

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tez çalışması süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, yardımını esirgemeyen ve bana gösterdiği sabırla üzerimde büyük emeği olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Süleyman KÖK'e (Trakya Üniversitesi),

Tez çalışmamda bana rehberlik eden, yardımlarını esirgemeyen ve ihtiyaç duyduğum her an ulaşabildiğim değerli ikinci danışman hocam Öğr. Gör. Dr. Sertaç ATALAY'a (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi),

Araştırma materyalini temin etmeme yardımcı olan, yardımlarını ve tecrübelerini esirgemeyen, her zaman bana destek olan Dr. Güldan VAPUR'a (Edirne Sultan 1. Murat Devlet Hastanesi),

Gaz Kromatografisi deneylerimde benden bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Elif Burcu AYDIN'a (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi) ve beni çok güzel karşılayan tüm Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Merkezi Araştırma (NABİLTEM) personeline,

Laboratuvarda yardımlarını esirgemeyen ve ihtiyaç duyduğum her an ulaşabildiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Yalçın KAYA (Trakya Üniversitesi), Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ (Trakya Üniversitesi), Öğr. Gör. Dr. Emrah AKPINAR (Trakya Üniversitesi), Araş. Gör. M. Burak TATLISES'e (Trakya Üniversitesi),

İhtiyaç duyduğum zamanlarda benden bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Hacı Ali GÜLEÇ (Trakya Üniversitesi), Prof. Dr. Oğuzhan DOĞANLAR (Trakya Üniversitesi), Prof. Dr. Zeynep Banu DOĞANLAR (Trakya Üniversitesi) hocalarıma,

Desteklerinden dolayı Serim Tuna KOÇ'a, Havva AKAR'a, tüm doktora ve yüksek lisans yapan arkadaşlarımın hepsine,

TÜBAP 2022/02 numaralı proje kapsamında sağladıkları maddi katkıları ve ilgilerinden dolayı **Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**'ne,

Hayatımda her zaman yanımda olan ve benden desteklerini eksik etmeyen sevgili ailem; annem Sema ARSLAN'a, babam Zeki ARSLAN'a, kardeşlerim Bilal ARSLAN ve Asım ARSLAN'a, kuzenim Melike ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET....iv
ABSTRACT....vi
TEŞEKKÜR....viii
İÇİNDEKİLER....x
SİMGELER DİZİNİ....xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ....xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ....xix
BÖLÜM 1....1
GİRİŞ....1
BÖLÜM 2....9
GENEL BİLGİLER....9
2.1. İstatistikler....9
2.2. Etin Kalitesine Etki Eden Unsurlardan Bazıları....18
2.2.1. Hayvanın Bakımı....19
2.2.2. Kesim Öncesi Süreç....19
2.2.3. Kesim Sonrası (Postmortem) Etteki Fiziksel ve Kimsayasal Değişiklikler....20
2.2.4. Etin pH Düzeyi....21
2.2.5.Etin Mermerleşme Derecesi....22
2.3. Etin İçeriğindeki Yağ Asitleri....22
2.4. Holstein (Friesian – Siyah&Beyaz Alaca)....27
2.5. Mutasyon ve Polimorfizm....28
2.6. Tek Nükleotid polimorfizmleri (SNP)....28
2.7. Hayvan Yetiştirmede Markır Desktekli Seleksiyon (Marked Assisted Selection-MAS)....29
2.8. Et Kalitesi ve Yağ İçeriği ile İlişkili Bazı Genler....30
2.8.1. Yağ Asidi Bağlayıcı Protein 4 (FABP4) Geni....32
2.8.3. Leptin (LEP) Geni....32

2.8.4. Ghrelin (GHRL) Geni 33
2.8.5. Calpain (CAPN) ve Calpastatin (CAST) Genleri 33
2.8.6. Yağ Asidi Sentaz Geni (FASN) 34
BÖLÜM 3 40
MATERYAL VE METOT 40
3.1. Çalışma Materyali 40
3.1.1.DNA İzolasyonu 41
3.1.2. DNA Miktarı Belirleme ve Kalite Tayini 43
3.1.3. Gradient PCR ile Optimum Bağlanma Sıcaklığının Bulunması 45
3.1.4. FASN Geni Hedef Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması 46
3.1.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması (PEG Pürifikasyon) ve Sekans Reaksiyonu 49
3.1.6. DNA Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi 49
3.1.7. Kullanılan Kitler ve Cihazlar 50
3.2. GC/MS ile Yağ Asidi Analizleri 50
3.2.1. Et Örneklerinin GC/MS Cihazına Yerleştirmeden Önceki Hazırlık Aşaması 52
3.3. İstatistik Analizleri 55
BÖLÜM 4 57
SONUÇLAR 57
4.1. Sanger Sekans Metodu ile FASN geni rs208645216 ve rs209734560 Polimorfizmlerinin Belirlenmesi 57
4.2. Türk Holstein Sığır Etlerinin Yağ Asitleri Kompozisyonu ve FASN Geni rs208645216 G>A ve rs209734560 C >T SNP Varyantları Genotipik İlişkisi 60
4.2.1 Doymuş Yağ Asitleri (SFA) 63
4.2.1.1. C10:0 Dekanoik Asit (Kaprik Asit) 63
4.2.1.2. C12:0 Dodekanoik Asit (Laurik Asit) 63
4.2.1.3. C14:0 Tetradekanoik Asit (Miristik Asit) 63
4.2.1.4. C15:0 Pentadekanoik Asit 64
4.2.1.5. C16:0 Hekzadekanoik Asit (Palmitik Asit) 64
4.2.1.6. C17:0 Heptadekanoik Asit 64
4.2.1.7. C18:0 Oktadekanoik Asit (Stearik Asit) 65
4.2.2 MUFA 65
4.2.2.1. C16:1 (ω-9), 9-Hekzadekenoik Asit (Palmitoleik Asit) 65
4.2.2.2. C18:1 (ω-9) 9-Oktadekanoik Asit (Oleik Asit) 65

4.2.3.PUFA 66
4.2.3.1. C18:2- 9,12 Oktadekadienoik asit (ω-6) (Linoleik Asit) 67
4.2.3.2. C18:3- 9,12,15 Oktadekatrienoik Asit (ω-9) (Linolenik Asit) 68
4.2.3.3. C20:3- Eikosatrienoik Asit (ω-6) 68
4.2.3.4. C20:4- 6,8,11,14 Eikosatetraenoik Asit (ω-6) (Araşidonik Asit) 68
4.2.4. Sağlık İndeksi (HI) 69
BÖLÜM 5 71
TARTIŞMA 71
KAYNAKLAR 77
ÖZGEÇMİŞ 85

SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

%	Yüzde değer
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
A	Adenin
ADIPOQ	Adiponektin
ALA	α-linolenik asittir
Ala	Alanin
ALDOA	Aldolaz A
AR	Alanin- Arjinin haplotipi
Arg	Arjinin
ARMS	Özgü Amplifikasyon
ATB	Ankara Ticaret Borsası
bp	Baz çifti
BTA7	7. kromozom
C	Sitozin
Ca	Kalsiyum
CAPN	Kalpain
CAST	Kalpastatin
cm	Santimetre
cm^2	Santimetre kare
CRH	Kortikotropin Salgılatıcı Hormon

CYP11B1	Steroid 11β-monooksijenaz
DAK	Doğu Anadolu Kırmızısı
DFD	Koyu, Sert, Kuru
DGAT1	Diaçilgliserol O-açiltransferaz 1
DHA	Dokosaheksaenoik asit
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EEC	Avrupa Ekonomik Topluluğu
EtBr	Ethidium Bromür
FABP4	Yağ asidi bağlayıcı protein 4
FAO	Dünya Gıda Tarım Örgütü
FASN	Yağ Asidi Sentaz
FSTL1	Follistatin
g	Gram
GAK	Güney Anadolu Kırmızısı
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
gDNA	Genomik DNA
GHRL	Ghrelin
H_2O	Su
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HAYGEM	T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Hayvancılık Genel Müdürlüğü
HCl	Hidroklorik asit
HI	Sağlık İndeksi
HW	Hardy-Weinberg
IGFBP5	İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 5
kg	Kilogram
KLA	Konjuge linoleik asit
KR	β-ketoasil redüktaz
kW	Kilowatt
LD	Bağlantı dengesizliği
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LEP	Leptin

mA	Miliamper
MAF	Minör Alel Frekansı
MAS	Markır Destekli Seleksiyon
mg	Miligram
ml	Mililitre
MLD	*Muscullus longissimus dorsi*
mm/sn	Milimetre/saniye
MUFA	Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NABİLTEM	Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
NEB	Nebulin
NGS	Yeni Nesil Dizileme
O_2	Oksijen
ºC	Santigrat derece
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İş birliği Örgütü
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR-RFLP	Restriksiyon enzimleri ile PCR analizi
pH	Potansiyel hidrojen
pmol	Pikomol
PSE	Soluk, Yumuşak, Sulu
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
QTL	Kantitatif karakter lokusu
RORC	RAR ile ilgili yetim reseptör gama
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SCD	Stearoil-CoA Desatüraz
SFA	Doymuş Yağ Asitleri
SGB	Strateji Geliştirme Başkanlığı
SNP	Tek nükleotid polimorfizmlerin
Std	Standart
T	Timin
TBE	Tris Borat EDTA

TE	Tiyoesteraz
TEPGE	Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü
TG	Tiroglobulin
TGID	Tahmini genomik ıslah değeri
THB	Türk Holstein Boğaları
Thr	Treonin
THRSP	Tiroid hormonu
Trp	Triptofan
TTN	Titin
TÜBAP	T.C. Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TW	Treonin-Triptofan haplotipi
USDA	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
UTR	Ucu kodlama yapmayan
V	Volt
ω3	Omega-3
ω6	Omega-6

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 1. Kırmızı etin yağsız bileşeninin ortalama besin bileşimi (100 g başına). 2
Çizelge 1. 2. Sığır eti yağlarının yağ asidi bileşimleri (%). 4
Çizelge 1. 3. Bazı besinlerin konjuge linoleik asit içeriği. 6

Çizelge 2. 1. Dünyada et tüketimi (kg/kişi). 10
Çizelge 2. 2. Türkiye'deki büyükbaş hayvan sayıları. 11
Çizelge 2. 3. Türkiye'deki küçükbaş hayvan sayıları. 12
Çizelge 2. 4. Türkiye'deki kırmızı et üretimi (ton). 14
Çizelge 2. 5. Dünya dana eti arz ve kullanımı (bin ton). 14
Çizelge 2. 6. Türkiye dana eti verileri (ton). 15
Çizelge 2. 7. 2021 Yılı Edirne ili büyükbaş hayvan sayıları. 17
Çizelge 2. 8. Yağ asitlerinin zincir uzunluğu, çift bağ sayısı ve karbon bağlama konfigürasyonuna bağlı olarak erime noktaları. 24
Çizelge 2. 9. Sığır, koyun ve domuzlarda adipoz doku triaçilgliserol ve *Longissimus* kas fosfolipidinin ana yağ asitleri (toplam yağ asitlerinin yüzdesi). 26
Çizelge 2. 10. Holstein ırkı sığırların sistematikteki yeri. 27
Çizelge 2. 11. Sığırlarda et kalitesi ve yağ içeriği ile ilişkili bazı genler. 31
Çizelge 2. 12. FASN geninde SNP ve fenotipik özellikler arasındaki ilişkiler. 39

Çizelge 3. 1. Kullanılan primerler. 47
Çizelge 3. 2. Örneklerdeki hedef DNA bölgesinin (839 bp) amplifikasyonu için bir örneğin gDNA'sında kullanılan PCR mix içeriği. 47
Çizelge 3. 3. PCR protokolü. 48
Çizelge 3. 4. Sekans reaksiyonu mix içeriği. 49
Çizelge 3. 5. Sekans reaksiyon protokolü. 49

Çizelge 4. 1. THB'lerin FASN geni 34. eksonda belirlenen SNP'lerin alel ve genotipik frekansları ile Khi-kare analiz sonucu. 58
Çizelge 4. 2. Türk Holstein Boğaların MLD etindeki FASN geni varyant genotiplerinin yağ asidi kompozisyonuna etkileri. 61
Çizelge 4. 3. THB'lerin FASN geni varyant genotiplerine göre etlerindeki C18:1 (ω-9) yağ asitleri çoklu karşılaştırma testi. 66
Çizelge 4. 4. THB'lerin FASN geni varyant genotiplerine göre etlerindeki C18:2 (ω-6) yağ asitleri çoklu karşılaştırma testi. 67

Çizelge 4. 5. FASN genindeki ekzonik varyantların yağ asidi bileşimi üzerindeki genotipik etkileri. 69

Çizelge 5. 1. FASN geni varyantlarında et yağ asidi kompozisyonu üzerine yapılmış olan önceki araştırmalar. 74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. 2021'de Kırmızı et üretiminin hayvan türlerine göre dağılımı (TÜİK, 2021). 13
Şekil 2. 2. Türkiye'de 2015-2019 yılları arası dana eti üretimi ve tüketimi (ton) grafiği (TEPGE, 2022a). 16
Şekil 2. 3. Türkiye'de 2015- 2019 yılları arası dana eti ithalatı grafiği (TEPGE, 2022a). 17
Şekil 2. 4. Hayvanın kesim sonrası ilk 24 saatte etin pH'sındaki değişim grafiği (Greaser, 1986). 20
Şekil 2. 5. cis-9 Oleik Asit ve trans-9 Elaidik Asit açık formulü (Wood vd., 2007). 23
Şekil 2. 6. İşkembedeki biyohidrojenizasyon yollarının basit bir temsili (Wood vd., 2007). 25
Şekil 2. 7.FASN geni, NADPH varlığında Asetil CoA ve Malonil-CoA'nın palmitata dönüşümünün reaksiyonu (Menendez & Lupu, 2007). 35
Şekil 2. 8. gDNA ile hizalanmış dört potansiyel fonksiyonel SNP'nin gösterimi. Ok yönündeki kırmızı kutular, işlevsel SNP adaylarının konumunu göstermektedir. Gri ve siyah kutular ise sırasıyla UTR ve ekzon bölgelerini göstermektedir (Oh, Nam, Hwang, Kong, Lee, Ha, Baik, Oh, Kim, Han & Lee, 2018). 38

Şekil 3. 1. Et örneklerinden doku alınması işlemi. 42
Şekil 3. 2. Örnekleri vorteks yardımı ile homojen olana kadar karıştırma işlemi. 42
Şekil 3. 3. Örneklerin mikrosantrifüj tüplerinden filtreli tüpe aktarılması. 42
Şekil 3. 4. Örneklerin Santrifüj edilmesi aşaması. 42
Şekil 3. 5. Örneklerin sıcak su banyosunda inkübe edilmesi aşaması. 43
Şekil 3. 6. DNR marka BioImaging Systems Minibis Pro jel görüntüleme cihazı. 44
Şekil 3. 7. Hazırlanan örneklerin yüklemesi yapılarak elektroforez cihazıyla yürütülmesi işlemi. 44
Şekil 3. 8. Jelden UV görüntüsü ile elde edilen gDNA görüntüsü. 44
Şekil 3. 9.Gradient PCR'dan elde edilen hedef (839 bp) DNA görüntüleri. 45
Şekil 3. 10. Çoğalttığımız gen bölgesi gösterilmiştir. FASN Geninin NCBI'daki Diyagramı (NCBI, 2022). 46
Şekil 3. 11. 50791309 ile 50792128. bazlar arası 34, 35 ve 36. ekzonların tamamı, 34 ve 35. intronların tamamı, 33 ve 36. intronlar ise kısmen çoğaltılmıştır. 47
Şekil 3. 12. Jelden UV görüntüsü ile elde edilen hedef (839 bp'lik) DNA fragmentleri. 48
Şekil 3. 13. Çoğaltılan hedef DNA bölge sekansı, 839 bp, kromozom üzerindeki konumu 50791309-50792147 (Polimorfizm noktaları kare kutularında işaretli). 50

Şekil 3. 14.Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde (NABİLTEM) Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı; model GC 2010 plus, SHIMADZU). 51
Şekil 3. 15. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi bir Supelco RT2560 kolon (100 m · 0,25 mm iç çap x 0,2 µm film kalınlığı) ve bir kütle spektroskopi dedektörü ile donatılmıştır. 51
Şekil 3. 16. Steril kaplara numune tartımı. 52
Şekil 3. 17. Metanol-kloroform ekleme aşaması. 52
Şekil 3. 18. Örneklerin filtre kağıdından süzülmesi işlemi. 53
Şekil 3. 19. Örneklerin vortekslenme aşaması. 53
Şekil 3. 20. Örneklerin filtre kağıdından süzülmesi aşaması. 53
Şekil 3. 21. Örneklerin filtre kağıdından süzülmesi. 53
Şekil 3. 22. Sulu fazın üst kısımda ayrılmış hali. 54
Şekil 3. 23 Filtreden geçirme işlemi. 54
Şekil 3. 24. Hazırlanan örneklerin enjeksiyon bloğuna yerleştirilmeden önce seyreltilip viallere konulmuş hali. 54

Şekil 4. 1. Dizileme sonucunda örneklerimizde 2 adet SNP (rs208645216 ve rs209734560) tespit edilmiştir. THB'lerin her iki lokusu polimorfik bulunmuştur. 57
Şekil 4. 2. THB, FASN geni hedef DNA bölgesinde dizileme sonrası belirlenen SNP'leri gösteren elektroferogramlar. İlk elektroferogramda 9. bç rs208645216, 24. bç'de rs209734560 SNP genotipindeki varyantlar 1., 2. ve 3. elektroferogramlarda verilmiştir. 59
Şekil 4. 3. Dizileme sonucunda örneklerimizde tespit ettiğimiz iki SNP'lerin (rs208645216 ve rs209734560) FASN proteinindeki amino asit değişikliği. 60

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Hayvansal üretim faaliyetlerinden biri olan sığırcılık; ülke ekonomisine istihdam, bitkisel üretime gübre, deri sanayisine hammadde, insanoğluna besin kaynağı (et, süt gibi) sağlaması yönünden çok kıymetli ve önemli tarımsal faaliyetlerdendir. Hayvansal ürünlerin üretim ve tüketim miktarları gelişmişliğin önemli göstergelerindendir. Ülkemizin coğrafi koşulları büyükbaş ve küçükbaş hayvancılığa elverişlidir (Turan, Şanver & Öztürk, 2017).

Beslenme hayatımızda temel ihtiyaçtır. Dengeli bir beslenme; karbonhidrat, protein, yağ, vitamin ve minerallerin vücut için gerekli miktarlarda alınması ile sağlanabilir. Nasıl besleneceğimiz hakkında farklı görüşler vardır. Kırmızı et tüketimi de tartışılan popüler konulardan birisidir. Et, beslenmede en önemli hayvansal protein kaynağıdır. Bunun yanında B_{12} eksikliği, demir eksikliği gibi sağlığımızı tehdit eden durumlarda kırmızı et tüketimi tavsiye edilmektedir (Kılıçaslan, Yıldırmak & Urgancı, 2014). Bunlara ilaveten et tüketiminde etin lezzetinin de önemi artmıştır. Ayrıca kırmızı et kültürümüzde ve yerel lezzetlerimizde önemli bir yere sahiptir. Yurtdışında bilinen en popüler yemeklerimizden birisi de kebaptır. Kebaba da tadı veren içine konulan yağdır. Yağsız et daha yavan ve sert olur. Yağlar gıdalara yapı, tekstür ve lezzet sağlar. “Ete lezzet veren nedir?”, “Yağlı et mi yağsız et mi daha lezzetli?”, “Yağlı et sağlıksız mıdır?” gibi sorular tüketicilerin merakını uyandırmıştır. Et tüketicileri sağlıklı, kaliteli ve lezzetli beslenmek istemektedir. Böyle etlerin maliyet yönü de göz ardı edilmemelidir.

Çizelge 1. 1. Kırmızı etin yağsız bileşeninin ortalama besin bileşimi (100 g başına).

	Sığır Eti	Dana Eti	Kuzu Eti	Koyun Eti
Su oranı (g)	73.1	74.8	72.9	73.2
Protein (g)	23.2	24.8	21.9	21.5
Yağ (g)	2.8	1.5	4.7	4.0
Enerji (kJ)	498	477	546	514
Kolestrol (mg)	50	51	66	66
Tiamin (mg)	0.04	0.06	0.12	0.16
Riboflavin (mg)	0.18	0.20	0.23	0.25
Niasin (mg)	5.0	16.0	5.2	8.0
B6 Vitamini (mg)	0.52	0.80	0.10	0.80
B12 Vitamini (µg)	2.50	1.60	0.96	2.80
Pantotenik Asit (mg)	0.35	1.50	0.74	1.33
A vitamini (g)	<5	<5	8.60	7.80
Beta- karoten (µg)	10	<5	<5	<5
Alfa tokoferol (mg)	0.63	0.50	0.44	0.20
Sodyum (mg)	51	51	69	71
Potasyum (mg)	363	362	344	365
Kalsiyum (mg)	4.5	6.5	7.2	6.6
Demir (mg)	1.8	1.1	2.0	3.3
Çinko (mg)	4.6	4.2	4.5	3.9
Magnezyum (mg)	25	26	28	28
Fosfor (mg)	215	260	194	290
Bakır (mg)	0.12	0.08	0.12	0.22
Selenyum (µg)	17	<10	14	<10

Kaynak; (Williams, 2007)

Et iyi bir amino asit dengesine sahip protein, vitaminler özellikle B grubu vitaminleri ve demir, potasyum, kalsiyum, selenyum gibi diğer mineralleri içerir (Çizelge 1.1). Et aynı zamanda insan diyetine önemli miktarda yağ katkısında bulunmaktadır. Et tüketen insanların son yıllarda sağlığı ile ilgili en çok mercek altına alınan bileşen yağdır. Kırmızı et tüketimini etkileyen en önemli endişelerden biri, kırmızı etteki doymuş yağ

asidi (SFA) içeriğidir. Et nispeten yüksek miktarlarda SFA içerir ve geviş getiren hayvanların etlerinde (sığır, kuzu gibi) çoklu doymamış yağ oranı düşüktür (Taşçı, 2002). Hayvansal kökenli doymuş yağlar ve kırmızı etlerin kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmesi tüketici taleplerini olumsuz yönde etkilemektedir (Özkaya & Kayaardı, 2018). Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde tüketicilerde yağsız, az yağlı ve kaliteli kırmızı eti tercih etme eğilimi giderek artmaktadır (Geçgel, Yılmaz, Soysal, Gürcan & Kök, 2018). SFA içeriğinin yüksek olması tüm diyette tekrarlanırsa, insanları kardiyovasküler hastalık dahil olmak üzere bir dizi hastalığa yatkın hale getirdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Mozaffarian, Ascherio, Hu, Stampfer, Willett, Siscovick & Rimm, 2005; Pećina & Ivanković, 2021). Uzun yıllar diyetisyenler ve sağlık uzmanları, kırmızı et gibi SFA açısından zengin gıdaların tüketiminin azaltılmasını veya hariç tutulmasını önermişlerdir (Geçgel vd., 2018; Zhang, Knight, Reecy & Beitz, 2008). Bu yüzden tüketiciler kırmızı etleri daha az tüketmekte ve yağsız etlerin daha sağlıklı olduğunu düşünmektedirler. SFA'dan laurik asit (C12: 0), miristik asit (C14: 0) ve palmitik asitin (C16:0) zararlı kardiyovasküler etkilere sahip olduğu düşünülmektedir, stearik asidin (C18:0) ise nötr olduğuna inanılmaktadır (Keys, Grande & Anderson, 1974). Ancak çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) reseptör aktivitesi hepatik düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) artırır, böylece dolaşımdaki LDL-kolesterol konsantrasyonunu azaltır (Zhang vd., 2008).

Yağlar, yağ asidi bileşenlerinden oluşur. Lezzetli bir etin oluşumunda yağ içerisindeki yağ asitlerinin oranı önemli bir ölçüttür. Bol miktarda MUFA içeren yağ dokusu, daha düşük bir erime noktası verir. Bu da sığır eti aromasına ve tekstürüne olumlu katkıda bulunur (Oh, Lee, La, Yeo, Chung, Kim & Lee, 2012). Yağın kalitesi, yağ asidi bileşimine göre de belirlenir (Cameron, Enser, 1991; Matsubara, 1998; Laborde, Mandell, Tosh, Wilton & Buchanan-Smith, 2001). Kırmızı etin kas içi dokusunun yağ asidi bileşimi, kırmızı et endüstrisinde önemli hale gelmiştir. Bol miktarda MUFA içeren yağ dokusu, daha düşük bir erime noktası verir. Bu da et aromasına ve etin gevrekliğine olumlu katkı sağlar. Kırmızı etin yağ dokusunda, yağ asitleri içerisinde en yüksek yağ asidi yüzdesini oluşturan oleik asittir. Oleik asit etin lezzetine önemli bir katkı sağlamaktadır (Oh vd., 2012a). Yapılan çalışmalarda; daha sulu sığır etinin daha yüksek doymamış yağ asidi içeriği ve daha yüksek et kalitesi gösterdiği bildirilmiştir (Oh vd., 2012a).

Çizelge 1. 2. Sığır eti yağlarının yağ asidi bileşimleri (%).

Yağ Asitleri	**Yağsız Et**	**Yağsız Et**	**MLD**	**MLD**
C10:0+C12:0	1,43	-	-	-
C14:0	1,2	2,56	2,13	5,05
C14:1	-	1,4	-	-
C15:0+C15:1	0,88	-	-	0,5
C16:0	15,41	21,4	26,5	31,35
C16:1	0,39	1,3	4	5,65
C17:0+C17:1	6,8	-	-	2
C18:0	14,49	15,9	16,77	14,95
C18:1	41,66	39,3	39	28
C18:2	13,67	15,1	4,27	11,5
C18:3	-	-	1,43	1,2
C20:4	-	4,52	2	-
Diğer	-	-	3,2	-
SFA	35,76	39,36	46,5	53,8
MUFA	43,51	42	43,8	33,654
PUFA	13,65	19,62	7,8	12,7
Referanslar	**(Rhee, 1992)**	**(Li, Wick, Marriott, 1992)**	**(Rule & Beitz, 1986)**	**(Enser, Hallett, Hewett, Fursey, Wood & Harrington, 1998)**

Kaynak: (Köseoğlu, 2014)

Hayvansal yağlar; yüksek enerji düzeyleri, insan için esansiyel olan yağ asitlerini (ω3, ω6) içermeleri ve konjuge linoleik asit (KLA) gibi insan sağlığı açısından çok önemli olan yağ asitlerini içermelerinden dolayı önemli besin kaynağıdırlar. ω3, ω6, KLA,

eikosapentaenoik asit (C20:5-ω3, EPA) ve dokosaheksaenoik asitin (C22:6-ω3, DHA) etteki miktarı, PUFA/SFA ve ω6/ω3 oranları, insan sağlığıyla yakından ilişkilidir (Karabacak, Aytekin & Boztepe, 2013).

ω6 ve ω3 yağ asitleri, elzem yağ asitlerindendir. ω3 yağ asiti, kanda akışkanlığı sağlayıcı etkiye sahipken ω6, kanın pıhtılaşmasına yardımcı olmaktadır. İdeal kan dolaşımı ve vücudun ana fonksiyonlarının sağlıklı bir şekilde yerine getirilmesi için bu yağların dengeli ve belli oranlarda tüketilmesi gereklidir. ω6/ω3 oranının 5/1 ile 10/1 arasında olması tavsiye edilmektedir (Çakmakçı & Kahyaoğlu, 2012; Eseceli, Değirmencioğlu, Kahraman, Üniv, Bandırma & Bandırma, 2006). Bitkisel yağ tüketiminin artması, margarin kullanımının yaygınlaşması gibi nedenlerle ω6 tüketimi çok fazla artmıştır ve ω6/ω3 oranı 30/1'e kadar yükselmiş durumdadır. Bu durum bazı sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir. ω6/ω3 yağlarının oranı arttıkça cilt sorunları, bağırsak problemleri, sinir sistemi hastalıkları, kanser, kronik iltihabi problemler, romatizmal sorunlar gibi çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Ayrıca elzem yağ asitlerinin eksikliğinde de çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Mermer & Yıldıran, 2020).

Son yıllarda hayvansal yağların içerdiği doymamış yağ asitlerinin insan sağlığına olumlu etkileri üzerine yapılan çalışmaların sayısında artış görülmektedir. Bilhassa KLA çağımızda yaygın olarak görülen pek çok hastalığın; kanser, diyabet, kalp-damar hastalıkları ve obezite gibi oluşumunu inhibe edici etkiye sahiptir (Ha, Storkson & Pariza, 1990; Ip, Singh, Thompson & Scimeca, 1994; Whigham, Cook & Atkinson, 2000; Park & Pariza, 2007; Karabacak vd., 2013). İnsanların beslenmesinde KLA'nın ana kaynağı ruminant etleri ve sütleridir (Dannenberger, Nuernberg, Nuernberg, Scollan, Steinhart & Ender, 2005; Karabacak vd., 2013), (Çizelge 1.3).

KLA'nın Sağlık Üzerine Etkileri

- ✓ Antikarsinojenik (Kansere Karşı) Etki
- ✓ Antiatherojenik Etki (Hipolipidemik Etki)
- ✓ Antioksidan Etkisi
- ✓ Antiobezite Etkisi

Çizelge 1. 3. Bazı besinlerin konjuge linoleik asit içeriği.

GIDA	TOPLAM KLA (mg/g yağ)	Cis-9, trans-11 İzomeri (%)
ET		
Taze Sığır Kıyması	4,3	85
Sığır Budu	2,9	79
Sığır Kol	3,3	83
Dana Eti	2,7	84
Kuzu Eti	5,6	92
Domuz Eti	0,6	82
KANATLI ETLER		
Tavuk	0,9	84
Hindi	2,5	76
DENİZ ÜRÜNLERİ		
Somon	0,3	-
Alabalık	0,5	-
Karides	0,6	-
SÜT ÜRÜNLERİ		
Homojenize Süt	5,5	92
Tereyağı	4,7	88
Krema	4,6	90
Yoğurt	4,8	84
Dondurma	3,6	86
Çedar Peyniri	3,6	93
Mozarella Peyniri	4,9	95
BİTKİSEL YAĞLAR		
Ayçiçeği	0,4	38
Kanola	0,5	44
Mısır	0,2	39

Kaynak: Chin, Liu, Storkson, Ha & Pariza'dan aktaran Ercoşkun, Uğuz & Kıralan, 2011

Araştırma makaleleri etin yağ asidi bileşiminin; hayvan rasyonları, yaş, ağırlık, cinsiyet ve cins gibi üretim faktörleri tarafından büyük ölçüde değiştirilebileceğini göstermektedir. Yağ asidi bileşimi ayrıca vücuttaki türler ve doku bölgeleri arasında değişir. Tüm bu varyasyonlar et endüstrisine ya taze et ya da et ürünleri biçiminde, tüketiciye sağlıklı bir yağ asidi dengesi içermesi için araçlardır (Wood, Enser, Richardson & Whittington, 2007).

Son yıllarda araştırmacılar, hayvancılık ürünlerinin yağ asidi bileşimini yönetmek için moleküler genetik yaklaşımlar ile etin kalitesini arttırmak için yeni yaklaşımlar tasarlamışlardır. Etteki yağ asidi bileşimini kontrol eden aday genler, çoklu genlerin kontrolü altındaki yağ sentezi ve metabolizma yollarında bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda büyükbaş hayvanların FASN geni tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) yağ asit bileşimi ile ilişkisi gösterilmiştir (Öztabak, Gürsel, Akıs, Ateş, Yardıbı, Turkay, 2014; Hayakawa, Sakamoto, Ishii, Yamaji, Uemoto, Sasago, Kobayashi, Kobayashi, Matsuhashi, Maruyama, Matsumoto, Oyama, Hideyuki Mannen, Sasazaki, 2015). Bu nedenle, bireyler arasında FASN geninin, yağ asidi bileşimindeki kalıtsal farklılıklar için aday bir gen olduğu, sığır yağ asidi bileşimini insan sağlığını korumaya yönelik iyileştirmek için FASN geninin kullanılabileceği yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur.

Holstein sığırının eti Türkiye'de ve Marmara bölgesinde en çok tüketilen etlerden biridir. Etin kalitesinin kesim öncesinde arttırılması ve standardize edilmesi mümkündür. Bu nedenle THB'nın kullanılarak FASN geninde DNA polimorfizmlerinin araştırması gereklidir. Et üretim amacıyla sığır yetiştiriciliğinde, genomik seleksiyona dayalı yetiştirme programlarında, sürü içinde verim bakımından istenen özellikteki genlerin frekansını arttırmaya yönelik gen belirteçleri kullanılmaktadır. Kesim sonrası saptanan karkas ve et kalitesi gibi özelliklerin kesim öncesi belirlenmesi günümüzde MAS ile uygulamaya konulmuştur (Ardıçlı, 2018). Çevre varyasyonunun etkisinde kalmadan MAS'tan daha verimli seleksiyon programları henüz hayata geçirilmemiştir. Tüketiciler için et yağı bileşenleri et kalitesinde önemli bir değerdir (Ardıçlı, 2018). Yağ kalitesinin kantitatif olarak belirlenmesi yapılacak genetik çalışmalar günümüzde artık mümkündür. Et yağını direkt olarak genotipik yönden etkileyen yağ asidi sentaz (FASN) geninin etkilerinin değerlendirilmesi bu çalışmada hedeflenmiştir.

Araştırmamızda,THB'lerin FASN geninin eksonik ve intronik bölgelerindeki SNP'lerin doymuş ve doymamış yağ asitleri ile olan ilişkileri hakkında genetik bilgiler elde edilmiştir. FASN SNP'leri THB'lerin, etinin lezzetini iyileştirmek için Markır Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Fenotipik yönden THB'lerin *Musculus Longissimus Dorsi* (MLD) kası etlerindeki yağ asidi bileşenleri belirlenmiştir. Belirlenen fenotipik özelliklerin FASN geni SNP varyant genotipleri ile olan ilişkilerinin durumu tartışılmıştır. Ayrıca THB'lerin yağ asitlerinin sağlık indekslerine (HI) bakılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. İstatistikler

Dünyada kişi başına düşen sığır eti tüketiminde birinci sırada Arjantin'in geldiği görülmektedir. Sırasıyla onu ABD, Brezilya, İsrail ve Şili takip etmektedir. Kişi başı sığır eti tüketimi OECD ortalaması 14,4 kg'dir. Türkiye OECD ülkeleri ortalamasından düşük (11,1 kg/kişi) ancak dünya ortalamasının (6,3 kg/kişi) üstündedir (Çizelge 2.1; OECD,2022).

Türkiye'de nüfus her geçen yıl artmaktadır. Kırmızı ete olan talebin artması nedeniyle büyükbaş ve küçükbaş hayvanların sayıları da her yıl artmaktadır. Kırmızı et üzerine yapılan çalışmalarla kırmızı etin değeri ve önemi anlaşılmaya çalışılmaktadır. Hayvansal kaynaklı SFA'nın sağlığa olumsuz etkileri nedeniyle kırmızı ete karşı önyargılı ve tüketiminden kaçınanlar da vardır. Türkiye'de ve dünyada hayvansal üretimin önceki yıllara göre arttığı görülmektedir (Çizelge 2.4; Çizelge 2.5). Kırmızı et esansiyel aminoasitlerin temin kaynağı olması, kansızlık (anemi) gibi hastalığı olan kişilerin de demir eksikliğinin giderilmesi için kıymetli bileşenleri içerdiğinden dolayı tüketimi uzmanlar tarafından önerilmektedir.

Çizelge 2. 1. Dünyada et tüketimi (kg/kişi).

Ülke	**Sığır Eti (kg/kişi)**	**Ülkeler**	**Koyun Eti (kg/kişi)**	**Ülkeler**	**Kanatlı Eti (kg/kişi)**
Arjantin	36,0	Kazakistan	8.748	Israil	68.748
ABD	26,0	Avustralya	5.809	Malezya	53.143
Brezilya	24,4	**Türkiye**	**4.156**	Peru	52.829
İsrail	24,1	Suudi Arabistan	4.120	ABD	50.882
Şili	21,8	Norveç	3.986	Avustralya	45.229
Kazakistan	20,9	İran	3.965	**OECD-Total**	**32.995**
Avustralya	18,1	İngiltere	3.814	Rusya	32.266
Kanada	16,0	Çin	3.615	Meksika	31.593
OECD-Total	**14,4**	Yeni Zelanda	2.891	İngiltere	30.563
Norveç	12,6	Güney Afrika	2.553	Ukrayna	26.649
İsviçre	12,5	Pakistan	1.958	Iran	25.542
Kore	12,4	BRICS	1.901	**Türkiye**	**21.890**
Paraguay	12,1	**Dünya**	**1.800**	Vietnam	20.028
Yeni Zelenda	11,3	Nijerya	1.615	Kazakistan	19.625
Türkiye	**11,1**	İsrail	1.595	Kore	19.567
İngiltere	11,0	Rusya	1.314	Norveç	18.513
Rusya	10,1	Malezya	1.272	Japan	18.382
Japonya	7,7	**OECD -Toplam**	**1.264**	Filipinler	16.561
Dünya	**6,3**	İsviçre	1.114	Switzerland	15.689
Hindistan	0,6	Ukrayna	0.298	**Dünya**	**15.102**

Kaynak: OECD, 2022

2010 yılından 2020 yılına göre sığır sayısında % 61,7'lik oranda artış sağlanmıştır. 2010 yılında kesilen sığırların karkas ağırlığı ortalaması 220,69 kg'dan 2021 yılında 284,5 kg'a çıkmıştır. Birim kesilen sığır başına 12 yılda karkas ağırlıkları ortalaması % 28,91 oranında artış görülmüştür. Bu durum Türkiye'deki kültür ırkı oranının 2010'da (11.369.800 baş) % 36,92'den 2021'de % 49,44'e yükselmesinden kaynaklanmıştır (Çizelge 2.2).

TÜİK (2021), TEPGE (2022a) verilerinde Türkiye'de kişi başı kırmızı et tüketim miktarı 2014 yılında 11,4 kg'dan 2016'da 13,6 kg çıkmış iken 2017 yılında 12,4 kg gerilemiştir. Sonraki yıllarda tekrar düzenli olarak artmaya başlamış ve 2019'da 13 kg'ye çıkmıştır.

Çizelge 2. 2. Türkiye'deki büyükbaş hayvan sayıları.

YIL	SIĞIR	MANDA	BÜYÜKBAŞ TOPLAM
2010	11 369 800	84 726	11 454 526
2011	12 386 337	97 632	12 483 969
2012	13 914 912	107 435	14 022 347
2013	14 415 257	117 591	14 532 848
2014	14 223 109	122 114	14 345 223
2015	13 994 071	133 766	14 127 837
2016	14 080 155	142 073	14 222 228
2017	15 943 586	161 439	16 105 025
2018	17 042 506	178 397	17 220 903
2019	17 688 139	184 192	17 872 331
2020	17 965 482	192 489	18 157 971
2021	17 850 543	185 574	18 036 117
Son 12 yılda % Fark	57,00	119,03	57,46

Kaynak: TÜİK, 2021; HAYGEM, 2022

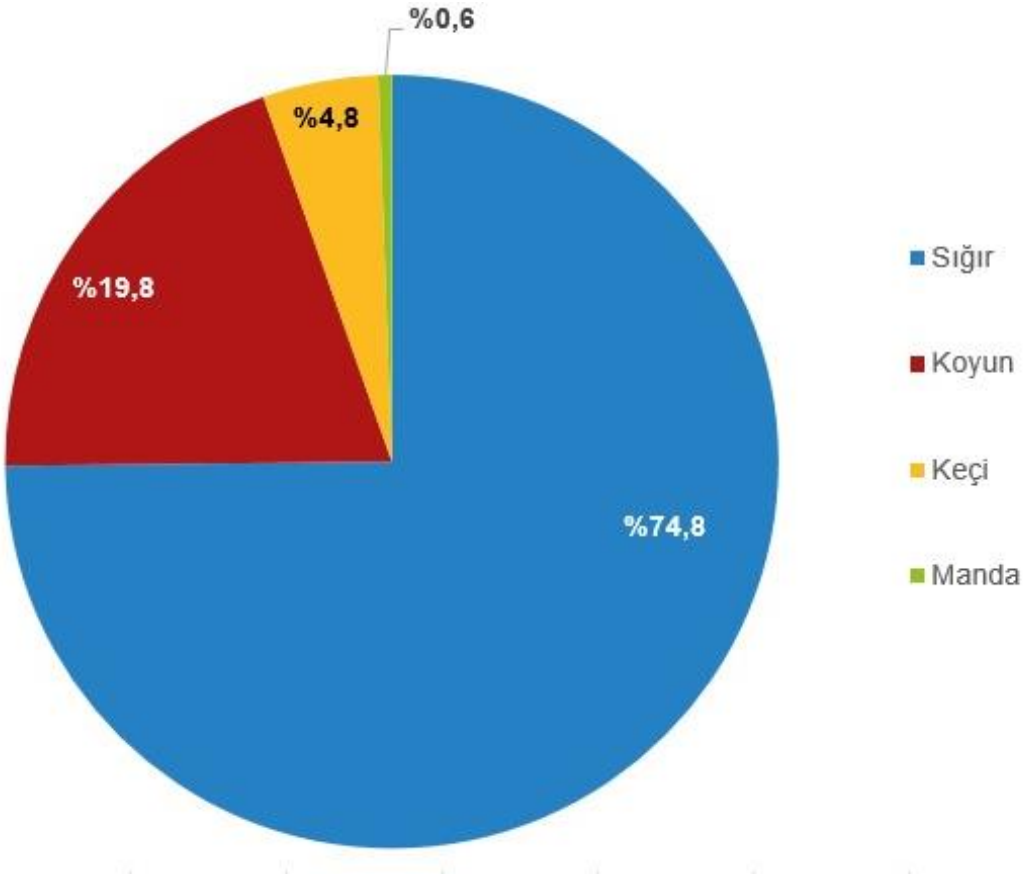
Türkiye'deki toplam büyükbaş hayvan sayılarına 2010 yılı itibari ile baktığımızda 2014 yılına kadar toplam büyükbaş sayılarının arttığını, 2014 ve 2015 yılında bir azalma olmuştur. Sonraki yıllarda büyükbaş hayvan sayısı 2021 yılına kadar düzenli bir şekilde arttığı görülmüştür (Çizelge 2.3). Manda sayılarına baktığımızda ise 2010'dan 2021'e kadar her yıl düzenli olarak arttığı görülmektedir. Son 12 yılda sığır sayısının % 57 oranında arttığı görülmektedir. Manda ve toplam büyükbaş hayvan sayılarında ise sırasıyla % 119,03, % 57,46 oranında artış olduğu görülmektedir.

Çizelge 2. 3. Türkiye'deki küçükbaş hayvan sayıları.

YIL	KOYUN	KEÇİ	KÜÇÜKBAŞ TOPLAM
2010	23 089 691	6 293 233	29 382 924
2011	25 031 565	7 277 953	32 309 518
2012	27 425 233	8 357 286	35 782 519
2013	29 284 247	9 225 548	38 509 795
2014	31 140 244	10 344 936	41 485 180
2015	31 507 934	10 416 166	41 924 100
2016	30 983 933	10 345 299	41 329 232
2017	33 677 636	10 634 672	44 312 308
2018	35 194 972	10 922 427	46 117 399
2019	37 276 050	11 205 429	48 481 479
2020	42 126 781	11 985 845	54 112 266
2021	45 177 690	12 341 514	57 519 204

Kaynak: HAYGEM, 2022

Türkiye'deki toplam küçükbaş hayvan sayıları 2010 yılından 2016 yılına kadar toplam küçükbaş sayılarının düzenli olarak arttığı, 2016 yılında bir azalma olduğu daha sonra tekrar 2021 yılına kadar artmaya devam etmiştir (Çizelge 2.3). Koyun ve keçi sayılarına baktığımızda aynı şekilde 2016 yılına kadar koyun ve keçi sayısının arttığını 2016 yılında azalma olduğunu ardından koyun ve keçi sayılarının tekrar 2021 yılına kadar düzenli artış sağladığı görülmektedir (Çizelge 2.3).



Şekil 2. 1. 2021’de Kırmızı et üretiminin hayvan türlerine göre dağılımı (TÜİK, 2021).

2021 yılında Türkiye’deki et üretimi toplamda 1 952 038’dir (Çizelge 2.5). Kırmızı et üretiminin dağılımına sığır, koyun, keçi, manda açısından bakıldığında % 74,8'inin sığır eti, % 19,8'inin koyun eti, % 4,8'inin keçi eti ve % 0,6'sının manda eti olduğu görülmektedir (Şekil 2.1).

Çizelge 2. 4. Türkiye'deki kırmızı et üretimi (ton).

YIL	SIĞIR	KOYUN	KEÇİ	MANDA	TOPLAM
2015	1 014 926	100 021	33 990	326	1.149.262
2016	1 059 195	82 485	31 011	351	1.173.042
2017	987 482	100 058	37 525	1 339	1 126 403
2018	1 003 859	100 831	13 603	402	1 118 695
2019	1 075 479	109 382	16 536	73	1 201 469
2020	1 341 446	345 639	90 443	8 424	1 785 952
2021	1 460 719	385 933	94 555	10 831	1 952 038

Kaynak: HAYGEM, 2022

Türkiye'de kırmızı et üretimine 2015 yılından 2021 yılına kadar üretimin her geçen yıl artmıştır. 2020 ve 2021 yıllarına bakıldığında ise 2019 yılına göre ciddi bir artış olduğu görülmektedir. Özellikle koyun, keçi ve manda üretiminin 2019 ve önceki yıllara nazaran çok daha fazla et üretiminin arttığı istatistiki verilerden görülmektedir (Çizelge 2.4). Koyun üretimine bakıldığında 2015 yılına göre 2021'de yaklaşık 3,86 kat arttığı görülmektedir. 2015'ten sonra sığır kırmızı et üretimine bakıldığında ise 2017'de bir düşme görülse de daha sonraki 4 yılda sürekli olarak üretimin arttığı ve 2021'de 1.460.719 tona ulaştığı görülmektedir.

Çizelge 2. 5. Dünya dana eti arz ve kullanımı (bin ton).

	2015	**2016**	**2017**	**2018**	**2019**	**2020**
Üretim	57 580	58 032	59 197	60 690	61 675	61 532
İthalat	7 054	7 217	7 408	8 095	8 808	8 721
Toplam Arz	65 227	65 822	67 180	69 298	71 003	70 757
Tüketim	55 531	56 254	57 152	58 671	59 621	59 566
İhracat	9 123	8 993	9 515	10 107	10 878	10 665

Kaynak: Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE), 2022a

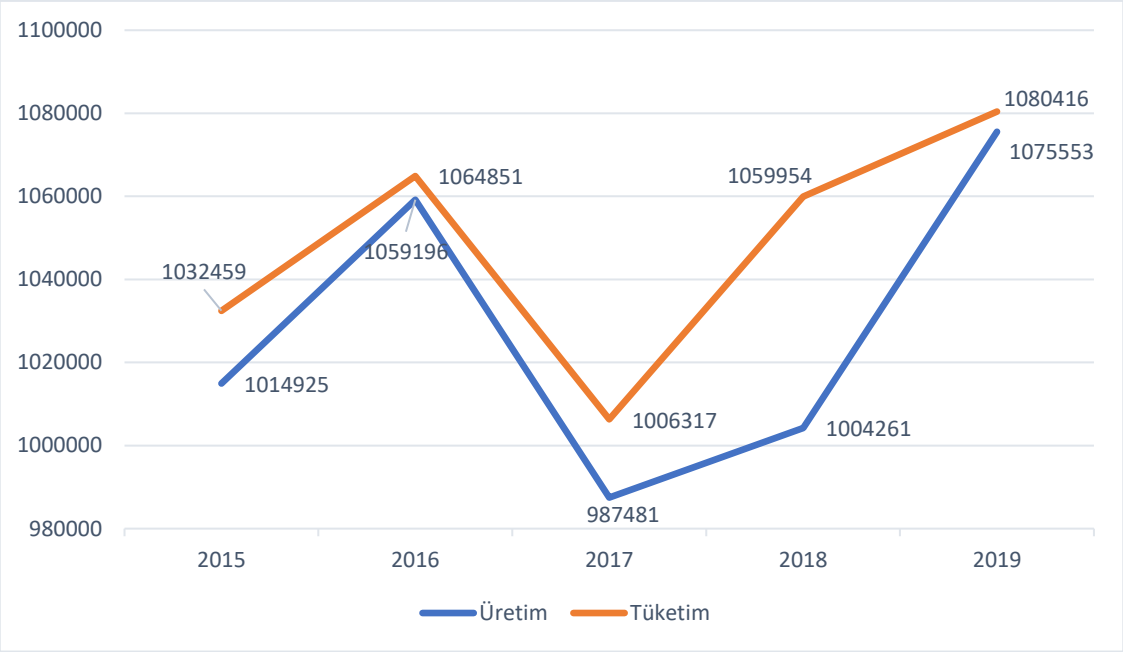
Çizelge 2.5. ve çizelge 2.6.'daki istatistiki verilerine göre dünyada dana eti tüketiminin % 2,47'sini Türkiye gerçekleştirmektedir. Dana eti üretimi ve tüketiminin 2015'ten 2021 yılına kadar artarak devam ettiği görülmektedir. Benzer şekilde çizelge 2.7'da da Türkiye'deki dana eti üretimi ve tüketiminin de artarak devam ettiği görülmektedir. Bu durum nüfus artışına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 2. 6. Türkiye dana eti verileri (ton).

	2017	**2018**	**2019**	**2020**	**2021**
Üretim	1 099 709	1 287 749	1 337 319	1 349 870	1 471 550
Tüketim	1 119 296	1 343 612	1 342 367	1 354 023	1 471 846
İthalat	20 526	57 428	6 614	5 434	2 231
İhracat	939	1 565	1 566	1 281	1935

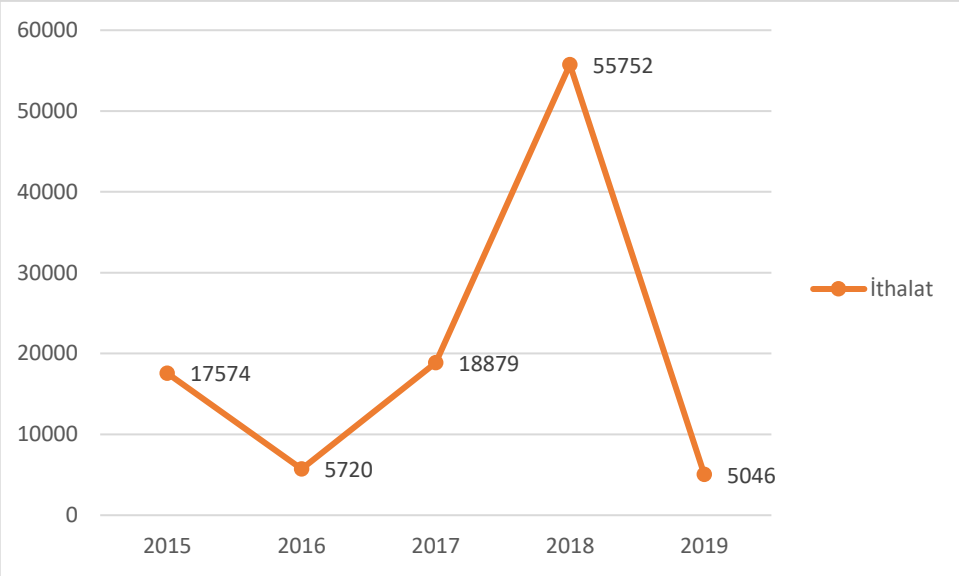
Kaynak: TEPGE, 2022b

Türkiye dana eti verilerine bakıldığında, dana eti ithalatının 2019 yılından sonra ciddi oranda düştüğü görülmektedir (Şekil 2.3). Dana eti ihracatının ise 2020 yılında bir düşüş yaşanmasına rağmen arttığı görülmektedir (Çizelge 2.6).



Şekil 2. 2. Türkiye'de 2015-2019 yılları arası dana eti üretimi ve tüketimi (ton) grafiği (TEPGE, 2022a).

Grafiğe bakıldığında üretimin 2015, 2016 yıllarında düzenli olarak arttığını 2017 yılında düştüğünü 2018 ve 2019 yıllarında tekrar yükselişe geçtiğini görüyoruz. Tüketim değerlerine baktığımızda ise 2015, 2016 yıllarında düzenli arttığını 2017 yılında azaldığını 2018 ve 2019 yıllarında tekrar artışa geçtiği görülmektedir. İstatistiki verilere bakıldığında Türkiye et üretiminde ihracata yönelik değil kendi kendine yetmeye çalışan bir ülke olduğu anlaşılmaktadır. 2015-2019 yılları arasında Türkiye'de dana eti üretim ve tüketim değerlerine bakıldığında paralellik gösterdiği ancak 2018 yılında üretim ve tüketim arasında ciddi bir fark olduğu görülmektedir (Şekil 2.2). Artan talep ithalat ile karşılandığı belirlenmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3. Türkiye'de 2015- 2019 yılları arası dana eti ithalatı grafiği (TEPGE, 2022a).

Çizelge 2. 7. 2021 Yılı Edirne ili büyükbaş hayvan sayıları.

	Toplam Hayvan Sayıları
Saf Kültür	118.018
Kültür Melezi	42.597
Yerli	855
Manda	731
TOPLAM	162.201

Kaynak: TÜİK, 2022

Edirne ilinde 2021 yılı büyükbaş hayvan sayılarına baktığımızda yerli ırkların sayısının 855 adet olduğunu görmekteyiz. Saf kültür ırkların 118.018 ve kültür melezi büyükbaş hayvan sayılarının ise 42.597 olduğu görülmektedir (Çizelge 2.7). Üreticiler hem et hem de süt üretim potansiyeli yüksek olan kültür ırklarına yönelmişlerdir. Edirne'deki sığır işletmelerinde kültür ırkı olarak Holstein ırkı ve melezleri ağırlıklıdır.

Türkler modern mezbaha yapılarına uygun taş yapıları, Edirne'yi fethettikten (1361) sonra Meriç kenarında, İstanbul'u aldıktan sonra Yedikule'de deniz kenarında yaptırmışlardır. Avrupa'da ise ilk mezbahalar 1868 yılında Almanya'da kurulduğu bilinmektedir (Karasoy, 1957). Tüketici beğenisi, etin kalitesine, aromasına bağlıdır. Et tekstürünün iyileştirilmesi için son yıllarda çalışmalar yapılmaktadır (Kök vd., 2019a).

Son zamanlarda et endüstrisinde sadece et veriminin arttırılması değil aynı zamanda daha kaliteli et ve et ürünlerini elde etmek amaçlanmaktadır. Etin kalitesini etkileyen birçok unsur vardır.

2.2. Etin Kalitesine Etki Eden Unsurlardan Bazıları

Kaliteli et elde etmek için kesim öncesinde, kesim sırasında, kesim sonrasında dikkat edilmesi gereken kurallar vardır. Kasaplık hayvanların aşılarının düzenli yapılması, et verimi ve kalitesi yönünden ebeveynlerinin doğru bir şekilde seçilmesi gibi kesimden önce dikkat edilmesi gereken kurallar vardır. Bunların yanında kasaplık hayvanın ırkı, yaşı, cinsiyeti, iyi bakılması ve beslenmesi, sağlık yönünden takip edilmesi gerekir. Kesim öncesinde hayvanın strese sokulmaması gereklidir. Kesim ortamının hijyenik koşullara sahip olması, hayvanın ehil kişiler tarafından kesilmesi, kesim yöntemi (tam askıda/yarı askıda kesim), kanın doğru ve tamamen akıtılması kesim sırasında dikkat edilmesi gereken hususlardır. Kesim sonrasında ise etin doğru bir şekilde dinlendirilmesi, soğutulması, saklanması, depolanması gibi konulara dikkat edilmesi et kalitesi açısından oldukça önemlidir. Belirtilen geleneksel yöntemlerin yanında günümüzde moleküler biyolojik yöntemler, nükleer manyetik rezonans, ultrason, görüntü analizleri, yakın kızılötesi spektroskopi gibi yeni tekniklerle hayvanların kesim öncesi et kalitesinin belirlenmesinde bazı enstrümanlar kullanılmaktadır (Söbeli & Kayaardı, 2014).

Özetle etin kalitesine etki eden unsurlar;

- Hayvanın ırkı, yaşı, cinsiyeti
- Hayvanın bakımı
- Hayvanın sağlık durumu
- Hayvanın kesim öncesi gördüğü muamele
- Hayvanın kesim yöntemi
- Etin dinlendirilmesi
- Etin su tutma kapasitesi
- Etin pH'sı
- Etin rengi
- Mermerleşme derecesi (Marbling)
- Etin yağ asidi kompozisyonu

2.2.1. Hayvanın Bakımı

Hayvanların iyi bakılmasının etin verimine ve kalitesine olumlu etkileri bulunmaktadır. Hayvanların kesim sırasında; yorgun olup olmaması, hayvanlara uygulanan kötü muameleler ve bu durumun sonucunda hayvanda oluşan stresin kesim sonrası etin pH'sı üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca hayvanların yediği rasyon da kesim sonrasında etin pH'sına etkilidir. Yüksek enerjili rasyonlarla beslenen hayvanların pH dereceleri daha düşük tespit edilmiştir (Ardıçlı, 2018).

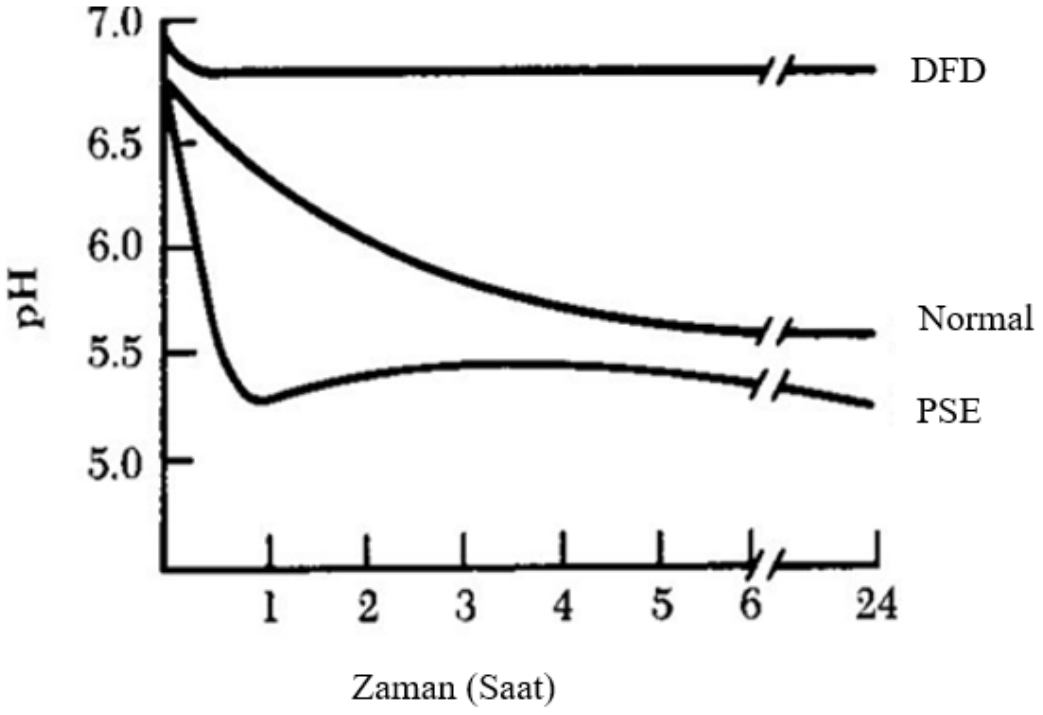
Mermerleşme oranı ve MUFA konsantrasyonu, tahılla beslenen ve merayla beslenen sığırlarda zamanla artar, ancak tahılla beslenen sığırlarda çok daha fazla bir şekilde artar. *Bos indicus* ve *Bos taurus* sığırlarından elde edilen sığırların yağ asidi kompozisyonunda küçük farklılıklar vardır. Ancak yağ asidi kompozisyonu için rasyon ve beslenme süresi, ırk tipinden çok daha önemlidir (Smith, Gill, Lunt & Brooks vd., 2009).

2.2.2. Kesim Öncesi Süreç

Hayvanların uygun koşullarda mezbahaya getirilmesi çok önemlidir. Taşıma mesafesi, taşıma süresi, taşıma sıklığı gibi etkenlere dikkat edilmelidir. Hayvanlar kesim öncesinde yeterince dinlendirilmiş olmalıdır. Yorgun ve hasta hayvanlarda yetersiz glikojen seviyelerinden dolayı pH'da istenen seviyelere ulaşılamaz (Ardıçlı, 2018). Uygun kesim işleminin gerçekleştirilmediği durumlarda da benzer olumsuzluklar yaşanmaktadır. Ayrıca mezbaha koşullarının uygun olması gerekmektedir. Aksi halde iyi bir et kalitesinin elde edilmesi zordur.

2.2.3. Kesim Sonrası (Postmortem) Etteki Fiziksel ve Kimsayasal Değişiklikler

Kesimden sonra hayvanın kaslarındaki hayati fonksiyonlar devam eder. Kasların ete dönüşümleri için zaman gerekir. Bu sürede kaslarda biyokimyasal ve biyofiziksel reaksiyonların devam ettiği sürece postmortem değişiklikler denir (Ardıçlı, 2018). Kaslar gerekli olan enerjiyi glikojeni kullanarak yerine koymaya çalışır. Yeteri miktarda glikojen sağlanamazsa postmortem enerji sağlanamaz. Dolayısıyla kaslarda laktik asit oranı yetersiz kalabilir. Böyle bir durumda olması gereken reaksiyonlar gerçekleşemez ve kasların ete dönüşümü istenilen kalitede olmaz. Bu sebeple kesim sırasında kaslardaki glikojen seviyesi önemlidir. Yetersiz glikojen rezervi etin pH değerini arttırır. Etin renginin koyu olmasına ve raf ömrünün kısalmasına sebep olur (Keyvan, 2010). Yapılan bir çalışmada 1 kg kasta pH değerinin 7,2'den 5,5'e düşmesi için 45 mmol glikojenin gerektiği tespit edilmiştir (Immonen, Ruusunen, Hissa, Puolanne, 2000).



Şekil 2. 4. Hayvanın kesim sonrası ilk 24 saatte etin pH'sındaki değişim grafiği (Greaser, 1986).

Bu değişimler, pH'yı dolayısıyla et rengi gibi diğer kalite özelliklerini etkilediğinden dolayı oldukça önemlidir. Kesimin ardından etin pH değeri 7,0-7,3

seviyesindedir (Türkyılmaz, Oğraş, Dağdelen, Yaprak & Esenbuğa, 2021). İlerleyen süreçte 24 saat içinde pH 5,3-5,8 seviyelerine gelir (Savell, Mueller & Baird vd., 2005). Laktik asit miktarına bağlı olarak, kaslarda pH değerinin normal düzeylerde düşmesi istenmektedir. Bu değerlere gelinememesinin en önemli sebeplerinden birisi hayvanın maruz kaldığı strestir. Bu yüzden kesim öncesi süreç çok önemli bir faktördür (Ardıçlı, 2018; Keyvan, 2010).

Kaslarda glikojen seviyesinin az olması dolayısıyla pH'da çok az bir düşüşün meydana gelmesi alkali rigor mortis olarak adlandırılır. Elde edilen etler, koyu renkli, sert ve kuru (DFD: Dark, Firm, Dry) şekilde oluşur. Bununla birlikte, kesim öncesinde yeterli glikojen seviyesinin bulunmasına rağmen kesim esnasında glikolizisin çok hızlı gerçekleştiği durumlarda ise asidik rigor mortis oluşur. Asidik rigor mortis oluştuğunda etler, soluk renkli, yumuşak ve sulu bir özellik (PSE: Pale, Soft, Exudative) gösterir. DFD ve PSE etler düşük değerli etler olarak kabul edilir (Şekil 2.4). Bu sebeple işletmeciler için önemli ekonomik kayıplara yol açar (Ardıçlı, 2018).

Sığır etinde arzu edilen ve hedeflenen kalitenin elde edilmesinde postmortem değişikliklerin önemi büyüktür. Ayrıca postmortem değişiklikler ile birlikte genetik ve çevresel faktörlerin etkileri de önemlidir (Ardıçlı, 2018).

2.2.4. Etin pH Düzeyi

Et kalitesini belirlemede en basit, en hızlı ve en önemli kriterlerden biri pH düzeyidir (Aksoy 2021; Karasoy, 1957; Türkyılmaz vd., 2021). Et muayenelerinde ve özellikle mecburi kesime tabi tutulmuş hayvan etleri hakkında, hüküm verebilmek için bakteriyolojik muayenelerle birlikte, pH tayini metotlarına başvurulmaktadır. Etlerin muayenesi ile insanların ilgilenmesi çok eski tarihlere dayanmaktadır. Din kitaplarından Tevratta, İncilde ve Kur'an'da et ile ilgili hükümler görülmektedir (Karasoy, 1957).

Post-mortal olayların içerisinde ölüm sertliği (Rigor mortis), asiditeye bağlı olan pH derecesi, olgunluk, kokuşma en önemli meselelerdendir. Bu durumlar hayvanların cinsine, sağlık durumuna, besi derecesine, kesimden önce yemiş olduğu besinlere, aç, tok, yorgun oluşlarına, dinlenmiş olmalarına, iyi kan akıtılıp akıtılmadığına bağlı olarak değişiklikler gösterir (Karasoy, 1957).

Canlı hayvanda etin pH seviyesi 7,3 civarındadır. Kesim yapılıp hayvanın kanı akıtıldıktan sonra pH 7,0 değerine gelir (Vapur, 2019). Kesim sonrası oksijen düzeyi düşer ve kaslarda anaerobik glikozis şekillenir. Laktik asit oranı artar ve bu durumda pH seviyesinin azalmasına neden olur (ŞİRELİ, 2018). Kesimden bir saat sonra etin pH değeri 5,6-6,2 civarında olması gerekir. pH'nın istenen değere gelmesi ile et daha sulu ve gevrek bir hal alır (Savell vd., 2005; Şireli, 2018; Türkyılmaz vd., 2021).

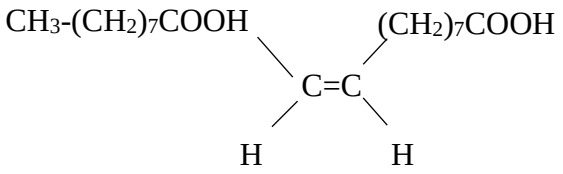
2.2.5.Etin Mermerleşme Derecesi

Etin kalite unsurlarından birisi de mermerleşmedir. Mermerleşme, MLD kas yüzeyinde intramuskuler (kabuk yağ) yağ dağılımı ve kas lifleri arasındaki (mozaik yağ) yağ miktarı olarak tanımlanır (Lee, Oh, La & Yeo, 2012a). Yağın kas içerisinde homojen bir şekilde dağılması, bir yerde toplanmaması istenmektedir. Et alırken tüketiciler ette mermerleşmenin iyi derecede olmasına dikkat ederler. Ancak mermerleşmenin iyi derecede olması tek başına yeterli değildir. Aynı zamanda etin yağ asidi bileşimi de önemlidir.

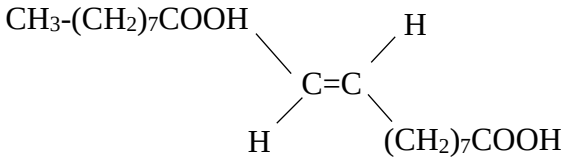
2.3. Etin İçeriğindeki Yağ Asitleri

Etteki yağ asitleri genel olarak orta ila uzun zincir uzunluğundadır, yani molekülde CH_3CH_{2n} COOH temel yapısıyla 12 ila 22 karbon atomuna sahiptirler. Kuzu yağında az miktarda daha kısa zincirli yağ asitleri olan C8–C10 bulunur (Wood vd., 2007).

Yağ asitlerinin yaklaşık % 40'ı doymuştur (SFA), yani her bir karbonun bağlı iki hidrojen atomu vardır, yaklaşık % 40'ı bir çift bağa (MUFA) sahiptir, yaklaşık %2-25'i birden fazla çift bağa sahiptir (PUFA). Yağ asitleri genellikle karbon zincir uzunluğuna ve çift bağ sayısına göre isimlendirilir, örneğin oleik asit (18:1), 18 karbon içerir ve bir çift bağa sahiptir. Çift bağlar, hidrojen atomlarının aynı yönü gösterdiği daha yaygın cis tipi veya daha düz moleküler konfigürasyonla sonuçlanan zıt yönlere işaret ettikleri trans tipidir. Oleik asit (18:1 ω-9), tüm etlerdeki ana yağ asididir ve toplam yağ asitlerinin %30' undan fazla bulunur (Şekil 2.5). Oleik asit, PUFA'lara oranla oksidasyona daha dayanıklıdır (Bayram & Özçelik, 2012).



C18:1, cis-9 Oleik Asit



C18:1, trans-9 Elaidik Asit

Şekil 2. 5. cis-9 Oleik Asit ve trans-9 Elaidik Asit açık formulü (Wood vd., 2007).

Yağ asidi molekülünün uzunluğu, doymamışlık derecesi ve erime noktası gibi fiziksel özellikleri etkiler. Zincir uzunluğu ne kadar uzunsa ve molekülde ne kadar az çift bağ bulunursa, erime noktası o kadar yüksek olur. Doymuş ve trans yağ asitleri, doymamış ve cis yağ asitlerinden daha yüksek bir erime noktasına sahiptir (Çizelge 2.8). Bu nedenle yüksek oranda SFA, yumuşak yağ dokusundan çok sert yağ dokusuna neden olur (Wood vd., 2007).

Sığırların işkembesi içindeki mikroorganizmalar, diyetle alınan doymamış yağ asitlerinin çoğunu hidrojene eder, bu da geviş getirmeyen hayvanlardan elde edilen etlere kıyasla sığır etinde daha yüksek bir SFA konsantrasyonu ile sonuçlanır. Geviş getirmeyenler için bunun aksine, sığır etinin yağ asidi bileşimi beslenme düzenine çok daha az bağlıdır (Zhang vd., 2008).

C15:0 ve C17:0 yağ asitleri, ruminant hayvanların et ve süt yağlarında bulunmaktadır. Bu yağ asitleri hayvanların kolonunda bakteriyel fermantasyon sonucunda üretilmekte ve bu ürünlerin tüketimiyle insanlara geçmektedir (Koptagel & Kürklü, 2020). Bitkisel yağlarda yapılan çalışmalarda bu yağ asitleri yok denecek kadar az miktardadır. Bu bakımdan gıdalarda taklit ve tağşişi değerlendirmek açısından önemli yağ asitlerindendirler.

Ruminantlardaki önemli bir yağ asidi grubu konjuge linoleik asitlerdir. Bunların, hayvanın ve et tüketicilerinin vücudunda bir dizi fizyolojik etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Nergis, Koncagül & Kiraz, 2016).

Çizelge 2. 8. Yağ asitlerinin zincir uzunluğu, çift bağ sayısı ve karbon bağlama konfigürasyonuna bağlı olarak erime noktaları.

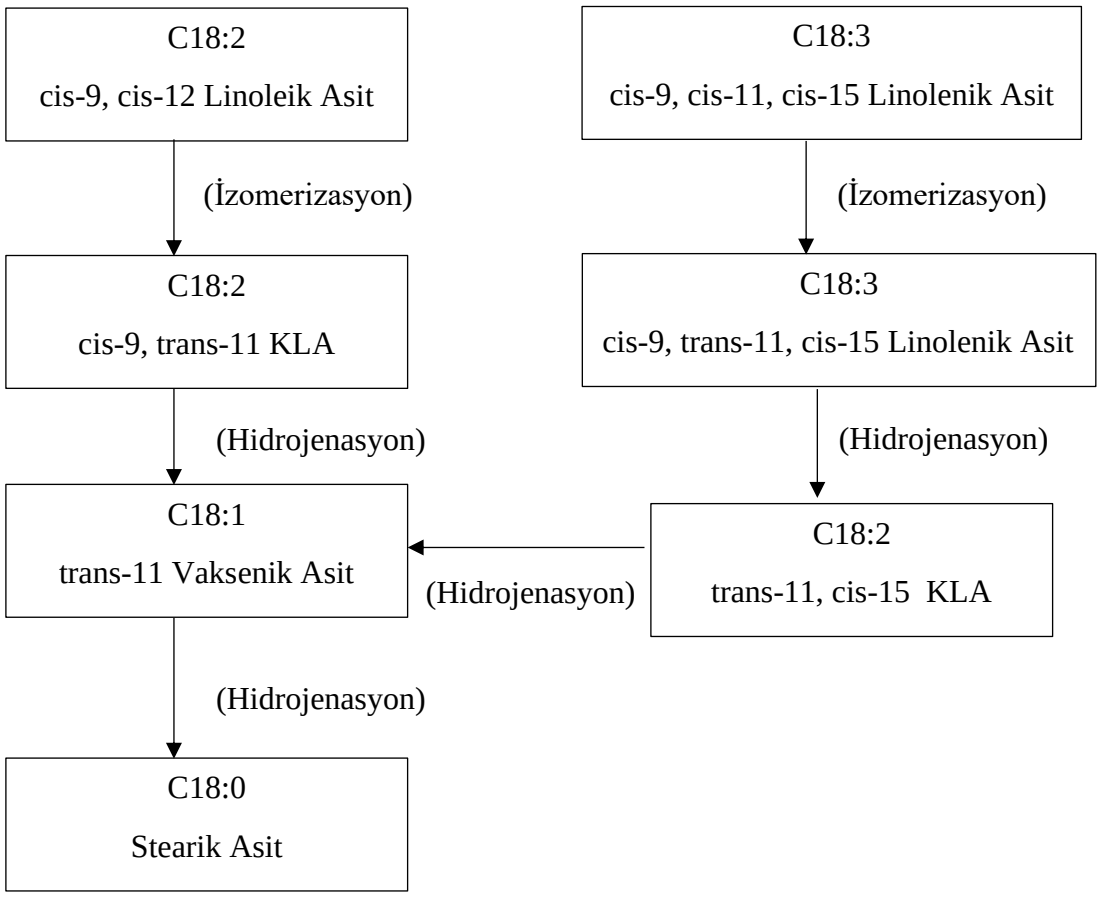
Yağ asidi	**Erime Noktası (°C)**
Laurik Asit, 12:0	44.2
Miristik Asit, 14:0	54.4
Palmitik Asit, 16:0	62.9
Stearik Asit, 18:0	69.6
Araşidik Asit, 20:0	75.4
Elaidik Asit,18:1 trans-9	43.7
Oleik Asit,18:1 cis-9	13.4
Linoleik Asit, 18:2	-5.0
Linolenik Asit, 18:3	-11.0

Kaynak: (Wood vd., 2007)

Etteki MUFA, rumende doymuş yağ asitlerinden üretilebilir veya karaciğer yağ dokusunda glikoz veya asetattan sentezlenebilir. MUFA örneğin C18:1 cis-9 esas olarak SFA'dan yağ dokusunda desatüraz enzimlerinin etkisiyle oluşturulur. Örneğin stearik asitten, oleik asit (C18:1 ω-9) oluşturan delta 9-desatüraz, palmitik asitten (C16:0) palmitoleik asit (C16:1(ω-9)) oluşturur. Bu aynı enzim kompleksi rumende üretilen KLA, C18:1 trans-11'den izomeri olan cis-9, trans-11 KLA'yı oluşturur. Çoğu KLA oluşumu yağ dokusunda meydana gelir, ancak bir kısmı rumende meydana gelir (Çelebi & Adem, 2008; Wood vd., 2007).

PUFA'lar, ilk çift bağın eklendiği metil ucundan karbon zinciri boyunca konumu tanımlayan ω -6 veya ω -3 tipindedir. En büyük miktarda bulunan ω-6 yağ asidi, esansiyel bir yağ asidi olan linoleik asittir (18:2-(ω-6)), yani tamamen rasyondan elde edilir (örneğin yağlı tohumlar ve tahıllar). Hayvanlar, C18:2'yi araşidonik asit (20:4 ω-6) gibi daha uzun zincirli ω-6 yağ asitlerine dönüştürebilen desatüraz ve uzama enzimlerine sahiptir. Benzer şekilde, en yaygın ω-3 yağ asidi, bitki ve otların yapraklarında bulunan α-linolenik asittir (C18:3 (ω-3), ALA). Bu yağ asidi, eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5 (ω -3)) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6(ω-3) gibi uzun zincirli ω-3 yağ asitlerine dönüştürülebilir.

Ruminant ve ruminant olmayan türlerin doku ve etlerindeki PUFA oranlarında büyük farklılıklar vardır. Çünkü bunlar domuzlarda ve kümes hayvanlarında sindirimle pek değişmez ve doğrudan yağ dokusuna dahil edilir. Geviş getirenlerde ise rumendeki mikroorganizmalar tarafından geniş ölçüde hidrojene edilirler (Şekil 2.6). Bu mikrobiyal etki, işkembeden çok çeşitli modifiye edilip geçtiği ve vücut dokularında emildiği için genellikle düşük seviyelerde PUFA yağ asitleri (% 10 veya daha az) ile sonuçlanır.



Şekil 2. 6. İşkembedeki biyohidrojenizasyon yollarının basit bir temsili (Wood vd., 2007).

Etteki yağ asitleri, nötr triaçilgliserol (depolama görevi) ve daha polar gliserofosfolipid (yapı ve metabolik görev) olmak üzere iki ana lipid sınıfında bulunur. Nötr triaçilgliserol, olgun hayvanlarda (görünür yağ) yağ dokusunun ana lipid bileşenidir (>% 90). Hücre zarlarının bir bileşeni olan gliserofosfolipid, kastaki toplam yağ asitlerinin % 10-% 40'ına katkıda bulunur. Fosfolipidler, triaçilgliserolden çok daha yüksek bir PUFA konsantrasyonuna sahiptir. Örneğin bir çalışmada, domuz bel kası nötr lipidi (triaçilgliserol) ve fosfolipid, sırasıyla % 12 ve %34 18:2(ω-6) içerdiğini tespit edilmiştir (Wood vd., 2004). Yağ dokusu triaçilgliserol ve kas fosfolipidinin yağ asidi bileşimi için bazı ortalama değerler Çizelge 2.9.'da verilmiştir ve farklı türlerin tahıl bazlı (konsantre) diyetlerle beslendiği çalışmalardan elde edilmiştir.

Çizelge 2. 9. Sığır, koyun ve domuzlarda adipoz doku triaçilgliserol ve *Longissimus* kas fosfolipidinin ana yağ asitleri (toplam yağ asitlerinin yüzdesi).

Yağ Asitleri	**Adipoz Dokuda Triaçilgliserol**			**Kasta Fosfolipid**		
	Sığır	**Koyun**	**Domuz**	**Sığır**	**Koyun**	**Domuz**
C14:0	3,8	3,0	1,4	0,4	0,5	0,7
C16:0	26,1	21,3	24,8	14,9	15,4	17,5
C18:0	10,9	9,2	12,0	10,6	10,3	13,7
C18:1(ω-9)	36,5	32,0	35,7	22,0	25,8	17,2
C18:2(ω-6)	1,9	1,9	13,3	18,4	12,3	25,3
18:3(ω-3)	0,2	1,7	1,3	0,4	5,0	1,0
C20:4(ω-6)	-	-	0,2	10,4	5,6	9,1

Kaynak: (Wood vd., 2007)

2.4. Holstein (Friesian – Siyah&Beyaz Alaca)

Çizelge 2. 10. Holstein ırkı sığırların sistematikteki yeri.

ALEM	Animale (Hayvanlar)
Şube	Chordate (Kordatılar)
Alt Şube	Vertebrate (Omurgalılar)
Sınıf	Mammalia (Memeliler)
Alt Sınıf	Plancetalia (Plasentalılar
Takım	Ungulata (Tırnaklılar)
Alt Takım	Artiodacnty (Çift Tırnaklılar)
Grup	Ruminantia (Geviş Getirenler)
Aile	Bovidae
Alt Aile	Bovinae
Cins	Bos
Alt Cins	Taurus
Tür	Bos taurus

Anavatanı Hollanda`nın Frizya bölgesidir. İsmini Almanya`nın Holstein eyaletinden almıştır. Holstein genel olarak sütçü yönde ıslah edilmiş bir kültür ırkıdır. Fakat yetiştiriciler tarafından iki yönlü yani kombine ırk olarak da beslenmektedir. Hollanda kökenli Holstein ırkları kombine bir yapıdayken, Amerika'daki tipleri daha çok sütçü yapıdadır. Cidago yüksekliği 140-156 cm arasındadır. Erkek de dişi de boynuza sahiptir. Derisi ince ve yumuşaktır. Boynunda vertikal kıvrımlara sahiptir. Sağlam kemik yapısı vardır. Avrupa'da Siyah-Beyaz Alaca inekleri, et ırkı boğalarla tohumlanmaktadır. Bu sayede et verimi yüksek kasaplık kombine boğalar elde edilmektedir. Soğuk hava şartlarına dayanıklı, sıcak iklimlere uyumu ise kötüdür. İneklerin ergin canlı ağırlığı yaklaşık 650 kg iken boğaların ergin canlı ağırlığı ortalama 1050 kg'dır.

Siyah-Alaca erkek buzağıları hızlı gelişebilmelerinden dolayı buzağı eti üretiminde kullanılırlar. Buzağılar, yaklaşık 14-16 haftalık yaşta 120-180 kg ağırlığa ulaşabilmektedirler. Erkek ve dişilerin besideki günlük canlı ağırlık artışı 1000-1400 g arasında değişmektedir. Erkeklerin et verimi açısından ideal kesim ağırlığı 24 aylık yaşta olması gerekirken 12-15 aylık yaşta da kesim yapılmaktadır ('Siyah Alaca',2022). Edirne

mezbahasındaki erkek Holsteinların kesim yaşı ortalama 16-17 aylıktır. Kesimdeki karkas ağırlık ortalamaları 279,05±3,53 kg'dir (Kök &Vapur, 2019).

2.5. Mutasyon ve Polimorfizm

Bir popülasyondaki görülme sıklığı %1'den daha düşük olan varyantlar mutasyon olarak ifade edilmektedir. Polimorfizm ise bir türün farklı bireylerinde farklı dizilerin görülmesi olarak açıklanmaktadır ve replikasyon sırasında meydana gelen hatalardan kaynaklandığı varsayılmaktadır. En sık gözlenen polimorfizmler tek nükleotid polimorfizmleridir (SNP) (Çalık, 2020).

2.6. Tek Nükleotid polimorfizmleri (SNP)

SNP, DNA üzerinde pozisyonu belli olan bir bazda ortaya çıkan tek nüklotit değişikliğidir. Bütün genetik varyasyonların % 90'ını oluşturmaktadır. SNP'ler transisyon (Pürin-Pürin ve Primidin-Primidin baz değişimleri) veya transversiyon (Pürin-Primidin baz değişimleri) şeklindedir. Damızlık sığır ırklarında gerçekleştirilen genomik sekans analizleri sonucu otozomal ve seks kromozomal lokalizasyonlu toplam SNP sayısı 52.678 olarak tespit edilmiştir (Çalık, 2020). Aynı şekilde bu araştırmalarda farklı SNP'lere ait Minör Alel Frekans (MAF) değerleri istatistiki olarak fark anlamlı bulunmuştur (Dadi, Kim, Yoon & Kim, 2012). Eksonlardaki SNP varyantların proteindeki amino asit sekansında değişime neden olabileceği belirtilmiştir. Belirli bir popülasyonda görülme sıklıkları %1'in altında olabilmektedir. Bazı SNP'ler, regülatör sekanslarında değişime neden olabilmekte ve böylece dolaylı bir şekilde gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir. Popülasyonlar arasındaki genetik farklılıklar fenotipik çeşitliliğe sebep olabilmektedir. Epidemiyolojik ve biyomedikal araştırmalar farklı popülasyonlarda hasta bireyler ve sağlıklı kontroller arasındaki SNP farklılıklarını ortaya koymaktadır (Dadi vd., 2012). Bazen hastalıklara karşı duyarlılık veya direnç şeklinde olduğu gibi damızlık hayvan ırkı için etin gevrekliği ve duyusal özellikleriyle ilgili farklılıklar olarak da kendini göstermektedir (Leal-Gutierrez, Elzo, Johnson, Scheffler, Scheffler & Mateescu, 2018; Sun, Cheng, Tian & Wu,, 2008). SNP belirlemede farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler bilinen SNP'lerin analizine veya yeni SNP'lerin identifikasyonuna yönelik olarak değişmektedir. Bilinen SNP'nin analizi için PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), restriksiyon enzimleri ile PCR analizi (PCR-RFLP),

ARMS (Özgü Amplifikasyon) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle birlikte, günümüzdeki en yaygın yöntem çok sayıda geni ya da geniş gen bölgelerinin aynı anda daha hızlı ve kolay taranmasını sağlayan Yeni Nesil Dizileme (NGS) teknolojisidir. Ancak, Sanger Sekanslama yöntemi ile yeni tanımlanan SNP'lerin sağlamalarının yapılması gerekmektedir (Çalık, 2020).

2.7. Hayvan Yetiştirmede Markır Desktekli Seleksiyon (Marked Assisted Selection-MAS)

Hayvan yetiştirmede fenotipik özelliklerden moleküler genetiğe doğru 1990'lı yıllardan itibaren bir yoğunlaşma başlamıştır (İnanç & Daşkın, 2015). Bu teknik, iki bölümden oluşmaktadır; markırlarla ilişkili olan QTL (kantitatif karakter lokusu), markırların kullanıldığı markır destekli seleksiyondur (MAS). Üzerinde durulan özelliklerin genlerinin seçimi MAS sayesinde daha basit bir biçimde yapılabilmektedir. MAS geleneksel yöntemlerle birlikte; et kalitesi, hastalıklara direnç gibi seçilen özelliklerde önemli bir yere sahiptir. Genomik seleksiyon, tüm genomu kapsamaktadır. Ayrıca QTL'lerin en az bir markır ile LD içerisinde olacağı biçimde genetik markırların faydalanıldığı bir çeşit MAS yöntemidir (Goddard & Hayes, 2007; Özbeyaz & Kocakaya, 2011; İnanç vd., 2015). LD, populasyonda beklenen değişik frekanslardan sapan bir haplotipin belli allellerinin rastgele olmayan dağılımlarıdır. Bu metot, genom dizisindeki fazla sayıda SNP'nin genotiplendirilmesi sayesinde uygulanabilir hale gelmiştir. İyi bir yetiştirme planının belirlenmesi, populasyonun anlaşılabilmesi ve genetik yapının ortaya çıkarılabilmesi için LD ve populasyonun yeteri derecede geniş olması önemlidir. MAS temelde, seçilen özelliklerle genomik seleksiyon yapılmasıdır. Böylece et kalitesi, etteki yağ asitlerinin oranı gibi değişkenlerin genotipteki etkileri baz alınan hayvan türleri ile kıyaslanarak seleksiyon yapılmasıdır. Markırlar ile genotip belirlenebilmektedir. Bunlara ilave ile tahmini genomik ıslah değeri (TGID) ortaya konulmasını sağlamaktadır. Bunun sonucunda, TGID'ye bakılarak yetiştirmede kullanılacak hayvanlar ayrılabilir ve markırlar ile tüm genomun genetik kapsamı öngörülebilmektedir. Genomik seleksiyon, TGID'ye göre karar verilen bir seleksiyon yöntemidir. TGID, genetik markırların etkisine göre veya bu markırların tüm genomdaki o husus için QTL'deki etkisine bakılarak hesaplama yapılmaktadır. QTL'in etkisi ya haplotiplerle ya da SNP markırları ile büyük popülasyonlarda fenotipik bilgiye bakılarak ortaya çıkartılmaktadır. Bundan sonra

gelecek nesillerde sadece markırlara bakılarak TGID hesaplanmaktadır. Yani TGID arzu edilen kantitatif karakterdeki taşınan markırlar göz ününe alınarak değerlendirilmektedir (İnanç & Daşkın, 2015).

2.8. Et Kalitesi ve Yağ İçeriği ile İlişkili Bazı Genler

Et sığırı yetiştiriciliğinde et verimine önem verilmektedir. Ancak etin sadece et verimi değil kalitesi de önemli bir özelliktir. Et tüketiminde, et yağı asitleri bileşimine önem verilmektedir. Ayrıca, doymamış yağ asitlerinin insan sağlığı için faydalı olduğu bildirilmiştir (Koletzko, Aggett, Bindels, Bung, Ferre, Gil, Lentze, Roberfroid & Strobel, 1998). Doymamış yağ asitleri aterosklerozun önlenmesine katkıda bulunabilmektedir (Massaro, Carluccio, Bonfrate, Siculella, Lazzerini, Bernini, Basta & De Caterina, 1999).

Etteki yağ asidi bileşimi önemli bir ekonomik özelliktir ve etteki yağ asidi bileşiminin iyileştirilmesi, özellikle doymamış yağ asitlerinin artması önemlidir (Mannen, 2011). Son çalışmalar, etteki yağ asidi bileşimine etki eden genleri ortaya çıkarmıştır (Çizelge 2.11).

Çizelge 2. 11. Sığırlarda et kalitesi ve yağ içeriği ile ilişkili bazı genler.

GEN	**LOKASYON**	**ÖZELLİK**	**LİTERATÜR**
FASN	BTA19	Mermerleşme	Hayakawa vd., 2015
CAPN1	BTA29	Mermerleşme	Xin, Zhang, Li, Liu, Jin & Yan, 2010
CAST	BTA7	Mermerleşme	Li, Ekerljung, Lundstrom & Lunden, 2013
FABP4/FABP5	BTA14	Mermerleşme	Lee, Cho, Lee, Kim, Kim, Choy, Kim, Yoon, Im, Oh & Park, 2008
SCD/SCD5	BTA26/BTA6	Mermerleşme	Lee vd., 2008
LEP	BTA4	Mermerleşme	Li vd., 2013
TTN	BTA2	Mermerleşme	Lee vd., 2008
NEB	BTA2	Mermerleşme	Lee vd., 2008
RORC	BTA3	Mermerleşme	Barendse, Bunch & Harrison, 2010
IGFBP5	BTA2	Mermerleşme	Lehnert, Reverter, Byrne, Wang, Nattrass, Hudson & Greenwood, 2007
FSTL1	BTA1	Mermerleşme	Lehnert vd., 2007
ALDOA	BTA25	Mermerleşme	Lehnert vd., 2007
DGAT1	BTA14	Mermerleşme	Li vd., 2013
ADIPOQ	BTA1	Mermerleşme	Wang, Bower, Reverter, Tan, De Jager, Wang, McWilliam, Cafe, Greenwood & Lehnert, 2009
THRSP	BTA29	Mermerleşme	Wang vd., 2009

2.8.1. Yağ Asidi Bağlayıcı Protein 4 (FABP4) Geni

Yağ asidi bağlayıcı protein 4 (FABP4) geni, farklı dokularda lipid hidrolizinde ve hücre içi yağ asidi taşınmasında önemli bir rol oynar (Damcoot vd., 2004; Chmurzynska vd., 2006).

Son zamanlarda, çeşitli raporlar, büyükbaşlardaki FABP4 geni SNP'leri yağ asit bileşimi ile ilişkisini göstermiştir. Mermerleşme oranını, deri altı yağ derinliğini ve BTA 14 ile ilişkilendirilen sığır etindeki mermerleşme için önemli bir QTL aralığına düşmeyi olumlu etkileyen FABP4'e ait iki tür SNP tanımlanmıştır (Michal vd., 2006; Pannier vd., 2010). Oh vd., (2012b), tarafından Kore sığırları üzerinde yapılan çalışmada ekson 2, 3, 4' te 9 aday SNP gösterilmiş. 5 monomorfik lokus, genetik ilişki analizine dahil edilmemiştir. Toplam 4 seçilmiş SNP, çeşitli yağ asidi bileşimi ve karkas özellikleriyle ilişkilendirilmiştir. Buna göre, ekson 2, 3 ve 4'teki dört SNP'nin doymamış yağ asitleri ve mermerleşme oranıyla belirli ilişkiler kurarak sığır etinin lezzetini arttırdığı anlaşılmıştır (Oh vd., 2012b).

Oleik asit ile yüksek oranda ilişkili olan FABP4, sığır eti lezzeti ve kalitesinin iyileştirilmesi için değerli bir aday belirteç olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle, FABP4'ün eksonik SNP'lerin doymamış yağ asitleri ile olan ilişkileri hakkında genetik bilgi elde etmek, bunları daha yüksek sığır eti kalitesinde önemli faktörler haline getirmek ve bu faktörlerin sığırlarda sığır lezzetinin iyileştirilmesinde kullanılan aday bir gendir.

2.8.3. Leptin (LEP) Geni

Leptin, obezite hormonu olarak bilinmektedir. Yağ metabolizmasını, vücut ağırlığını ve enerji tüketimini düzenlemesi ile metabolizmada önemli rolleri bulunmaktadır (Tian, Zhao, Zhang, Zhang, Yu, Li & Yang, 2013). Sığırlarda yapılan çalışmalarda, LEP geninin enerji metabolizmasını düzenleme, yemden yararlanma, mermerleşme skoru ve vücut yağı ile olan ilişkiler ortaya konulmuştur (Buchanan, Fitzsimmons, Van Kessel, Thue, Winkelman-Sim & Schmutz, 2002; Kök & Vapur, 2021). Leptin hormonu, LEP geni tarafından kodlanmaktadır. LEP geni yapılan çalışmalarda, çeşitli sığır ırklarında et kalitesi ve karkas özellikleri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (Buchanan vd., 2002; Kök & Vapur, 2021; Pinto, Ferraz, Pedrosa, Eler, Meirelles, Bonin, Rezende, Carvalho, Cucco & Silva, 2011; Silva, Crispim, Silva,

Oliveira, Siqueira, Seno & Grisolia, 2014). Yağ metabolizması ve depolanmasındaki etkileri nedeniyle LEP yağ asitleri kompozisyonu bakımından değerlendirilmesi gereken bir aday gendir (Kök, S., Vapur, G. & Özcan C., 2015)

2.8.4. Ghrelin (GHRL) Geni

Ghrelin (GHRL) yağ tüketimi sırasında artan bir hormondur (Atalay, 2015). Yapılan çalışmalarda GHRL hormonunun, enerji metabolizması, yağlanma üzerine etkileri tespit edilmiştir. Çeşitli hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, GHRL yağ depolanmasında direkt olarak karaciğer ve yağ dokuyu etkileyerek rol almaktadır (Atalay, 2015). GHRL yağ asitleri kompozisyonu bakımından değerlendirilmesi gereken bir aday gen olarak değerlendirilebilir.

2.8.5. Calpain (CAPN) ve Calpastatin (CAST) Genleri

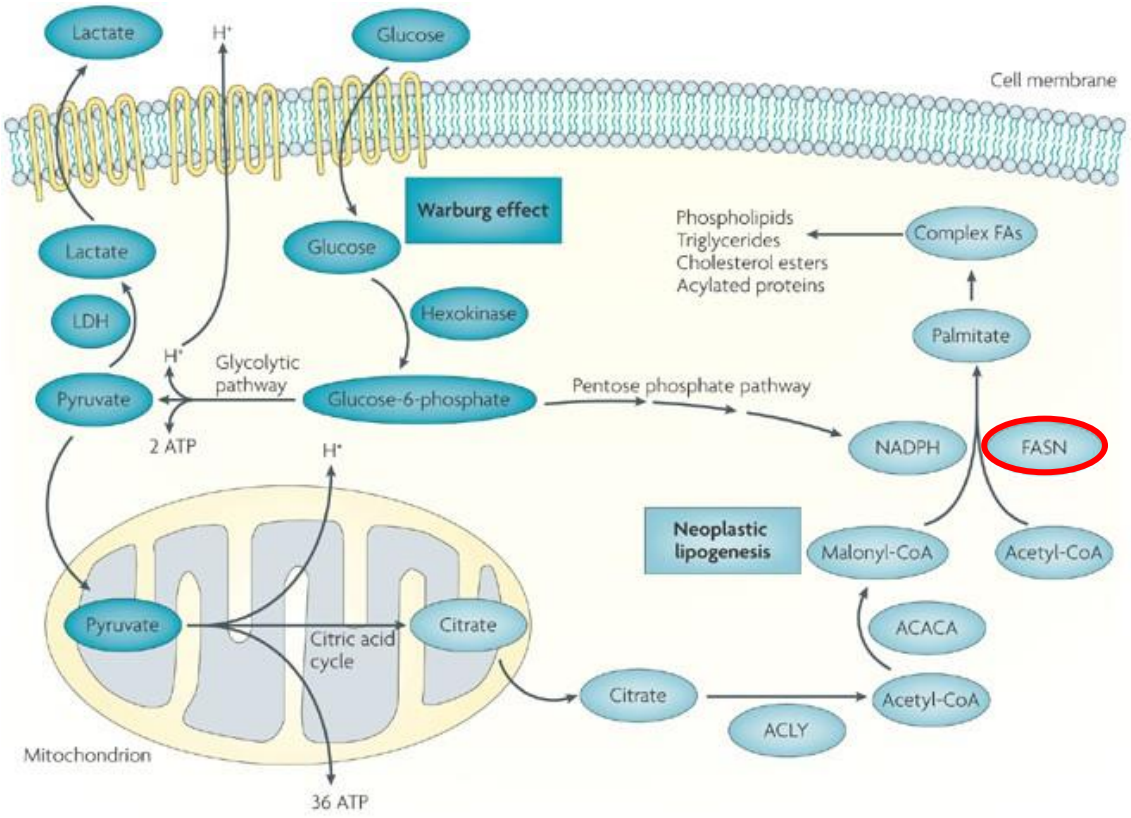
CAST Sığırlarda 7. kromozom (BTA7) üzerinde, CAPN ise 29. kromozom (BTA29) üzerinde bulunur. CAST et tekstürü üzerine CAPN üzerinden etki gösterir. CAST, CAPN ile hücre sitozolünde ve membranda bulunur. CAST, CAPN'nin nötr bir proteaz inhibitörüdür. CAST, hücrede endojen CAPN inhibitörü olarak CAPN aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Kök, Atalay, Vapur & Soysal, 2019). Ayrıca CAPN'den başka proteazları inhibe etmez. CAST dört adet inhibitör bölge içerir. Bir molekül CAST dört molekül CAPN'i inhibe eder (Kök vd., 2019a). Proteazları CAPN1 ve CAPN2'dir. Kesim sonrası etin olgunlaşmasında ve gevrek hal almasında rol oynamaktadır. CAST geni, karkasın yağlanması üzerine etkilidir (Kök vd., 2019a).

Sığır etinde istenilen yapının oluşmasında CAPN ve CAST önemli role sahiptir. Yapılan araştırmalar, CAST ve CAPN geninin gevreklik ve renk gibi et kalitesi ile karkas özellikleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (Allais, Journaux, Leveziel, Payet-Duprat, Raynaud, Hocquette, Lepetit, Rousset, Denoyelle, Bernard-Capel & Renand, vd., 2011; Ardıçlı, 2018; Casas, White, Wheeler, Shackelford, Koohmaraie, Riley, Chase Jr, Johnson & Smith, 2006; Kök vd., 2019a). Bu nedenle etin gevrekliği ve yağ asitleri kompozisyonu bakımından yapılan genetik çalışmalarda CAPN ve CAST genleri genetik yapıların değerlendirilmesinde aday bir gen olarak değerlendirilebilir

2.8.6. Yağ Asidi Sentaz Geni (FASN)

Yağ asidi sentaz geni (FASN), memelilerde novo lipogenezdeki rolü nedeniyle etin yağ kompozisyonunu etkileyen önemli bir aday gendir (Roy, Ordovas, Zaragoza, Romero, Moreno, Altarriba & Rodellar, 2006; Zhang vd., 2008). Sığır FASN geni, kromozom 19'da bulunur (NCBI, 2022; Zhang vd., 2008). 42 ekzon ve 41 intron dan oluşmaktadır. 18.824 baz çifti uzunluğundadır. Yağ asidi sentez yollarındaki anahtar lipojenik enzimler, sığır etinin yağ asidi bileşiminin belirlenmesinde önemli rol alırlar. FASN, uzun zincirli SFA sentezini katalize eden çok işlevli bir enzim kompleksidir. Yedi aktif bölge ile FASN, NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz) varlığında asetil CoA ve malonil-CoA'nın palmitata dönüşümünün reaksiyon adımlarını katalize eden kompleks bir homodimerik enzimdir (Şekil 2.4) (Pećina & Ivanković, 2021; Roy, Zaragoza, Gautier, Eggen & Rodellar, 2005). Hayvanlarda, FASN sentezi, yenidoğan gelişimi ve farklılaşması dahil olmak üzere tüm yaşam süresince beslenme ve hormonlara bağlı bir süreçtir (Roy vd., 2005; Morris, Cullen, Glass, Hyndman, Manley, Hickey, McEwan, Pitchford, Bottema & Lee, 2007). Embriyogenezde yağ asidi sentezi için önemli bir role sahiptir, yetişkinlikte ise gerekli değildir.

FASN geni sıçan, insan, kaz, tavuk ve sığırlarda tanımlanmıştır (Öztabak vd., 2014). FASN geninin, bireyler arasında yağ asidi bileşimindeki kalıtsal farklılıklar için aday bir gen olacağını ve ürünün pozitif özelliklerini korurken sığır yağ asidi bileşimini iyileştirmek için genomik seleksiyon aracı kullanılabileceği ifade edilmiştir.



Şekil 2. 7.FASN geni, NADPH varlığında Asetil CoA ve Malonil-CoA'nın palmitata dönüşümünün reaksiyonu (Menendez & Lupu, 2007).

FASN, memeli lipid metabolizmasında merkezi bir rol oynayan ve uzun zincirli yağ asitlerinin de novo biyosentezini düzenleyen çok işlevli bir enzimdir (Şekil 2.7). Bu sentez, aktive edilmiş öncüllerin iki karbon birimi tarafından döngüsel adım uzaması için korunan bir dizi kimyasal reaksiyonu içerir (Smith,1994). Önceki çalışmalar, FASN genotipleri ile yağ asitleri arasındaki ilişkiyi ortaya konmuştur (Abe, Saburi, Hasebe, Nakagawa, Misumi, Nade, Nakajima, Shoji, Kobayashi & Kobayashi, 2009; Morris vd., 2007; Roy vd., 2006; Schennink, Bovenhuis, Leon-Kloosterziel, van Arendonk & Visker, 2009 ; Zhang vd., 2008). Bu çalışmalara göre, belirli SNP'ler, C14:0, C16:0, C18:1(ω-9) gibi yağ asidi bileşimi üzerinde önemli etkilere sahiptir. FASN geninin yağ asitleri üzerindeki etkisi araştırılan hayvan türüne ve etin karkastaki konumuna göre değişiklik göstermiştir.

Zhang (2008) tarafından Angus boğalarının MLD kasındaki çalışma ile Li vd. (2012) çalışmalarında, g.17924A>G SNP'nin AA genotipi sığırları etleri daha yüksek C14:0 ve daha düşük C18:1(ω-9) seviyeleri ile ilişkilendirilmişlerdir.

Jeong, Kwon, Im, Seo ve Baik (2012), Kore sığırlarının MLD kasında lipid metabolizması genlerinin ekspresyon sıklığı ile kas içi yağ içeriği arasında bir korelasyon bildirmiş ve FASN gen ekspresyonunun kas içi yağ içeriği ile pozitif bir korelasyona sahip olduğu sonucuna varmıştır ($p<0.01$).

Zhang vd., (2008), FASN geninin tiyoesteraz (TE) alanındaki SNP'lerini belirlemişler ve bunların sığır yağ asidi bileşimi ile ne ölçüde ilişkili olduğunu değerlendirmişlerdir. Yağ asidi sentezinden sorumlu TE alanının FASN kompleksinin dört ekzonunda (39-42) yer aldığını bulmuşlardır. FASN'de TE alanını kodlayan dört ekzonda üç SNP (g.17924A>G, g.18663T>C ve g.18727C>T) tanımlanmıştır. Ayrıca, TE alanının FASN'nin ürün zinciri uzunluğunu belirlediği ve farklı bireylerde değişiklik gösterdiği sonucuna varmışlardır. Raporlarında, Angus boğalarının MLD kasında treoninden alanin amino asit değişimine neden olan g.17924A>G SNP'nin C14:0, C16:0, C18:1, SFA'lar ve MUFA'lar ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. g.17924AA genotipine sahip olanlara göre g.17924GG genotipine sahip sığırlarda daha düşük miristik asit (C14:0; $P <0.0001$), palmitik asit (C16:0; $P <0.05$) ve toplam doymuş yağ asidi içeriği ($P <0.01$), daha yüksek sağlık indeksi ($P <0.001$), oleik asit içeriği (C18:1; $P <0.001$) ve toplam tekli doymamış yağ asidi konsantrasyonu ($P <0.01$) tespit edilmiştir. g.17924A>G ve g.18663T>C SNP'leri arasındaki bağlantı dengesizliği nedeniyle, yağ asidi içeriklerinin g.18663T>C SNP varyant genotipleri ile benzer anlamlı ilişkiler gözlenmiştir. Sonuç olarak, g.17924A>G ve g.18663T>C SNP'lerin daha sağlıklı bir yağ asidi bileşimine sahip damızlık seçmek için DNA belirteçleri olarak kullanılabileceğini literatüre önermektedirler.

Kore sığırlarında Bhuiyan, Yu, Jeon, Yoon, Cho, Park, Kim, Kim & Lee (2009) tarafından yapılan çalışmada FASN geninde g.17924A>G SNP tespit edilmiştir. g.17924GG varyant genotipindeki sığırların yağ asidi bileşimine bakıldığında diğer varyant genotiplerinden C18:1'in daha yüksek yüzdeye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Kore sığırlarında, g.17924GG varyant genotipli sığırların g.17924AA genotipli sığırlara göre daha fazla C18:1 yağ asidi içeriği tespit edilmiştir. g.13126T>C'de CC tipi ve g.15532C>A'da CC tipi, sırasıyla TT tipi ve AA tipinden daha yüksek C18:1 ve MUFA yüzdelerine sahip iken daha düşük C14:0, C16:0, C18:2 ve SFA yüzdelerinde olduğu tespit edilmiştir (Oh vd. 2012).

Holstein sığırlarında Barton, Bures, Kott ve Rehak (2016), ekson 39'da g.17924A>G SNP AA genotipli hayvanların kas yağında daha yüksek oranda C14:0, C16:0, C14:1(ω-5) ve SFA'ya sahip olduğunu bildirmiştir. C18:1(ω-9) ve MUFA oranları ve MUFA/SFA oranı GG genotipli hayvanlara göre daha düşük belirlenmiştir.

Kaplanova, Dufek, Drackova, Simeonovova, Subrt, Vrtkova ve Dvorak (2013), FASN g.17924A>G, SNP GG genotipinin; SFA, MUFA veya PUFA üzerine önemli bir etkisi olmadığını, ancak melez sığırlarında miristik asit ve palmitik asit içeriği ile AG ve GG genotipleri arasında önemli bir fark olduğunu gözlemişlerdir. A alelinin doymamış yağ asidi içeriği üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

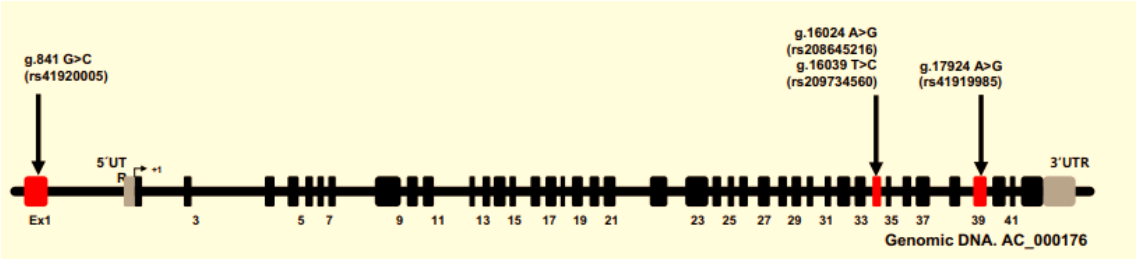
Hanwoo (Kore Sığırları) sığırlarında Yeon, Lee, Choi, Lee, Jang, Lee, Kim, Lee ve Chung (2013), g.15532C>A SNP'nin; C16:0, C16:1, C18:1, SFA ve doymamış yağ asitleri ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

Abe vd. (2009) yapmış oldukları çalışmada TW (16024G/16039C) ve AR (16024A/16039T) olmak üzere yalnızca iki haplotip tespit etmişlerdir. Fakat araştırmacılar, g.16024 G>A ve g.16039 T>C polimorfizmleri arasında bir rekombinasyon olmadığını öne sürmüşlerdir. Roy vd.'nin (2001) yapmış oldukları çalışmada ise TW ve AR'den farklı bir haplotip daha bulmuşlardır. TR haplotipi, sığır FASN sekans verilerinde (AF285607) gözlenmiştir. Sığırlarda çalışan Öztabak vd. (2014) dört haplotip tespit etmişlerdir. Bunlardan g.16024A>G ve g.16039T>C SNP genotiplerinin, sığır eti ürünlerinin yağ asidi bileşimini tahmin etme açısından yararlı bilgiler verebileceğini veya sığır eti veriminin arttırılmasında genetik belirteçler olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, g.16024 G>A ve g.16039 T>C polimorfizmleri arasında bir rekombinasyon olayı olduğuna dair bir kanıt olmadığını öne sürmüşlerdir.

Hayakawa vd. (2015) çalışmalarında, Japon Kara sığırlarında popülasyon 1'de g.16024A>G SNP'nin C14:0, C14:1, C16:1, C18:1 yüzdeleri üzerine önemli etkileri olduğunu ($P<0.05$), Japon Kara sığırları popülasyonu 2'de ise g.841G>C SNP'nin C14:0, C16:0 ve C18:2 yüzdelerine ve g.16024A>G, C14:0, C16:0, C16:1 ve C18:2 yüzdeleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu ifade etmişlerdir ($P<0,05$). Japon Kara sığırları 3. popülasyonunda da g.841G>C SNP'nin C14:0, C14:1, C16:0, C16:1, C18:1, MUFA ve SFA yüzdeleriyle önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir ($P<0.05$). g.16024A>G SNP de

C14:0, C14:1, C16:1, C18:1, MUFA ve SFA yüzdeleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu (P<0.05), Holstein ırkı sığırlarda g.841G>C SNP C18:2 hariç araştırdıkları diğer yağ asitlerinin yüzdesi ile önemli ölçüde ilişki ortaya koymuşlarken g.16024A>G SNP ile herhangi bir yağ asidinin yüzdesi üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığı belirtilmiştir.

Edirne'de yetiştirilen Holstein ırkı sığırlarda FASN geni ile yağ asitleri arasındaki ilişki hakkında bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada, Holstein ırkı sığırlarda FASN geninin yağ asitleri ile ilişkisine bakılmıştır. Araştırmamızın amacı, yağ asidi kompozisyonu açısından daha kaliteli ve sağlıklı et ürünleri üretmek için FASN geninin bir genetik belirteç olarak potansiyelini değerlendirmektir.



Şekil 2. 8. gDNA ile hizalanmış dört potansiyel fonksiyonel SNP'nin gösterimi. Ok yönündeki kırmızı kutular, işlevsel SNP adaylarının konumunu göstermektedir. Gri ve siyah kutular ise sırasıyla UTR ve ekzon bölgelerini göstermektedir (Oh, Nam, Hwang, Kong, Lee, Ha, Baik, Oh, Kim, Han & Lee, 2018).

Çizelge 2. 12. FASN geninde SNP ve fenotipik özellikler arasındaki ilişkiler.

SNP	dbSNP no.	Lokasyon	Özellik	Irk	Referans
g.841G>C	rs41920005	Ekson 1 (5' UTR)	Süt yağ asit bileşimi	Holstein	(Roy vd., 2006)
g.16009T>C	rs209734560	Ekson 34	Süt yağ asit bileşimi	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Roy vd., 2006)
g.17924A>G	rs41919985	Ekson 39	Et yağ asidi kompozisyonu	Angus	(Zhang vd., 2008)
g.17924A>G	rs41919985	Ekson39	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Bhuiyan vd., 2009)
g.16024A>G	rs208645216	Ekson 34	Et yağ asit bileşimi	Japon Kara Sığırı	(Abe vd., 2009)
g.16039T>C	rs209734560	Ekson 34	Et yağ asit bileşimi	Japon Kara Sığırı	(Abe vd., 2009)
g.17924A>G	rs41919985	Ekson 39	Süt yağ asit bileşimi	Holstein	(Schennink vd., 2009)
g.16024A>G	rs208645216	Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Japon Kara Sığırı	(Matsuhashi, Maruyama, Uemoto, Kobayashi, Mannen, Abe, Sakaguchi & Kobayashi,2011)
g.16039T>C	rs209734560	Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Japon Kara Sığırı	(Matsuhashi vd., 2011)
g.15532C>A		Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Oh vd., 2012b)
g.12870T>C		Ekson 23	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Oh vd., 2012b)
g.13126T>C		Ekson 24	Et yağ asidi kompozisyonu	Japon Kara Sığırı	(Oh vd., 2012b)
g.15532C>A		Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Oh vd., 2012b)
g.16907T>C		Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Oh vd., 2012b)
g.17924A>G	rs41919985	Ekson 39	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Oh vd., 2012b)
g.15532C>A		Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Japon Kara Sığırı	(Yeon vd., 2013)
g.17924A>G	rs41919985	Ekson 39	Et yağ asidi kompozisyonu	Kore Sığırı (Hanwoo)	(Yeon vd., 2013)
g.16024A>G	rs208645216	Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	DAK, GAK	(Öztabak vd., 2014)
g.16039T>C	rs209734560	Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	DAK, GAK	(Öztabak vd., 2014)
g.16024A>G	rs208645216	Ekson 34	Et yağ asidi kompozisyonu	Japon Kara sığırları	(Hayakawa vd., 2015)
g.841G>C	rs41920005		Et yağ asidi kompozisyonu	Holstein	(Hayakawa vd., 2015)
g.841G>C	rs41920005	Ekson 1 (5' UTR)	Et yağ asidi kompozisyonu	Japon Kara Sığırı	(Kawaguchi, Tsuchimura, Oyama, Matsuhashi, Maruyama, Mannen ve Sasazaki (2020).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Materyali

Çalışmada kullanılan et materyali, Avrupa kökenli *Bos taurus primigenius* alt grubuna giren kültür melezi 82 adet Türk Holstein sığırlardan alınmıştır.

Edirne ve Kırklareli illerindeki farklı çiftliklerden toplanan Türk Holstein ırkı erkek buzağılar, 17 aylık kasaplık yaşa kadar benzer bakım ve besleme şartlarında iki çiftlikte yetiştirilmişlerdir. Her iki besi işletmesinde yarı açık yetiştiricilik yapılmaktadır. THB'ler rasyonlarında; tahıl kırması (arpa, buğday ve mısır) ve küspe (ayçiçeği, soya, pamuk tohumu) gibi kesif yemler ile buğday samanı, kuru yonca, mısır silajı gibi kaba yemlerle entansif bir şekilde beslenmişlerdir. Bu işletmelerdeki THB'lerin kesim işlemi, Edirne Et ve Et Ürünleri Entegre Tesisleri San. ve Tic. A. Ş'de gerçekleştirilmiştir. Edirne'deki 17 aylık yaşta erkek sığırlardan alınan 1 kg ağırlığındaki MLD et örnekleri (-20 °C'de) 2 yıl süreyle Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik laboratuvarında depolanmıştır. Araştırma MLD et örnekleri üzerinde yürütülmüştür. Genetik çeşitliliğin izlenebilmesi için et örnekleri alınan THB'ların kulak numaralarına bakılarak, sığırların akraba olmamaları konusuna özen gösterilmiştir. Çalışılan THB et örnekleri bu yüzden farklı işletmelerden seçilmiştir. Çevre varyasyonun etkilerini gidermek içinde; hayvanların aynı ırk, aynı cinsiyet ve aynı yaşta olmasına, benzer bakım besleme koşullarında yetiştirilmiş olmasına da özen gösterilerek THB et/MLD örnekleri kullanılmıştır.

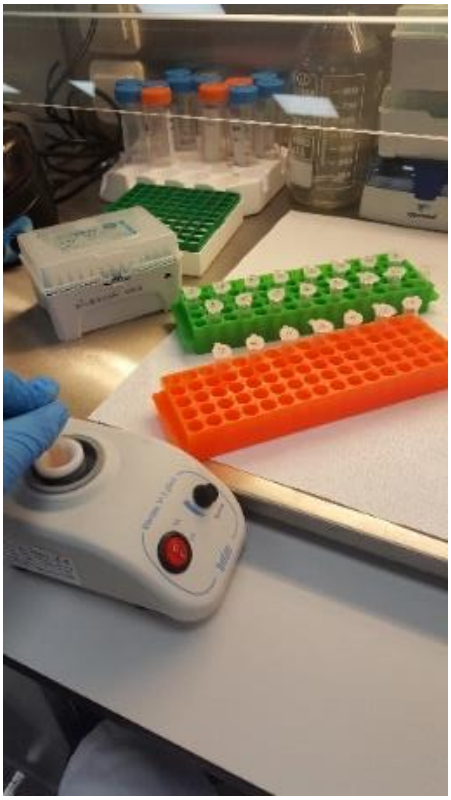
3.1.1.DNA İzolasyonu

Küpe numarası ve kesim tarihi belli olan -20°C'deki et örneklerinden 2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine etler çözündürülmeden doku örnekleri alınmıştır. Hibrigen markasının genomik DNA izolasyon kiti (MG-GDNA-01) protokol yönergesine göre gDNA'lar örneklerden izole edilmiştir.

1. Et numuneleri çözündürülmeden -20°C'deki et örneklerinden 2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine 10 mg doku örnekleri alınmıştır (Şekil 3.1).
2. Her kazıma işlemi sonunda bistüri %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) içine daldırılıp peçeteyle silinmiştir. Daha sonra distile sudan geçirilip tekrar temiz bir peçete ile kurulanmıştır.
3. DHP tamponundan 300 µL eklenip vorteks yardımı ile homojen olana kadar karıştırılmıştır (Şekil 3.2).
4. 20 µL Proteinaz K ve 120 µL DA Tamponu eklenip vorteks ile karıştırılmıştır.
5. 65°C'de 60 dk inkübe edilip homojen bir solüsyon elde edilmiştir (Şekil 3.5).
6. Örnek üzerine 120 µL DB Tamponu ve 220 µL önceden soğutulmuş etanol (%96-100) eklenip vorteks ile iyice karıştırılmıştır. Karışımın tamamı pipet yardımı ile 2 ml toplama tüpü üzerine yerleştirilmiş olan filtreli tüpe aktarılmıştır (Şekil 3.3).
7. 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilip toplama tüpüne süzülen sıvı atılmıştır (Şekil 3.4).
8. 500 µL DY Tamponu filtreli tüpe eklenir ve 12.000 rpm'de 1 dakika edilip toplama tüpüne süzülen sıvı tekrar atılmıştır.
9. 7. adım tekrarlanmıştır.
10. Toplama tüpüne atılan sıvı atılıp filtreli tüp membranının kuruması için hiçbir sıvı eklenmeden filtreli tüpler 12.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpüne süzülen sıvı ile tüpler atılmıştır.
11. Filtreli tüpler 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınıp membran üzerine 60 µL DE tamponu (60°C'ye ısıtılmış) eklenmiştir. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilip 12.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Pürifiye edilmiş DNA 1,5 ml'lik tüplerde biriktirilmiştir.



Şekil 3. 1. Et örneklerinden doku alınması işlemi.



Şekil 3. 2. Örnekleri vorteks yardımı ile homojen olana kadar karıştırma işlemi.



Şekil 3. 3. Örneklerin mikrosantrifüj tüplerinden filtreli tüpe aktarılması.



Şekil 3. 4. Örneklerin Santrifüj edilmesi aşaması.



Şekil 3. 5. Örneklerin sıcak su banyosunda inkübe edilmesi aşaması.

3.1.2. DNA Miktarı Belirleme ve Kalite Tayini

Metodolojik olarak Ardıçlı vd. (2018) ve Vapur, G., (2019)'a göre DNA miktarı belirlenmiş ve kalite tayini yapılmıştır (Vapur, 2019). İzole edilen genomik DNA'ların (gDNA) 260/280 absorbans değerleri ölçülmüştür. İlk önce cihazın okuma bölgesi temizlenmiştir. Daha sonra 2µL DE tamponu konularak 3 tekerrürlü ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra her bir örnekten 2 µL DNA alınıp 260 nm dalga boyunda ölçümü yapılarak örneğin DNA miktarı µl'sinde bulunan ng cinsinden belirlenmiştir. Örnek ölçümleri bittikten sonra tekrar 2 µL DE tamponu konularak 3 tekerrürlü ölçümleri yapılıp cihaz kapatılmıştır.

İzole edilen gDNA'ların kalite tayini için Thermo Sciencitific marka agaroz jel elektroforezi kullanılmıştır. 0,2 µl'lik tüplere son hacim 12 µl olacak şekilde gDNA ve 6x DNA gel Loading Dye yükleme boyası ilavesi ile hazırlanmıştır. % 0,8 konsantrasyonlu ve 6 µl Ethidium Bromür (EtBr) içeren 200 ml agaroz jel hazırlanmıştır.

200 ml % 0,8 Konsantrasyonlu Agaroz Jel Hazırlama:

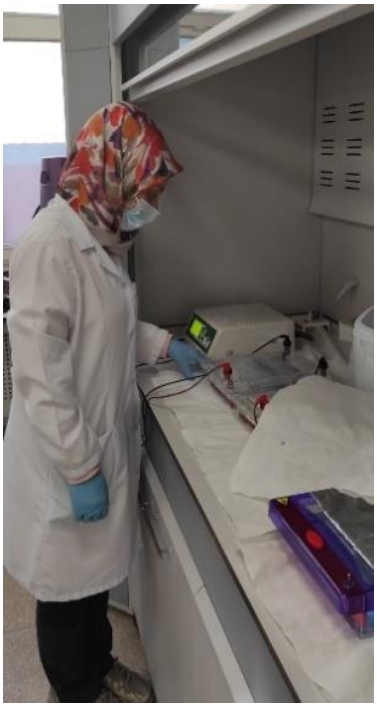
1,6 gram toz haldeki agaroz hassas terazide tartılmıştır. Üzerine 200 ml 0,5X TBE ilave edilip mikrodalga fırında ısıtılmıştır. Belli aralıklarla kontrol edilip çalkalanmıştır. Agarozun tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Hazırlanan örneklerin yüklemesi yapılarak JUNYI JY300C marka elektroforez cihazıyla 120 Volt (V), 80 miliamper (mA) akımda yürütülmüştür (Şekil 3.7). DNR

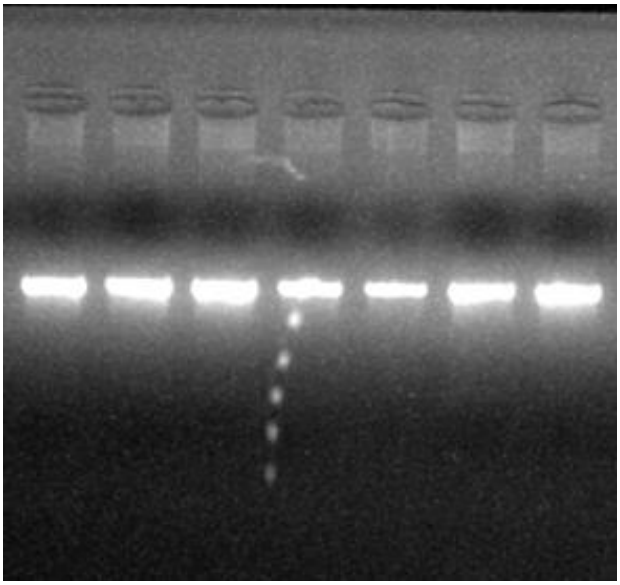
marka BioImaging Systems Minibis Pro jel görüntüleme cihazı kullanılarak jele yüklü gDNA'lar UV ışığı altında görüntülenmiştir. Görüntülenen gDNA Gel Quant programı ile görüntüleme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6; Şekil 3.8).



Şekil 3. 6. DNR marka BioImaging Systems Minibis Pro jel görüntüleme cihazı.



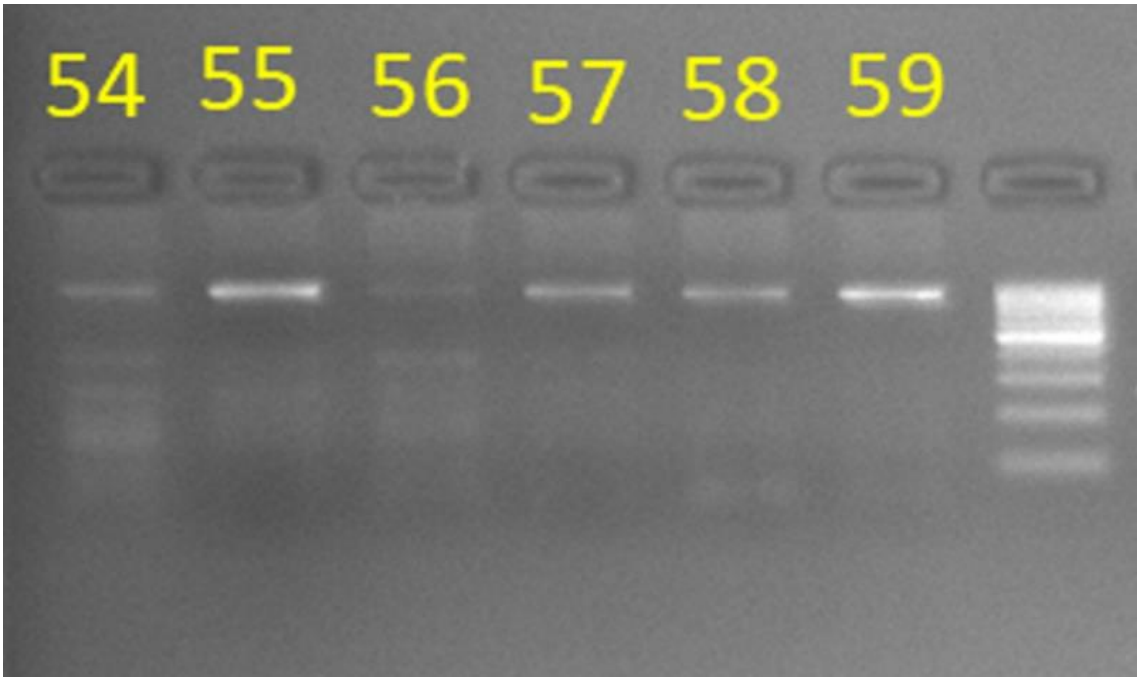
Şekil 3. 7. Hazırlanan örneklerin yüklemesi yapılarak elektroforez cihazıyla yürütülmesi işlemi.



Şekil 3. 8. Jelden UV görüntüsü ile elde edilen gDNA görüntüsü.

3.1.3. Gradient PCR ile Optimum Bağlanma Sıcaklığının Bulunması

PCR çalışmaları için tasarlanmış bilgisayar programları bulunmaktadır. Bu programlar reaksiyona giren bileşiklerin miktarlarını ve primerlerin bağlanma sıcaklıklarını hesaplamaktadırlar. Ancak bu hesaplamalar laboratuvarlarda farklılık gösterebilir. Bu yüzden çalışılan laboratuvar koşullarında optimum bağlanma sıcaklıklarının bulunması için gradient PCR çalışmasının yapılması gerekmektedir. 96 kuyucuklu bir PCR cihazında (Applied Biosystems Proflex), aynı anda 6 farklı bağlanma sıcaklığı için değerlendirme yapılmıştır. OligoAnalyzer 3.1 programı ile yaptığımız değerlendirmede belirlediğimiz primerler için bağlanma sıcaklığı 56 ºC olarak tespit edilmiştir. 54-59 °C' ler arasında, Çizelge 3.2 PCR mix içeriği'nde verilen PCR karışımı içeriğini kullanarak ve Çizelge 3.3'te PCR protokolü verilen PCR protokolü kullanılarak gradient PCR çalışması gerçekleştirilmiştir.

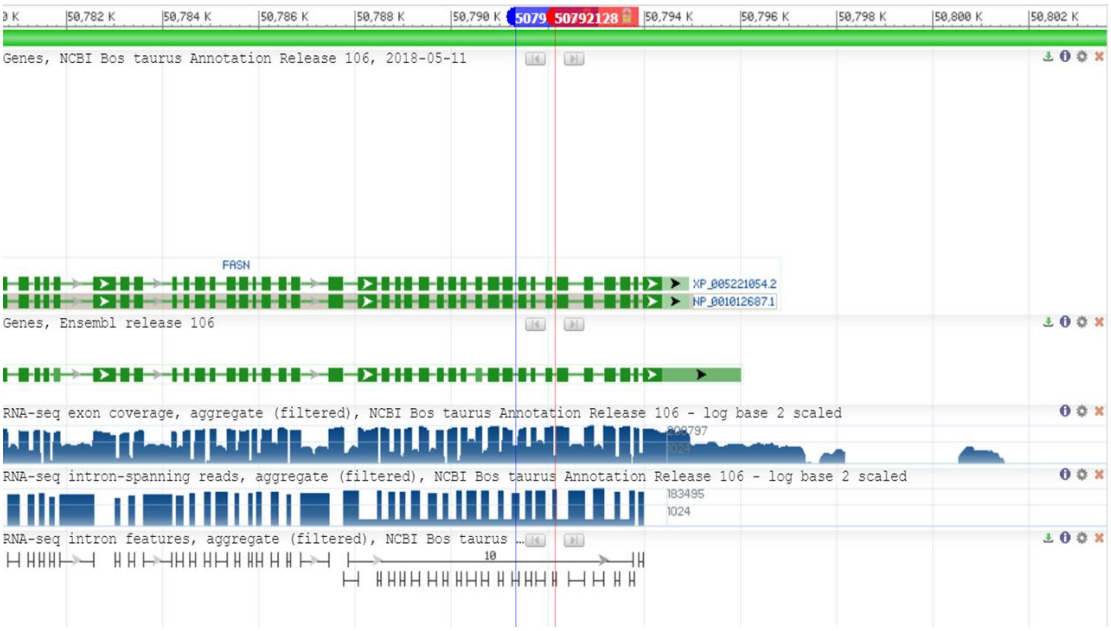


Şekil 3. 9.Gradient PCR'dan elde edilen hedef (839 bp) DNA görüntüleri.

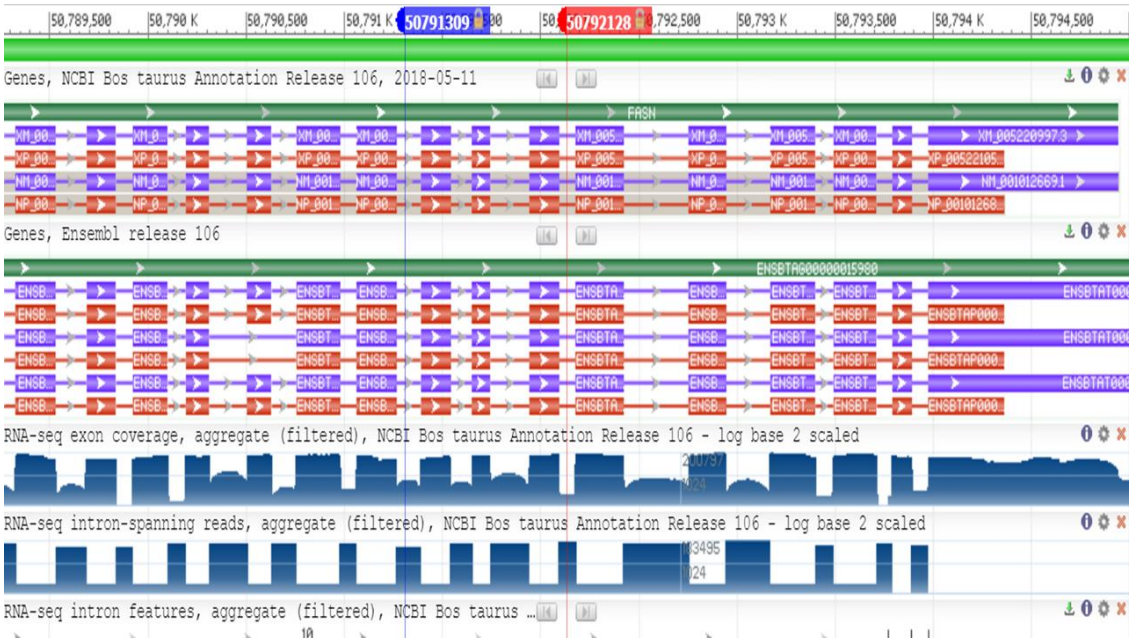
Şekil 3.9'da agaroz jel elektroforezinde koşturulan PCR ürünlerinin görüntülenmesi sonucunda en uygun bağlanma sıcaklığını 59 ºC olduğu tespit edilmiştir.

3.1.4. FASN Geni Hedef Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

FASN geninin (Şekil 3.9; Şekil 3.10) 34-36. eksonları arası (50791309-50792147) 839 bp çoğaltacak primer çiftleri, NCBI primer3 programı (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) kullanılarak tasarlanmıştır (Çizelge 3.1). Tasarlanan primerlerin uygunluğu, NCBI primer blast ve OligoAnalyzer programları (https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer) kullanılarak kontrol edilmiştir. Toplanan örneklerden DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, tasarlanan primerler ile optimizasyon çalışması yapılmıştır. PCR reaksiyonu, Çizelge 3.2'de verilen reaksiyon içeriği ile Çizelge 3.3' de verilen döngü koşullarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 10. Çoğalttığımız gen bölgesi gösterilmiştir. FASN Geninin NCBI'daki Diyagramı (NCBI, 2022).



Şekil 3. 11. 50791309 ile 50792128. bazlar arası 34, 35 ve 36. ekzonların tamamı, 34 ve 35. intronların tamamı, 33 ve 36. intronlar ise kısmen çoğaltılmıştır.

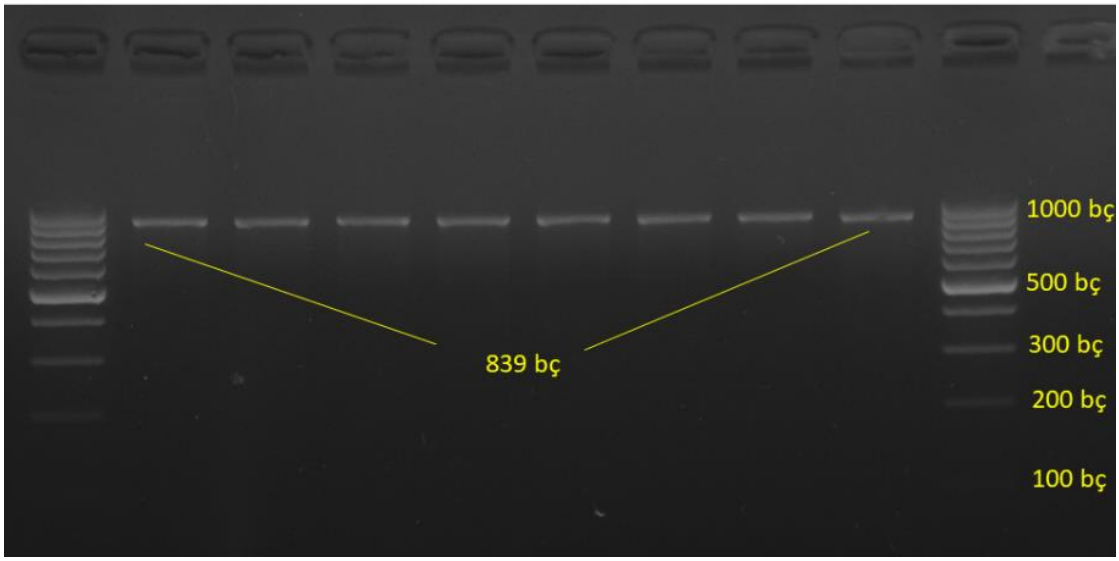
Çizelge 3. 1. Kullanılan primerler.

	Sequence (5'->3')	**Start**	**Stop**
F	CCCCTTTATGGTGCTCTCAGG	50791309	50791329
R	GGGTAGTTATGAGGGTGGGA	50792147	50792128

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünleri için PCR mix içeriği Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 2. Örneklerdeki hedef DNA bölgesinin (839 bp) amplifikasyonu için bir örneğin gDNA'sında kullanılan PCR mix içeriği.

İçerik	**Miktar**
Mastermix (K0171, Fermantas)	12,5 µl
Primer F (10 pmol/ µl)	1 µl
Primer R (10 pmol/ µl)	1 µl
Su	5,5 µl
Örnek DNA (50 ng/µl)	5 µl
Toplam Hacim	25 µl



Şekil 3. 12. Jelden UV görüntüsü ile elde edilen hedef (839 bp'lik) DNA fragmentleri.

PCR ürünleri, 3 µl 6x DNA Gel Loading Dye yükleme boyasının eklenmesi ile son hacim 25 µl olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından 6 µl EtBr içeren % 2 konsantrasyonlu 200 ml agaroz jele yüklemesi yapılarak 120 V, 80 mA akımda yürütülmüştür. PCR ürünleri, jel görüntüleme cihazında (VİLBER LOURMAT, INFINITY 1100) UV ışığı altında görüntülenmiştir (Şekil 3.11).

Çizelge 3. 3. PCR protokolü.

Sıcaklık	**Süre**	**Döngü Sayısı**
95 ºC	3 dk	1
95 ºC	30 sn	35
59 ºC	45 sn	
72 ºC	60 sn	
95 ºC	5 dk	1

3.1.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması (PEG Pürifikasyon) ve Sekans Reaksiyonu

25 µl PCR ürünü 25 µl PEG4000 çözeltisi ile karıştırıldı. Ardından vortekslendi. 20 dk oda sıcaklığında bekletildi. 14000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Sıvı kısmı tamamen atıldı. %70'lik metanol 100 µl eklendi 14000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Sıvı kısmı atıldı. 20 µl saf su ile çözüldü.

Saflaştırılan örnekler ile DNA dizi analizi reaksiyonları Çizelge 3.4'de verilen reaksiyon içeriği ile Çizelge 3.5' de verilen döngü koşullarında, Beckman Coulter DTCS Quick Start Kiti kullanılarak yapılmıştır. Dizileme çalışmalarında Beckman Coulter marka DNA dizi analizi cihazı kullanılmıştır.

Çizelge 3. 4. Sekans reaksiyonu mix içeriği.

DNA örneği	3 µl
Primer (10 pmol)	0,35 µl
DTCS Quick Start Master Mix	2 µl
Su	4,65 µl

Hazırlanan sekans reaksiyonu karışımları DNA dizi analiz cihazına (Beckman Coulter Genome Lab GeXP) yüklendi.

Çizelge 3. 5. Sekans reaksiyon protokolü.

Sıcaklık	**Süre**	**Döngü Sayısı**
96 ºC	20 sn	30
50 ºC	20 sn	
60 ºC	4 dk	

3.1.6. DNA Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bioedit (Hall, 1999) ve Chromas v2.6.6 (Technelysium Pty Ltd, ASTL) programları kullanılarak örneklerin hizalaması yapılmıştır.

3.1.7. Kullanılan Kitler ve Cihazlar

PCR master mix; K0171, Fermantas

Sekans raksiyonu, DTCS Quick Start Kit

Jel elektroforezi, Major science mini-300

Jel görüntüleme, VİLBER LOURMAT, INFINITY 1100

PCR, Applied biosystems Proflex

DNA dizi analizi cihazı, Beckman Coulter GenomeLab GeXP



Şekil 3. 13. Çoğaltılan hedef DNA bölge sekansı, 839 bp, kromozom üzerindeki konumu 50791309-50792147 (Polimorfizm noktaları kare kutularında işaretli).

3.2. GC/MS ile Yağ Asidi Analizleri

Edirne'deki 17 aylık yaşta Türk Holstein boğaların antrikot kasından alınan et örnekleri -20 °C'de 2 yıl süreyle depolanmıştır. Gaz kromotografisi- kütle spektrometresi (GC-MS) cihazında çalışmadan önce etler +4 °C'de çözündürülmüştür. Daha sonra MLD etlerini yağlı kısımları tıraşlanarak kıyma haline getirilmiştir. GC-MS bir Supelco RT2560 kolon (100 m · 0,25 mm iç çap x 0,2 µm film kalınlığı) ve bir kütle spektroskopi dedektörü ile donatılmıştır (Şekil 3.14, Şekil 3.15).



Şekil 3. 14.Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde (NABİLTEM) Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı; model GC 2010 plus, SHIMADZU).



Şekil 3. 15. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi bir Supelco RT2560 kolon (100 m · 0,25 mm iç çap x 0,2 µm film kalınlığı) ve bir kütle spektroskopi dedektörü ile donatılmıştır.

3.2.1. Et Örneklerinin GC/MS Cihazına Yerleştirmeden Önceki Hazırlık Aşaması

1) Steril kaplara 10 g numune tartıldı (Şekil 3.16).
2) Üzerine 20 ml metanol ve 10 ml kloroform eklenip vortekslendi (Şekil 3.17, Şekil 3.19).
3) 10 ml kloroform eklenip tekrar vortekslendi.
4) Daha sonra 10 ml su konulup vortekslendi.
5) Filtre kağıtlarından süzüldü (Şekil 3.18, Şekil 3.20, 3.21).
6) Sulu üst fazı atıldı. 200 µl metanollü KOH eklendi.
7) Daha sonra filtreden geçirildi (Şekil 3.23).
8) Seyreltilip viallere konuldu (Şekil 3.24).
9) Cihazın enjeksiyon bloğuna yerleştirildi.



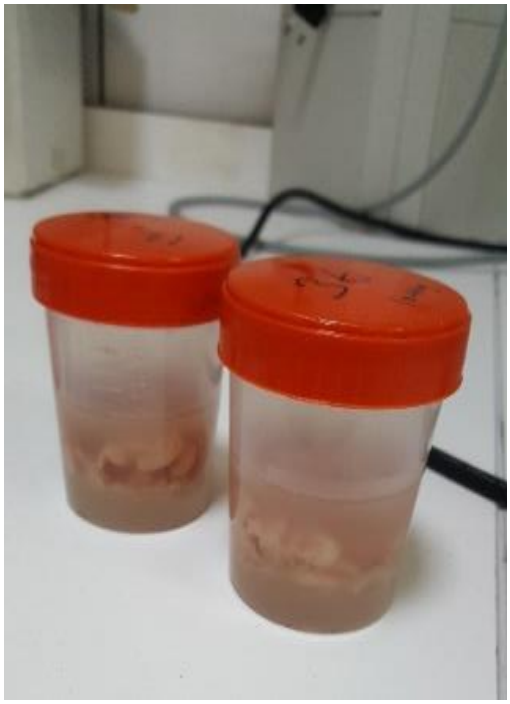
Şekil 3. 16. Steril kaplara numune tartımı.



Şekil 3. 17. Metanol-kloroform ekleme aşaması.



Şekil 3. 18. Örneklerin filtre kağıdından süzülmesi işlemi.



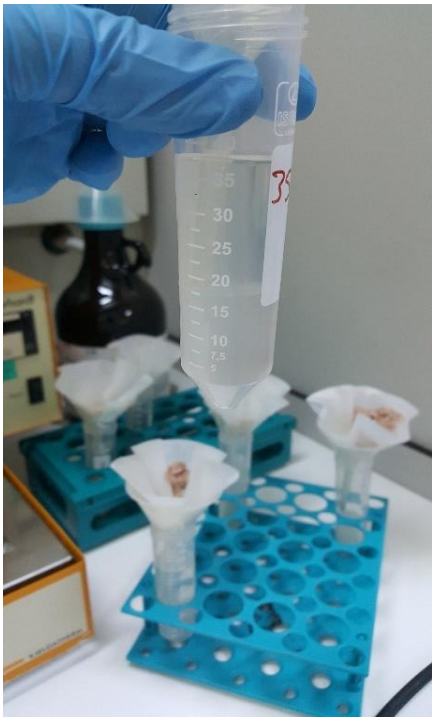
Şekil 3. 19. Örneklerin vortekslenme aşaması.



Şekil 3. 20. Örneklerin filtre kağıdından süzülmesi aşaması.



Şekil 3. 21. Örneklerin filtre kağıdından süzülmesi.



Şekil 3. 22. Sulu fazın üst kısımda ayrılmış hali.



Şekil 3. 23 Filtreden geçirme işlemi.



Şekil 3. 24. Hazırlanan örneklerin enjeksiyon bloğuna yerleştirilmeden önce seyreltilip viallere konulmuş hali.

- GC kolonu: Restek 2560 (100 m 0,25 mm x 0,2 µm)
- Kolon akış hızı: 1 ml/dk
- Split oranı: 100
- Enjeksiyon sıcaklığı: 240 °C
- İonsource sıcaklığı: 240 °C
- Interface sıcaklığı: 240 °C
- Solventcut time: 11 dakika
- Metot süresi: 80.33 dakika
- Başlangıç m/z: 35
- Bitiş m/z: 500

Kolon fırının sıcaklık parametreleri girildi. Kolon sıcaklığı 60 °C sıcaklıkta başlatıldı. Bu sıcaklıkta 2 dakika bekletildi. Kolon sıcaklığı dakikada 3 °C artışlarla 220 °C'ye çıkartıldı ve burada 25 dakika bekletildi. Toplam çalışma süresi 80.33 dakikadır. Dedektör 220°C'de tutulmuştur.

3.3. İstatistik Analizleri

Araştırma konusu olan Edirne ili Holstein Boğaların etlerindeki FASN geni SNP varyantlarına ilişkin genotiplerin belirlenmesi Sanger Sekans metodu ile 34, 35 ve 36. ekzonların tamamı, 34 ve 35. intronların tamamı, 33 ve 36. intronlar ise kısmen dizilenmiştir. Dizileme sonucu belirlenen SNP'lerin (rs208645216 G>A ve rs209734560 C>T) varyant genotipleri ve alel frekansları PopGene 32 yazılım programı kullanılarak hesaplanmıştır (Yardibi, Gürsel, Ates, Akıs, Hosturk & Öztabak, 2013). Aynı program kullanılarak, SNP lokuslarındaki genotipik varyantların Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olup olmadığı khi-kare testi ile araştırılmıştır.

FASN geninde belirlemiş olduğumuz polimorfizmlerin THB et yağ asitleri kompozisyonu ile ilişkisi IBM SPSS Statistics 22 (Demo) programında çoklu karşılaştırma testleri (LSD, Tukey, Duncan) yapılarak araştırılmıştır (Leech, Barrett & Morgan, 2014; Yakovleva, Loktionova & Liseykina, 2018).

Sağlık indeksi (HI), Ulbricht & Southgate (1991) tarafından önerilen aterojenik indeksin tersi olarak aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi hesaplanmıştır (Zhang vd., 2008);

$$\mathbf{HI} = \frac{\mathbf{\Sigma MUFA + \Sigma PUFA}}{\mathbf{4x\ C14{:}0 + C16{:}0}} \quad (1)$$

ΣMUFA: Toplam tekli doymamış yağ asitleri

ΣPUFA: Toplam çoklu doymamış yağ asitleri

C14:0: Tetradekanoik Asit (Miristik Asit)

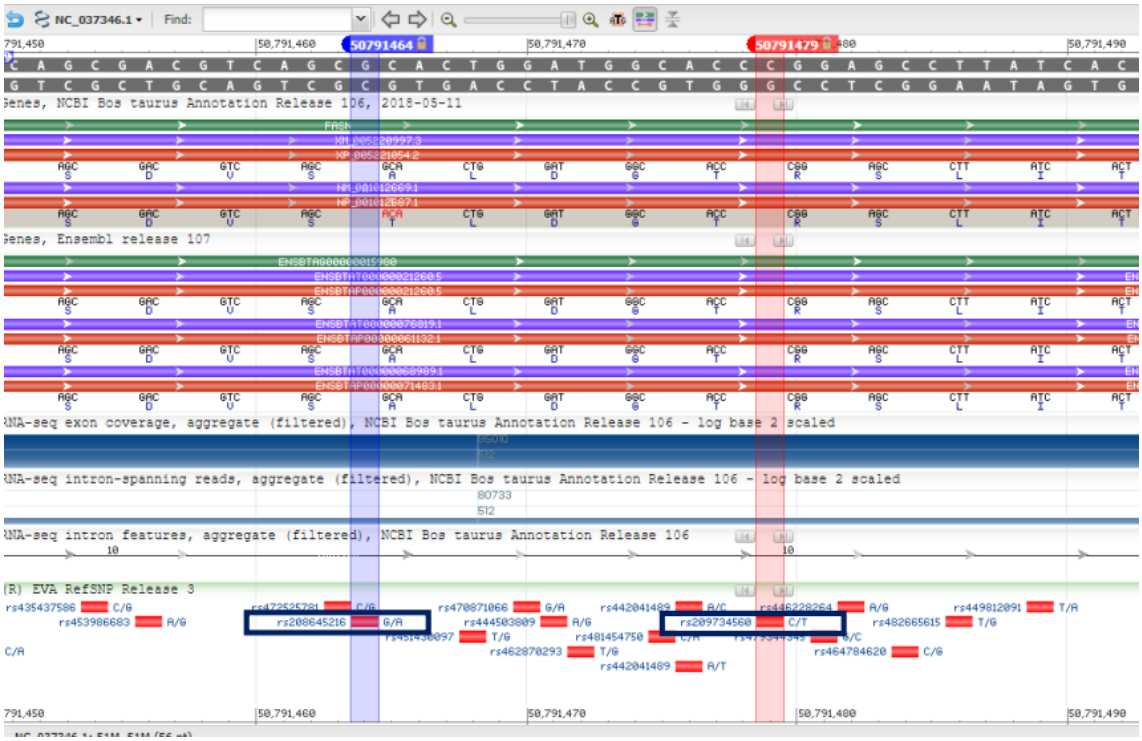
C16:0: Hekzadekanoik Asit (Palmitik Asit)

HI'nın değerlendirilmesi; et örneğinin alındığı THB'lerin genotiplerine göre indeks değerleri karşılaştırılmaktadır. HI değeri arttıkça etin yağ asitleri kompozisyonu bakımından daha sağlıklı olduğu yorumu getirilebilir. HI değeri düştükçe yağ asitleri kompozisyonunda tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri oranı da düşmektedir. Yani etin sağlık değeri düşmektedir.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

4.1. Sanger Sekans Metodu ile FASN geni rs208645216 ve rs209734560 Polimorfizmlerinin Belirlenmesi



Şekil 4. 1. Dizileme sonucunda örneklerimizde 2 adet SNP (rs208645216 ve rs209734560) tespit edilmiştir. THB'lerin her iki lokusu polimorfik bulunmuştur.

Araştırma konusu olan Edirne ili 82 adet Holstein sığır etlerindeki FASN geni SNP varyantlarına ilişkin genotiplerin belirlenmesi Sanger Sekans metodu ile 34, 35 ve 36. ekzonların tamamı, 34 ve 35. intronların tamamı, 33 ve 36. intronlar ise kısmen dizilenmiştir. Dizileme sonucu 34. eksonda iki adet SNP (rs208645216 ve rs209734560) belirlenmiştir (Şekil 4.1).

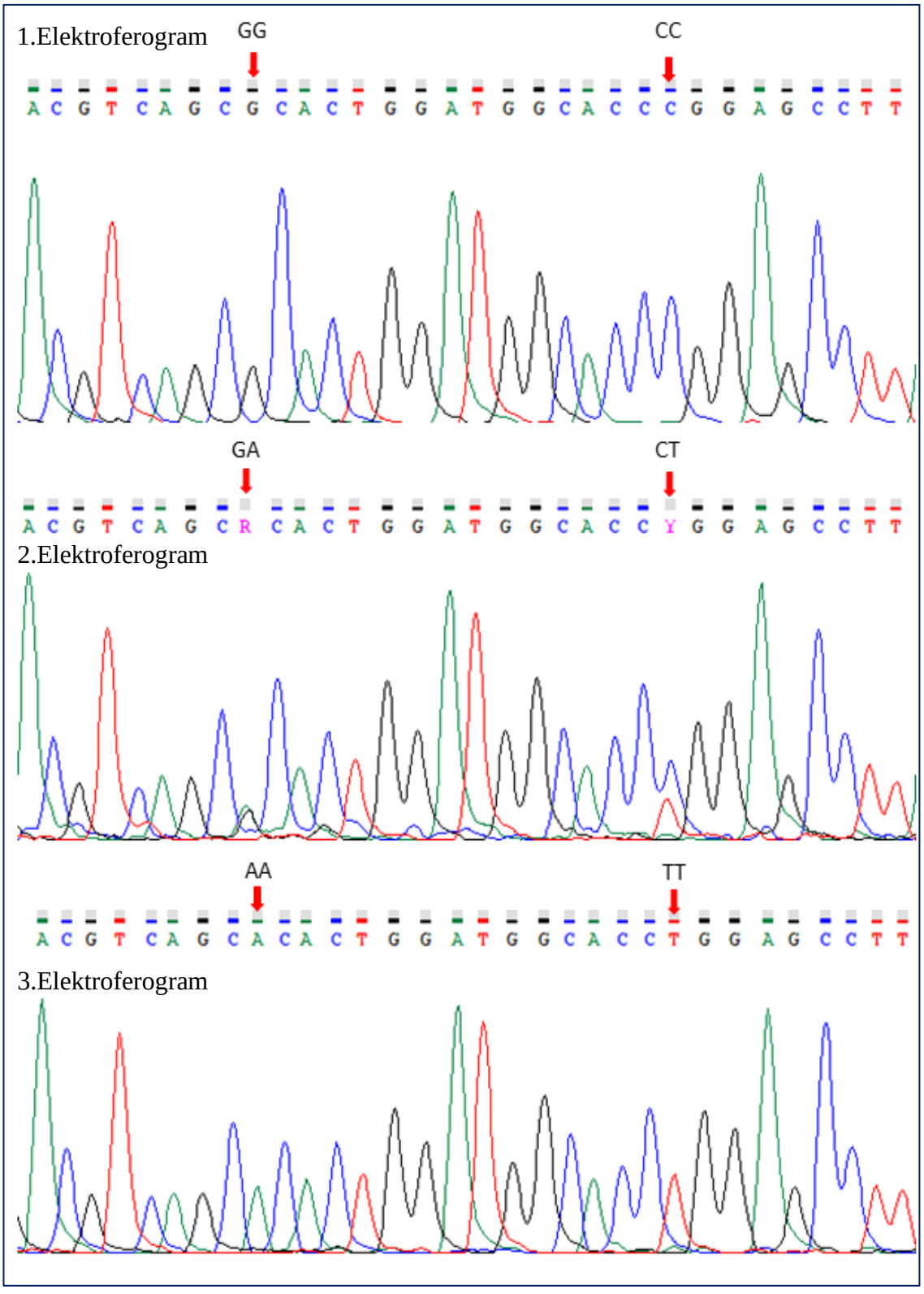
Dizileme işlemi ile rs208645216 G>A SNP'nin polimorfik olduğu ve 3 farklı genotipte olduğu belirlenmiştir. Genotipler, DNA dizi analiz sonuçlarının BioEdit programında analiz edilmesiyle GG, GA ve AA şeklinde belirlenmiştir. rs208645216 G>A SNP genotipleri şekil 4.2'de verilmiştir. 1. elektroferogram siyah pik ile GG genotipini gösteriyor iken 3. elektroferogram yeşil pik ile AA genotipini göstermektedir. Heterozigot genotipteki varyant ise hem yeşil hem de siyah pikler ile belirlenmiştir (Şekil 4.2). rs208645216 G allel frekansı 0,7988 olup A allel (0,2012) frekansından daha büyük olduğu belirlenmiştir. Genotipik frekanslar bakımından en yüksek frekans 0,638 ile GG genotipinde, en düşük genotipteki sığırların 0,041 ile AA genotipinde olduğu tespit edilmiştir. GA genotipindeki sığırların frekansı ise 0,321 olarak belirlenmiştir. Genotipler arası frekans dağılımları Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olduğu ve genotipik frekanslar arası farkın önemli olmadığı belirlenmiştir (p>0,05).

rs209734560 C >T lokusu da polimorfik olup rs208645216 G>A SNP'ye 14 baz uzaklıkta olup CC, CT ve TT genotipteki varyantlar ile rs208645216 G>A lokusu genotipik varyantları (GG, GA ve AA) benzer frekansa sahiptir (Şekil 4.1; Çizelge 4.2). Dolayısıyla rs208645216 G>A polimorfizmi genotipik frekansları dağılımı da HW dengesinde olduğu ve genotipik frekanslar arası farkın önemli olmadığı belirlenmiştir (p>0,05). PopGene 32 yazılım programı kullanılarak genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır (Yardibi vd., 2013). Aynı program tarafından her lokusta Hardy-Weinberg (HW) dengesini kontrol etmek için bir khi-kare testi de yapılmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. THB'lerin FASN geni 34. eksonda belirlenen SNP'lerin alel ve genotipik frekansları ile Khi-kare analiz sonucu.

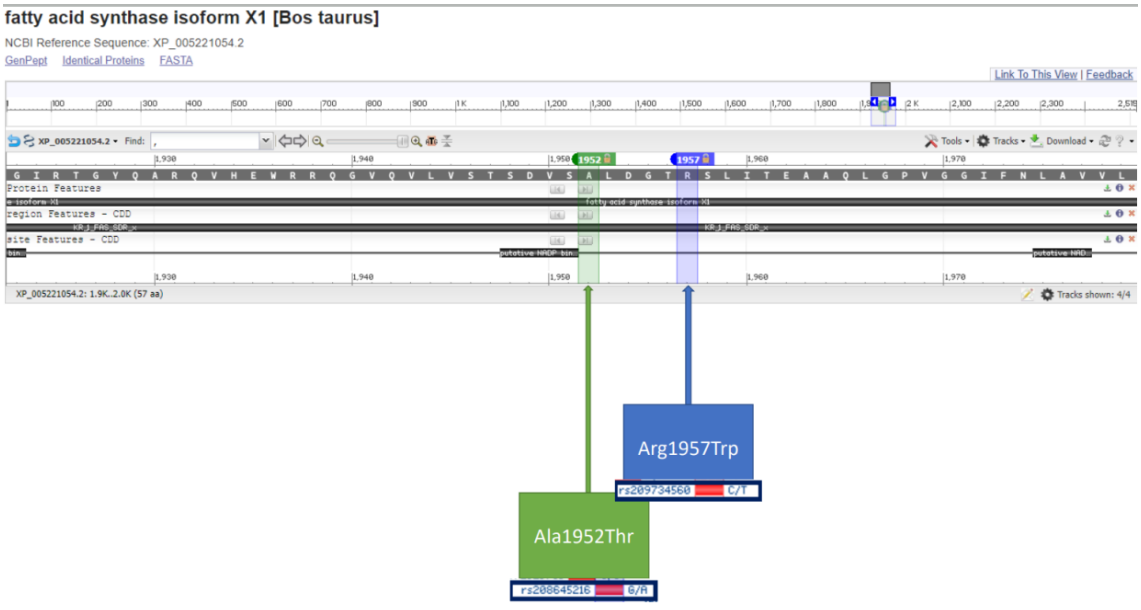
Sığır Irkı	**FASN Alel Frekans**		**FASN Genotip Frekansları**			**Khi-Kare (χ^2)**
Türk Holstein Boğaları (n:82)	rs208645216					
	G	A	GG (n)	GA (n)	AA (n)	0,056* P > 0,05
	0,7918	0,2012	0,64 (55)	0,32 (21)	0,04 (6)	
	rs2097344560					
	C	T	CC (n)	CT (n)	TT (n)	0,056* P > 0,05
	0,7918	0,2012	0,64 (55)	0,32 (21)	0,04 (6)	

*Popgene 32 'de hesaplanmıştır.



Şekil 4. 2. THB, FASN geni hedef DNA bölgesinde dizileme sonrası belirlenen SNP'leri gösteren elektroferogramlar. İlk elektroferogramda 9. bç rs208645216, 24. bç'de rs209734560 SNP genotipindeki varyantlar 1., 2. ve 3. elektroferogramlarda verilmiştir.

Genotipik karakterizasyon açıdan FASN geni bakımından belirlenen rs208645216 G>A ve rs209734560 C>T polimorfizmlerin Edirne'deki kesilen kasaplık Holstein boğalarında Shannon indeksi 0,5021, gözlenen homozigotluk değeri 0,7439 iken beklenen homozigotluk değeri 0,6766 olmuştur. Gözlenen heterezigotluk değeri is 0,2561 iken beklenen heterezigotluk değeri 0,3234 olmuştur. Kesilen hayvan popülasyonundaki homozigotluğun arttığı genetik çeşitliliğin FASN geni varyant genotipleri bakımından azaldığı anlaşılmıştır.



Şekil 4. 3. Dizileme sonucunda örneklerimizde tespit ettiğimiz iki SNP'lerin (rs208645216 ve rs209734560) FASN proteinindeki amino asit değişikliği.

Dizileme sonucunda örneklerimizde tespit ettiğimiz iki SNP (rs208645216 ve rs209734560) FASN proteininin 1952 ve 1957. poziyondaki amino asitlerinde değişikliğe neden olmaktadır (Şekil 4.3). 1952. pozisyonda Alanin (Ala, A)> Treonin (Thr, T) değişimine, 1957. pozisyonda ise Arjinin (Arg, R) > Triptofan (Trp, W) değişime neden olmaktadır.

4.2. Türk Holstein Sığır Etlerinin Yağ Asitleri Kompozisyonu ve FASN Geni rs208645216 G>A ve rs209734560 C >T SNP Varyantları Genotipik İlişkisi

Edirne'deki 17 aylık yaşta Türk Holstein boğaların antrikot kasından alınan et örnekleri -20 °C'de 2 yıl süreyle depolanmıştır. GC-MS cihazında çalışmadan önce etler +4 °C'de çözündürülmüştür. Daha sonra MLD etlerini yağlı kısımları tıraşlanarak kıyma

haline getirilmiştir. Bu etlerin yağları kimyasal çözücülerle ayrıştırıldıktan sonra GC-MS cihazına yüklenerek yağ asitleri kompozisyonu belirlenmiştir (Çizelge 4.2; Çizelge 4.3). Yapmış olduğumuz istatistik analizleri sonucunda elde edilen aritmetik ortalama standart sapma ve standart hataları ile minimum ve maksimum değerler Çizelge 4.2' te verilmiştir.

Çizelge 4. 2. Türk Holstein Boğaların MLD etindeki FASN geni varyant genotiplerinin yağ asidi kompozisyonuna etkileri.

Yağ Asitleri	Genotipler	N	Ortalama	Standart (Std.) Sapma	Std. Hata	95% Ortalama için Güven Aralığı		Minimum	Maksimum
						Alt Sınır	Üst Sınır		
C10:0	GG	55	0,05	0,04	0,01	0,03	0,06	0,01	0,32
	GA	21	0,04	0,01	0,00	0,03	0,04	0,01	0,06
	AA	6	0,05	0,03	0,01	0,02	0,07	0,03	0,10
	Toplam	82	0,04	0,04	0,00	0,04	0,05	0,01	0,32
C12:0	GG	55	0,05	0,03	0,00	0,04	0,06	0,01	0,16
	GA	21	0,05	0,02	0,00	0,04	0,06	0,01	0,09
	AA	6	0,05	0,02	0,01	0,03	0,07	0,03	0,08
	Toplam	82	0,05	0,02	0,00	0,04	0,06	0,01	0,16
C14:0	GG	55	2,94	0,62	0,08	2,78	3,11	1,56	4,29
	GA	21	3,03	0,68	0,15	2,72	3,34	1,70	4,01
	AA	6	2,90	0,77	0,32	2,09	3,71	2,11	4,28
	Toplam	82	2,96	0,64	0,07	2,82	3,10	1,56	4,29
C15:0	GG	55	0,65	0,25	0,03	0,58	0,72	0,19	1,25
	GA	21	0,72	0,23	0,05	0,61	0,82	0,38	1,32
	AA	6	0,68	0,21	0,09	0,45	0,91	0,46	0,97
	Toplam	82	0,67	0,24	0,03	0,61	0,72	0,19	1,32
C16:0	GG	55	23,44	2,07	0,28	22,88	24,00	18,20	27,70
	GA	21	23,76	1,25	0,27	23,19	24,33	20,84	25,52
	AA	6	22,20	2,19	0,89	19,91	24,50	18,80	25,29
	Toplam	82	23,43	1,92	0,21	23,01	23,85	18,20	27,70
C17:0	GG	55	1,44	0,46	0,06	1,31	1,56	0,40	2,48
	GA	21	1,45	0,55	0,12	1,20	1,70	0,24	2,25
	AA	6	1,65	0,30	0,12	1,34	1,96	1,32	2,06
	Toplam	82	1,46	0,47	0,05	1,35	1,56	0,24	2,48
C18:0	GG	55	20,69	3,39	0,46	19,77	21,60	12,49	27,55
	GA	21	19,99	2,09	0,46	19,04	20,93	16,81	23,94
	AA	6	19,60	4,15	1,70	15,24	23,96	16,09	26,28
	Toplam	82	20,43	3,15	0,35	19,74	21,12	12,49	27,55

Yağ Asitleri	Genotipler	N	Ortalama (%)	Standart (Std.) Sapma	Std. Hata	95% Ortalama için Güven Aralığı		Minimum	Maksimum
						Alt Sınır	Üst Sınır		
C16:1(ω-9)	GG	55	4,33	1,20	0,16	4,00	4,65	0,45	7,69
	GA	21	4,28	1,47	0,32	3,61	4,95	0,27	6,59
	AA	6	4,52	1,14	0,46	3,33	5,71	3,13	5,71
	Toplam	82	4,33	1,26	0,14	4,05	4,61	0,27	7,69
C18:1 (ω-9)	GG	55	32,06	2,97	0,40	31,25	32,86	25,89	37,87
	GA	21	31,50	2,18	0,48	30,51	32,49	28,31	36,57
	AA	6	33,91	3,45	1,41	30,29	37,53	30,26	38,57
	Toplam	82	32,05	2,85	0,31	31,42	32,68	25,89	38,57
C18:2 (ω-6)	GG	55	3,74	0,93	0,13	3,49	4,00	1,83	6,84
	GA	21	3,15	0,84	0,18	2,77	3,54	0,65	4,13
	AA	6	4,16	1,20	0,49	2,89	5,42	2,76	6,25
	Toplam	82	3,62	0,96	0,11	3,41	3,83	0,65	6,84
C18:3 (ω-9)	GG	55	0,20	0,08	0,01	0,18	0,22	0,04	0,43
	GA	21	0,22	0,07	0,01	0,19	0,25	0,13	0,39
	AA	6	0,25	0,05	0,02	0,19	0,30	0,16	0,30
	Toplam	82	0,21	0,08	0,01	0,19	0,23	0,04	0,43
C20:3(ω-6)	GG	55	0,11	0,05	0,01	0,09	0,12	0,04	0,31
	GA	21	0,09	0,03	0,01	0,07	0,10	0,05	0,15
	AA	6	0,09	0,02	0,01	0,07	0,11	0,07	0,12
	Toplam	82	0,10	0,04	0,00	0,09	0,11	0,04	0,31
C20:4	GG	55	0,33	0,29	0,04	0,25	0,40	0,01	1,63
	GA	21	0,25	0,28	0,06	0,12	0,38	0,05	1,31
	AA	6	0,29	0,27	0,11	0,00	0,57	0,06	0,72
	Toplam	82	0,30	0,29	0,03	0,24	0,37	0,01	1,63
HI	GG	55	1,36	0,17	0,02	1,31	1,41	0,94	1,75
	GA	21	1,35	0,18	0,04	1,27	1,44	1,02	1,71
	AA	6	1,53	0,36	0,15	1,15	1,91	1,20	2,20
	Toplam	82	1,37	0,20	0,02	1,33	1,42	0,94	2,20

THB'lerin antrikot kasından alınan et örneklerindeki SFA, MUFA ve PUFA yağ asitleri kompozisyonları ile ırk içi FASN geni varyantlarına ilişkin genotipik sonuçlar ile ilişkisi aşağıda verilmiştir.

4.2.1 Doymuş Yağ Asitleri (SFA)

Araştırmamızda THB'lerin antrikot kasından alınan et örneklerinde C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0 ve C18:0 SFA'na bakılmıştır.

4.2.1.1. C10:0 Dekanoik Asit (Kaprik Asit)

Toplam C10:0 yağ asidi ortalaması 0,043±0,036'dır. Genotipik açıdan THB'lerin etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin kaprik yağ asidi ortalaması 0,046±0,042'dir. GA/CT genotipindeki etlerin dekanoik yağ asidi ortalaması 0,036±0,012'dir. AA/TT genotipindeki etlerin C10:0 yağ asidi ortalaması 0,045±0,027'dir. Kaprik yağ asidi maksimum değeri 0,32 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC ve GA/CT genotiplerindeki etlerde 0,01 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

4.2.1.2. C12:0 Dodekanoik Asit (Laurik Asit)

Tüm örneklerin Dodekanoik yağ asidi ortalaması 0,050±0,024'tür. Siyah-Alaca sığır etleri genotipik açıdan bakıldığında GG/CC genotipindeki etlerin Laurik yağ asidi ortalaması 0,049±0,026'dır. GA/CT genotipindeki etlerin C12:0 yağ asidi ortalaması 0,049±0,018'dir. AA/TT genotipindeki etlerin C12:0 yağ asidi ortalaması 0,053±0,019'dir. C12:0 yağ asidi maksimum değeri 0,16 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC ve GA/CT genotiplerindeki etlerde 0,01 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı değildir (Çizelge 4.5).

4.2.1.3. C14:0 Tetradekanoik Asit (Miristik Asit)

C14:0 yağ asidi tüm örneklerin ortalaması 2,964±0,641'tür. Genotipik açıdan Siyah-Alaca sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin Miristik asit ortalaması 2,944±0,620'dir. GA/CT genotipindeki etlerin C14:0 yağ asidi ortalaması 3,032±0,683' dir. AA/TT genotipindeki etlerin C14:0 yağ asidi ortalaması 2,898±0,774'tür. C14:0 yağ asidi maksimum değeri 4,29 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC genotipindeki etlerde 1,56 olarak tespit

edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

4.2.1.4. C15:0 Pentadekanoik Asit

C15:0 yağ asidi tüm örneklerin ortalaması 0,668±0,245'tir. Holstein sığır etleri genotipik açıdan değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C15:0 yağ asidi ortalaması 0,649±0,253' dir. GA/CT genotipindeki etlerin C15:0 yağ asidi ortalaması 0,716±0,231' dir. AA/TT genotipindeki etlerin C15:0 yağ asidi ortalaması 0,680±0,215'tir. C15:0 yağ asidi maksimum değeri 1,32 olarak GA/CT genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC genotipindeki etlerde 0,19 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı değildir (Çizelge 4.5).

4.2.1.5. C16:0 Hekzadekanoik Asit (Palmitik Asit)

C16:0 yağ asidi tüm örneklerin ortalaması 23,432±1,918'tir. Siyah-Alaca sığır etleri genotipik açıdan değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C16:0 yağ asidi ortalaması 23,440±2,071' dir. GA/CT genotipindeki etlerin C16:0 yağ asidi ortalaması 23,761±1,249' dur. AA/TT genotipindeki etlerin C16:0 yağ asidi ortalaması 22,202±2,186'tir. C16:0 yağ asidi maksimum değeri 27,7 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise AA/TT genotipindeki etlerde 25,29 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

4.2.1.6. C17:0 Heptadekanoik Asit

C17:0 yağ asidi tüm örneklerin ortalaması 1,457±0,474'tür. Genotipik açıdan Holstein sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C17:0 yağ asidi ortalaması 1,439±0,459' dir. GA/CT genotipindeki etlerin C17:0 yağ asidi ortalaması 1,451±0,553' dur. AA/TT genotipindeki etlerin C17:0 yağ asidi ortalaması 1,647±0,296'tir. C17:0 yağ asidi maksimum değeri 2,48 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise AA/TT genotipindeki etlerde 2,06 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı değildir (Çizelge 4.5).

4.2.1.7. C18:0 Oktadekanoik Asit (Stearik Asit)

C18:0 yağ asidi tüm örneklerin ortalaması 20,429±3,152'dir. Genotipik açıdan sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C18:0 yağ asidi ortalaması 20,689±3,386'dır. GA/CT genotipindeki etlerin C18:0 yağ asidi ortalaması 19,986±2,085' tir. AA/TT genotipindeki etlerin C18:0 yağ asidi ortalaması 19,597±4,153'tür. C18:0 yağ asidi maksimum değeri 27,55 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC genotipindeki etlerde 12,49 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

4.2.2 MUFA

THB'lerin antrikot kasından alınan doku örneklerinde MUFA'lardan C16:1 ve C18:1 yağ asitlerine bakılmıştır.

4.2.2.1. C16:1 (ω-9), 9-Hekzadekenoik Asit (Palmitoleik Asit)

C16:1 yağ asidi tüm THB et örneklerin ortalaması 4,329±1,256'dır. Holstein sığır etlerine genotipik açıdan bakıldığında GG/CC genotipindeki etlerin 9-Hekzadekenoik yağ asidi ortalaması 4,327±1,201'dir. GA/CT genotipindeki etlerin C16:1 yağ asidi ortalaması 4,281±1,469' dur. AA/TT genotipindeki etlerin C16:1 yağ asidi ortalaması 4,520±1,136'dır. C16:1 yağ asidi maksimum değeri 7,69 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise AA/TT genotipindeki etlerde 5,71 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı değildir (Çizelge 4.5).

4.2.2.2. C18:1 (ω-9) 9-Oktadekanoik Asit (Oleik Asit)

C18:1 yağ asidi toplam THB et örneklerin ortalaması 32,051±2,851 olup genotipik açıdan Holstein sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C18:1 yağ asidi ortalaması 32,060±2,972'dir. GA/CT genotipindeki etlerin C18:1 yağ asidi ortalaması 31,502±2,177'dir. AA/TT genotipindeki etlerin C18:1 yağ asidi ortalaması 33,910±3,446'tür. C18:1 yağ asidi maksimum değeri 38,57 olarak AA/TT

genotipinde görülmüştür. Minimum değeri ise GG/TT genotiplerindeki etlerde 25,89 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 3. THB'lerin FASN geni varyant genotiplerine göre etlerindeki C18:1 (ω-9) yağ asitleri çoklu karşılaştırma testi.

Çoklu Karşılaştırma Testi	rs208645216/rs209734560	N	p = 0.05	
			1	2
Duncan	GA/CT	21	31,5024	
	GG/CC	55	32,0569	32,0569
	AA/TT	6		33,9100
	Önem Seviyesi		0,620	0,100

THB'lerin FASN geni varyant genotiplerine göre oluşan gruplar arası fark tek yönlü ANOVA'da istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. FASN geni varyantları çoklu karşılaştırma testlerinden LSD ve Duncan ile yapılan C18:1 yağ asidi ortalamaların karşılaştırmalarda AA/TT ile GA/CT genotipleri arasındaki C18:1 (ω-9) yağ asidi bileşeni istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunmuş iken diğer genotipler GA/CT ile GG/CC ve GG/CC ile AA/TT arasında fark anlamlı değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.3).

4.2.3.PUFA

THB'lerin antrikot kasından alınan et örneklerinde PUFA'lardan C18:2 (ω-6), C18:3(ω-9), C20:3(ω-6) ve C20:4(ω-6) yağ asitlerine bakılmıştır.

4.2.3.1. C18:2- 9,12 Oktadekadienoik asit (ω-6) (Linoleik Asit)

Çizelge 4. 4. THB'lerin FASN geni varyant genotiplerine göre etlerindeki C18:2 (ω-6) yağ asitleri çoklu karşılaştırma testi.

			p = 0.05	
	rs208645216//rs209734560	N	1	2
Tukey HSD[a,b]	GA/CT	21	3,1538	
	GG/CC	55	3,7442	3,7442
	AA/TT	6		4,1567
	Önem Seviyesi		0,245	0,499
Duncan[a,b]	GA/CT	21	3,1538	
	GG/CC	55	3,7442	3,7442
	AA/TT	6		4,1567
	Önem Seviyesi		0,110	0,262

C18:2 yağ asidi tüm THB'lerin et örneklerin ortalaması 3,632±0,962 olup genotipik açıdan THB etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C18:2 yağ asidi ortalaması 3,744±0,928'dir. GA/CT genotipindeki etlerin C18:2 yağ asidi ortalaması 3,153±0,842'dir. AA/TT genotipindeki etlerin C18:2 yağ asidi ortalaması 4,157±1,204'tür. C18:2 yağ asidi maksimum değeri 6,84 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GA/CT genotiplerindeki THB'lerin etlerde 0,65 olarak belirlenmiştir. THB'lerin FASN geni varyant bakımından genotipik gruplar arası fark tek yönlü ANOVA'da istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Tukey ve LSD karşılaştırma testlerinde GG/CC genotipindeki etler ile GA/CT, GG/CC ile AA/TT genotipindeki etlerin istatistiki olarak C18:2 (ω-6) yağ asidi bileşeni bakımından farklar önemsizdir ($p>0,05$). AA/TT ile GA/CT genotipleri arasında da C18:2 (ω-6) yağ asidi bileşeni istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.4).

THB'lerin FASN geni varyant genotiplerine göre oluşan etkilerinin çoklu karşılaştırma Duncan testine göre de C18:2 (ω-6) yağ asidi bileşeni bakımından GA/CT ile GG/CC ve GG/CC ile AA/TT arasında fark anlamlı değildir ($p>0,05$). GA/CT ile AA/TT genotipindeki etler arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.4).

4.2.3.2. C18:3- 9,12,15 Oktadekatrienoik Asit (ω-9) (Linolenik Asit)

C18:3 yağ asidi tüm THB et örneklerin ortalaması 0,209±0,781'dir. Genotipik açıdan Holstein sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C18:3 yağ asidi ortalaması 0,201±0,839'dur. GA/CT genotipindeki etlerin linolenik yağ asidi ortalaması 0,220±0,653' tür. AA/TT genotipindeki etlerin C18:3 yağ asidi ortalaması 0,248±0,512'dir. C18:3 yağ asidi maksimum değeri 0,43 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise AA/TT genotipindeki etlerde 0,3 olarak tespit edilmiştir. THB'lerin FASN geni varyant genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5)

4.2.3.3. C20:3- Eikosatrienoik Asit (ω-6)

C20:3 yağ asidi tüm THB et örneklerin ortalaması 0,102±0,447'dir. Genotipik açıdan THB etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C20:3 yağ asidi ortalaması 0,108±0,505'tir. GA/CT genotipindeki etlerin C20:3 (ω-6) yağ asidi ortalaması 0,087±0,027'tür. AA/TT genotipindeki etlerin C20:3 yağ asidi ortalaması 0,093±0,019'dir. C20:3 yağ asidi maksimum değeri 0,31 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC genotipindeki etlerde 0,04 olarak tespit edilmiştir. THB'lerin FASN geni varyant genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

4.2.3.4. C20:4- 6,8,11,14 Eikosatetraenoik Asit (ω-6) (Araşidonik Asit)

C20:4 (ω-6) yağ asidi tüm örneklerin ortalaması 0,303±0,286'dır. Genotipik açıdan Holstein sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin C20:4 yağ asidi ortalaması 0,325±0,292'dir. GA/CT genotipindeki etlerin C20:4 (ω-6) yağ asidi ortalaması 0,249±0,282' dir. AA/TT genotipindeki etlerin C20:4 yağ asidi ortalaması 0,285±0,267'dir. C20:4 yağ asidi maksimum değeri 1,63 olarak GG/CC genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC genotipindeki etlerde 0,04 olarak tespit edilmiştir. THB'lerin FASN geni varyant genotipler arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

4.2.4. Sağlık İndeksi (HI)

Sağlık indeksi tüm THB örneklerin ortalaması 1,372±0,197'dir. Genotipik açıdan THB sığır etleri değerlendirildiğinde GG/CC genotipindeki etlerin HI ortalaması 1,362±0,174'tür. GA/CT genotipindeki etlerin sağlık indeksi ortalaması 1,353±0,184' tür. AA/TT genotipindeki etlerin HI ortalaması 1,530±0,362'dir. Sağlık indeksi maksimum değeri 2,197 olarak AA/TT genotipinde tespit edilmiştir. Minimum değeri ise GG/CC genotipindeki etlerde 0,938 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). HI sonuçlarına göre de FASN geni g.16024AA/g.16039 TT genotipindeki THB'lerin etleri diğer genotipteki THB'lerin etlerinden daha sağlıklı olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 5. FASN genindeki ekzonik varyantların yağ asidi bileşimi üzerindeki genotipik etkileri.

Yağ Asitleri (%)	**rs208645216**			**rs209734560**		
	GG (55)	**GA (21)**	**AA (6)**	**CC (55)**	**CT (21)**	**TT (6)**
C10:0	0,046±0,042	0,036±0,012	0,045±0,027	0,046±0,042	0,036±0,012	0,045±0,027
C12:0	0,049±0,026	0,049±0,018	0,053±0,019	0,049±0,026	0,049±0,018	0,053±0,019
C14:0	2,944±0,620	3,032±0,683	2,898±0,774	2,944±0,620	3,032±0,683	2,898±0,774
C15:0	0,649±0,253	0,716±0,231	0,680±0,215	0,649±0,253	0,716±0,231	0,680±0,215
C16:0	23,440±2,071	23,761±1,249	22,202±2,186	23,440±2,071	23,761±1,249	22,202±2,186
C17:0	1,439±0,459	1,451±0,553	1,647±0,296	1,439±0,459	1,451±0,553	1,647±0,296
C18:0	20,689±3,386	19,986±2,085	19,597±4,153	20,689±3,386	19,986±2,085	19,597±4,153
SFA	7,04	7,01	6,73	7,04	7,01	6,73
C16:1 (ω-9)	4,327±1,201	4,281±1,469	4,520±1,136	4,327±1,201	4,281±1,469	4,520±1,136
C18:1 (ω-9)	32,060±2,972^{a}	31,502±2,177^{ab}	33,910±3,446^{b}	32,060±2,972^{a}	31,502±2,177^{ab}	33,910±3,446^{b}
MUFA	18,20	17,89	19,22	18,20	17,89	19,22
C18:2 (ω-6)	3,744±0,928^{a}	3,153±0,842^{ab}	4,157±1,204^{b}	3,744±0,928^{a}	3,153±0,842^{ab}	4,157±1,204^{b}
C18:3 (ω-9)	0,201±0,839	0,220±0,653	0,248±0,512	0,201±0,839	0,220±0,653	0,248±0,512
C20:3 (ω-6)	0,108±0,505	0,087±0,027	0,093±0,019	0,108±0,505	0,087±0,027	0,093±0,019
C20:4	0,325±0,292	0,249±0,282	0,285±0,267	0,325±0,292	0,249±0,282	0,285±0,267
PUFA	1,095	0,93	1,20	1,095	0,93	1,20
***HI**	1,362±0,174^{a}	1,353±0,184^{a}	1,530±0,362^{b}	1,362±0,174^{a}	1,353±0,184^{a}	1,530±0,362^{b}

'a' ile 'b' arasındaki farklar önemlidir ($p< 0,05$)

*HI: Sağlık indeksi

Çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey testinde genotipleri arası ortalama farkları istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak Duncan testi THB'lerin FASN geni varyantlarına göre oluşan genotiplerin yağ asidi bileşenleri bakımından sağlık indeksi, GA/CT ile AA/TT ve GG/CC ile AA/TT arasında fark istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,05$). GG/CC ile GA/CT genotipindeki etler arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.5)

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Mevcut çalışmada, THB'lerin FASN genindeki tek nükleotid polimorfizmlerini saptamak için 82 adet THB etlerinde gen dizilemesi ve yağ asitleri kompozisyon analizi GC-MS cihazında yapılmıştır. Bu çalışmada FASN geninde tanımlanan polimorfizmlerin yağ asitleri üzerindeki etkisi ayrıca genotip ve fenotip ilişkisi araştırılıp sunulmuştur. Dizileme sonucunda örnek alınan THB'lerin FASN geni 34. eksonda iki adet SNP (rs208645216 G>A ve rs209734560 C>T) tespit edilmiştir. Dizileme sonucunda örneklerimizde tespit ettiğimiz iki SNP (rs208645216 ve rs209734560) FASN proteininin 1952 ve 1957. poziyondaki amino asitlerinde değişikliğe yani aynı zamanda amino asit polimorfizmine neden olmaktadır (Şekil 4.3). 1952. pozisyonda Alanin (Ala, A) ve Treonin (Thr, T) aminoasitlerinde, 1957. pozisyonda ise Arjinin (Arg, R) ve Triptofan (Trp, W) aminoasitlerinde değişime neden olduğunu tespit edilmiştir.

Dizileme işlemi ile Türk Holstein ırkının FASN genindeki rs208645216 lokusun polimorfik ve 3 farklı genotipte olduğu gözlenmiştir. Genotipler DNA dizi analiz sonuçlarının BioEdit programında hizalanması ve analiz edilmesi sonucunda belirlenmiştir. Bazların konumuna göre genotipler, GG, GA ve AA şeklinde tanımlaması yapılmıştır. Ayrıca rs208645216 SNP'ye 14 baz mesafede rs209734560 SNP'de de 3 farklı genotip belirlenmiştir. Benzer şekilde genotipler baz değişimine bağlı olarak CC, CT ve TT şeklinde tanımlanmıştır. THB'lerin her iki lokusu da polimorfik olup LD oluşturmaktadır.

Çalışmamızda THB'lerde FASN geninin 34. Ekzon rs208645216 G>A/ rs209734560 C>T lokuslarında iki varyant (G/C ve A/T) ve üç genotip (GG/CC, GA/CT, AA/TT) gözlenmiştir. THB'lerde genetik karakterizasyon açısından FASN geni alel

frekanslarına baktığımızda G/C haplotipi 0,80 ve A/T haplotipi 0,20 olduğu tespit edilmiştir. G/C alelinin A/T alelinden daha yüksek frekansta olduğu belirlenmiştir. Japon Kara sığırlarında Abe vd. (2009) yapmış oldukları çalışmada rs208645216 G>A ve rs209734560 C>T lokuslarında FASN geni alel frekansları G/C 0,67 ve A/T 0,33 olarak tespit etmişlerdir. G/C haplotipi A/T haplotipinden daha yüksek frekanstadır ve bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Matsuhashi vd. (2011), Japon Kara sığırlarında FASN geni rs208645216 G>A ve rs209734560 C>T lokuslarında G/C alel frekansını 0,85 ve A/T alel frekansını 0,15 olarak tespit etmişlerdir. Hayakawa vd. (2015) ise Japon Kara sığırlarında FASN geni g.16024A>G/ g.16039 T>C lokuslarında haplotip frekanslarını G/C 0,17 ve A/T 0,83 belirlemişlerdir. THB'nde ve daha önce Japon Kara sığırındaki bulgulara (Abe vd., 2009; Matsuhashi vd., 2011) bakıldığında G/C haplotip frekansı A/T haplotip frekansından daha yüksek belirlenmiş iken Hayakawa vd., (2015) G/C haplotip frekansını A/T haplotip frekansından daha düşük belirlemişlerdir. Çalışmamızdaki THB'lerin G/C haplotipinin frekansı, Japon Kara sığırlarında çalışan Abe vd. (2011) bulguları üstünde iken Matsuhashi vd. (2011) bulguları altında kalmıştır.

Öztabak vd.' nin (2014) GAK ve DAK sığırlarında FASN geni g.16024 G>A ve g.16039 T>C SNP lokuslarında LD belirlememişlerdir. GAK sığırlarında g.16024 G>A lokusunda G alel frekansı 0,62 iken A aleli ise 0,38 olarak tespit edilmiştir. DAK sığırlarında da G aleli 0,66 ve A alel frekansı 0,34 olarak tespit edilmiştir. GAK ve DAK sığırların g.16024 G>A SNP alel frekansları THB'lerde olduğu gibi dağılmıştır. FASN geni g.16039 T>C lokusu için GAK'larda alel frekansları T aleli 0,64 ve C aleli 0,36 olarak bulunmuştur. Bizim THB'lerdeki çalışmamızın aksine T aleli C alelinden daha yüksek frekanstadır. DAK'larda ise THB'lerdeki gibi C aleli T alelinden daha yüksek frekansta ve C aleli 0,58 ve T aleli 0,43 olarak bulunmuştur.

Genotipik frekanslar bakımından en yüksek frekans 0,64 ile GG/CC genotipinde, en düşük genotipteki sığırların 0,04 ile AA/TT genotipinde olduğu tespit edilmiştir. GA/CT genotipindeki sığırların frekansı ise 0,32 olarak belirlenmiştir. Japon Kara sığırlarında da en yüksek frekans GG/CC 0,47, en düşük AA/TT 0,14 ve GA/CT 0,39 olarak bildirilmiştir. Japon Kara sığırlarında genotipik frekanslar bakımından da bizim çalışmamızdaki genotiplerin dağılımı ile paralellik göstermiştir. (Abe vd., 2009). Matsuhashi vd (2011) de Japon Kara sığırlarının genotipik frekanslarını GG/CC genotipinde 0,71, GA/CT genotipinde 0,28, AA/TT genotipinde 0,01 olarak tespit

etmişlerdir. Bulunan sonuçlar bizim çalışmamızla benzer niteliktedir. Fakat Hayakawa vd. (2015) Japon Kara sığırında genotipik frekansları GG/CC 0,03, GA/CT 0,29 ve AA/TT 0,68 olarak tespit etmişlerdir. Bizim THB'lerde yapmış olduğumuz çalışmaya ve Japon Kara sığırlarında Abe vd (2009) ve Matsuhashi vd. (2011) çalışmalarındaki genotipik frekansların dağılımına benzememektedir. GG/CC genotipik frekansı en düşük iken ve AA/TT genotipik frekansı en yüksek çıkmıştır.

Öztabak vd.' nin (2014) GAK sığırlarında FASN geni g.16024 G>A lokusunda genotipik frekanslar bakımından GG genotipi 0,45, GA genotipi 0,34 ve AA genotipi 0,21 olduğu tespit etmişlerdir. En yüksek frekansta GG genotipinde, en düşük genotip frekansın AA genotipinde olduğu tespit edilmiştir. DAK sığırlarında genotipik frekansları bakımından GG, GA, AA sırasıyla 0,53, 0,25, 0,22 olarak belirlenmiştir (Öztabak vd., 2014). FASN geni g.16039 T>C lokusu için GAK'larda genotipik frekanslar; CC 0,24, CT 0,22 ve TT 0,54 olarak, DAK sığırlarında ise CC 0,50, CT 0,17 ve TT 0,33 olarak tespit etmişlerdir. Genotipik frekansları açısından en yüksek frekansta CC ve en düşük CT genotipik frekansında olduğu belirlemişlerdir (Öztabak vd., 2014).

Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) sığır ırkında Öztabak vd (2014) yapmış oldukları çalışmada en yüksek frekans 0,42 ile TW (16024G/16039C) haplotipine ve 0,34 ile AR (16024A/16039T) haplotipinde belirlenmiştir. Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) sığır ırkında, AR ve TW haplotipleri sırasıyla 0,42 ve 0,25 frekanslara sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda, THB'lerin FASN rs208645216 G>A/rs2097344560 C>T lokuslarının alel ve genotip frekansların dağılım farkı istatistiki olarak anlamsızdır ($p>0,05$). Genotipler arası frekans dağılımları Hardy-Weinberg (HW) dengesindedir.

rs2097344560 C>T (g.16039 T>C) SNP, rs208645216 G>A (g.16024A>G) SNP'ye 14 baz uzaklıktadır. SNP'lerin birbirine yakın olması nedeniyle birlikte kalıtılmadan kaynaklı olabileceği bağlantı dengesizliği (LD) oluşturduğu anlaşılmıştır. LD, bazı özelliklerin seleksiyonu ile nesiller arasında ortak alellerin kalıtımının gözlenmesidir. Bu yüzden rs2097344560 C>T SNP ile rs208645216 G>A SNP genotipik varyantları (GG/CC, GA/CT ve AA/TT) benzer frekansa sahiptir (Çizelge 4.1).

THB etleri üzerine yaptığımız araştırmada FASN geni g.16024A>G ve g.16039T>C varyant genotiplerinin et yağ asidi kompozisyonu üzerine genotipik

karakterizasyon çalışmaları DAK, GAK ve Japon Kara Sığırlarında da yürütülmüştür (Çizelge 5.1).

Çizelge 5. 1. FASN geni varyantlarında et yağ asidi kompozisyonu üzerine yapılmış olan önceki araştırmalar.

Özellik	**Lokasyon**	**SNP**	**dbSNP no.**	**Irk**	**Referans**
Et yağ asidi kompozisyonu	Ekson 34	g.16024A>G	rs208645216	Japon Kara Sığırı	(Abe vd., 2009) (Matsuhashi vd., 2011) (Hayakawa vd., 2015)
				DAK, GAK	(Öztabak vd., 2014)
		g.16039T>C	rs209734560	Japon Kara Sığırı	(Abe vd., 2009) (Matsuhashi vd., 2011)
				DAK, GAK	(Öztabak vd., 2014)

Japon Kara ve Limuzin sığırlarının F_2 popülasyonunda Abe vd. (2009), g.16024 G>A ve g.16039 T>C polimorfizmleri haplotip dağılımını belirlemiştir. TW (16024G/16039C) haplotipli hayvanlar hem kaslar arası hem de kas içi yağda daha yüksek C18:0 ve C18:1 yağ asidi içeriğine ve MUFA/SFA oranına ve daha düşük C14:0, C14:1, C16:0 ve C16:1 yağ asidi içeriğine sahiptirler. Araştırmacılar ayrıca farklı sığır ırklarında TW haplotipinin frekanslarını da belirlemişlerdir. En yüksek frekans 0.67 ile Japon Kara sığır ırkında gözlenmiştir.

Abe vd. (2009) yapmış oldukları çalışmada FASN'nin TW haplotipi Japon Siyahı popülasyonlarında kas içi yağın MUFA yüzdesindeki artışla ilişkilendirilmiştir ($p<0.05$ ve $p <0.01$). MUFA ile ilgili olarak, TW haplotipi, C18:1 içeriğini artırma ve C14:1 ve C16:1 içeriğini azaltma etkisine sahip olduğu çalışmada tespit edilmiştir. Aynı zamanda sığır adipozunda en çok bulunan yağ asidi C18:1'dir; bu nedenle, TW (16024G/16039C) haplotipindeki damızlık sığırlar döllerinin (yavrularının) etlerine daha fazla MUFA kazandırabileceği önerilmiştir (Abe vd., 2009).

Abe vd (2009), Japon kara sığırı melezlerinde 34. eksonda THB'lerde bizim belirlediğimiz gibi iki SNP'yi (g.16024G>A ve g.16039T>C) tespit etmişlerdir. Polimorfizmler arasında bir rekombinasyon olayı olduğuna dair herhangi bir kanıt olmadığını öne sürmüşler ve TW ve AR olmak üzere yalnızca iki haplotip tespit etmişlerdir. Oysa Öztabak vd. (2014) DAK ve GAK sığırlarında THB'lerde belirlenen iki SNP'nin dışında iki farklı SNP daha belirlemişlerdir. Öztabak vd. (2014) DAK ve GAK sığır popülasyonlarında iki mutasyon arasında bir rekombinasyon olayının olabileceğini ileri sürmüşlerdir. 34. eksondaki β- ketoasil redüktaz (KR) alanı içinde yer alan ve THB'lerde belirlenen g.16024G>A ve g.16039T>C polimorfizmlerin HW dengesinde olmadığını, bu durum TW haplotipinin dağılımında bir değişikliğe neden olabileceğini ifade etmişlerdir (Öztabak vd., 2014). KR alanındaki amino asit değişikliklerinin TE alanının işlevi üzerindeki etkisi nedeniyle yağ asidi üretiminde önemli bir role sahip olabileceğini önceki araştırmalara dayanarak öne sürmüşlerdir (Abe vd., 2009; Öztabak vd., 2014). g.16024 G>A SNP'nin genotip dağılımları açısından hem GAK hem de DAK sığır ırklarında önemli avantajlara sahip olduğu belirtilmiştir. Et ürünlerinin yağ asidi bileşimini etkileyen KR alanında g.16039 T>C polimorfizmlerinin gelecekteki MAS çalışmaları için bu verilerin dikkate alınmasının yararlı olacağını belirtmişlerdir (Öztabak vd., 2014). Bizde THB'lerde belirtilen lokuslara ilişkin AA/TT varyant genotipindekileri C18:1 ve C18:2 yağ asitleri bakımından diğer genotiplere nazaran önemli olduğu görülmüştür.

Hayakawa vd. (2015) Japon Kara sığırlarındaki çalışmalarında, popülasyon 1'de g.16024A>G SNP'nin C14:0, C14:1, C16:1, C18:1 ($p<0.05$) yüzdeleri üzerine önemli etkileri olduğunu, popülasyon 2'de g.841G>C SNP'nin C14:0, C16:0 ve C18:2 ($p<0.05$) yağ asitleri yüzdeleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Popülasyon 2'de g.16024A>G SNP'nin de C14:0, C16:0, C16:1 ve C18:2 yüzdeleri üzerinde önemli etkileri olduğunu tespit etmişlerdir ($p<0,05$). Ayrıca 3. popülasyonda g.841G>C SNP'nin, C14:0, C14:1, C16:0, C16:1, C18:1, MUFA ve SFA yüzdeleriyle önemli ölçüde ilişkili olduğunu da bildirmişlerdir ($p<0.05$). Aynı şekilde Japon Kara sığırları 3. popülasyonundaki g.16024A>G SNP'nin de C14:0, C14:1, C16:1, C18:1, MUFA ve SFA yüzdeleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Holstein ırkı sığırlarda yapılan araştırmada, g.841G>C SNP'nin C18:2 hariç her yağ asidinin yüzdesi

ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu, fakat g.16024A>G SNP'nin ise herhangi bir yağ asidi yüzdesi üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığı aktarılmıştır (Hayakawa vd., 2015).

Mevcut çalışmamızda THB'ler de g.16024A>G/g.16039 T>C varyantları AA/TT genotipindekilerin diğer genotipteki (GG/CC, GA/CT) sığır etlerin C18:1 **(**ω-9) yağ asit oranının daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Aynı şekilde C18:2 (ω-6) yağ asidinin de AA/TT genotiplerindeki THB etlerinde diğer genotipteki (GG/CC, GA/CT) etlere göre daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

THB'lerin et ürünlerinin yağ asidi bileşimini etkileyen g.16024A>G ve g.16039 T>C varyantı AA/TT genotipindeki sığırların gelecekteki MAS çalışmaları için araştırmamızdaki verilerin sonuçları dikkate alınması gerekir. Dolayısıyla THB'ler ile et üretimi yapan yetiştiricilerin C18:1 **(**ω-9) ve C18:2 (ω-6) yağ asidi bakımından daha lezzetli ve kaliteli et üretiminde g.16024AA/g.16039 TT genotipindeki sığırların et üretimi için yetiştirilmesi önerilmektedir. HI sonuçlarına göre de FASN geni g.16024AA/g.16039 TT genotipindeki THB'lerin etleri diğer genotipteki THB'lerin etlerinden daha sağlıklı olduğu indeks değerleri tarafından da desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Abe, T., Saburi, J., Hasebe, H., Nakagawa, T., Misumi, S., Nade, T., Nakajima, H., Shoji, N., Kobayashi, M., & Kobayashi, E. (2009). Novel mutations of the FASN gene and their effect on fatty acid composition in Japanese Black beef. *Biochem Genet*, *47*(5-6), 397-411. https://doi.org/10.1007/s10528-009-9235-5

Aksoy, A. (2021). Gıdalarda pH Ölçümünün Önemi. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *4*(2), 193-216.

Allais, S., Journaux, L., Leveziel, H., Payet-Duprat, N., Raynaud, P., Hocquette, J. F., Lepetit, J., Rousset, S., Denoyelle, C., Bernard-Capel, C., & Renand, G. (2011). Effects of polymorphisms in the calpastatin and mu-calpain genes on meat tenderness in 3 French beef breeds. *J Anim Sci*, *89*(1), 1-11. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3063

Ardıçlı, S. (2018). Genetik ve postmortem mekanizmaların sığır eti renk özellikleri üzerine etkisi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *37*(1), 49-59.

Atalay, S. (2015). *Bozırk sığırların ghrelin geninde rs110968631 TNP'ni belirlemede Arms_Pcr ve Pcr-Rflp metotlarının kullanımı* Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü].

Barendse, W., Bunch, R., & Harrison, B. (2010). The effect of variation at the retinoic acid receptor-related orphan receptor C gene on intramuscular fat percent and marbling score in Australian cattle. *Journal of Animal Science*, *88*(1), 47-51.

Barton, L., Bures, D., Kott, T., & Rehak, D. (2016). Associations of polymorphisms in bovine DGAT1, FABP4, FASN, and PPARGC1A genes with intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Sci*, *114*, 18-23. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.004

Bayram, B., & Özçelik, B. (2012). Zeytinyağının biyoaktif bileşenleri ve sağlık üzerine yararları. *Akademik Gıda*, *10*(1), 77-84.

Bhuiyan, M. S. A., Yu, S. L., Jeon, J. T., Yoon, D., Cho, Y. M., Park, E. W., Kim, N. K., Kim, K. S., & Lee, J. H. (2009). DNA Polymorphisms in SREBF1 and FASN Genes Affect Fatty Acid Composition in Korean Cattle (Hanwoo). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *22*(6), 765-773. https://doi.org/DOI 10.5713/ajas.2009.80573

Buchanan, F. C., Fitzsimmons, C. J., Van Kessel, A. G., Thue, T. D., Winkelman-Sim, D. C., & Schmutz, S. M. (2002). Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol*, *34*(1), 105-116. https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-1-105

Cameron, N. D., & Enser, M. B. (1991). Fatty acid composition of lipid in Longissimus dorsi muscle of Duroc and British Landrace pigs and its relationship with eating

quality. *Meat Sci*, *29*(4), 295-307. https://doi.org/10.1016/0309-1740(91)90009-F

Casas, E., White, S., Wheeler, T., Shackelford, S., Koohmaraie, M., Riley, D., Chase Jr, C., Johnson, D., & Smith, T. (2006). Effects of calpastatin and μ-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*, *84*(3), 520-525.

Chin, S., Liu, W., Storkson, J., Ha, Y., & Pariza, M. (1992). Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of food composition and analysis*, *5*(3), 185-197.

Çakmakçı, S., & Kahyaoğlu, D. T. (2012). Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*(2), 133-137.

Çalık, E. (2020). Etçi sığır ırklarında kalpastatin (Cast) genindeki polimorfizmlerin yeni nesil dizi analizi ile belirlenmesi/Determination of polymorphisms in the calpastatin (Cast) gene in beef cattle by next generation sequencing technology.

Çelebi, Ş., & Adem, K. (2008). Konjuge linoleik asitin biyolojik özellikleri ve hayvansal ürünlerde miktarını artırmaya yönelik bazı çalışmalar. *Hayvansal Üretim*, *49*(1).

Dadi, H., Kim, J. J., Yoon, D., & Kim, K. S. (2012). Evaluation of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) Genotyped by the Illumina Bovine SNP50K in Cattle Focusing on Hanwoo Breed. *Asian-Australas J Anim Sci*, *25*(1), 28-32. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11232

Dannenberger, D., Nuernberg, K., Nuernberg, G., Scollan, N., Steinhart, H., & Ender, K. (2005). Effect of pasture vs. concentrate diet on CLA isomer distribution in different tissue lipids of beef cattle. *Lipids*, *40*(6), 589-598. https://doi.org/10.1007/s11745-005-1420-2

Enser, M., Hallett, K. G., Hewett, B., Fursey, G. A., Wood, J. D., & Harrington, G. (1998). Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Sci*, *49*(3), 329-341. https://doi.org/10.1016/s0309-1740(97)00144-7

Ercoşkun, H., Uğuz, Ş., Kıralan, M., (2011). Konjüge Linoleik Asit. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 42-46.

Eseceli, H., Değirmencioğlu, A., Kahraman, R., Üniv, B., Bandırma, M., & Bandırma, E. E. P. (2006). Omega yağ asitlerinin insan sağlığı yönünden önemi. *Türkiye*, *9*, 403-406.

Geçgel, U., Yilmaz, I., Soysal, M. I., Gurcan, E. K., & Kok, S. (2018). Investigating proximate composition and fatty acid profile of Longissimus dorsi from Anatolian Water Buffaloes (Bubalus bubalis) raised in similar conditions. *Food Science and Technology*, *39*, 830-836.

Goddard, M. E., & Hayes, B. J. (2007). Genomic selection. *J Anim Breed Genet*, *124*(6), 323-330. https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00702.x

Ha, Y. L., Storkson, J., & Pariza, M. W. (1990). Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res*, *50*(4), 1097-1101. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2297758

Hall, T.A., (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.

Hayakawa, K., Sakamoto, T., Ishii, A., Yamaji, K., Uemoto, Y., Sasago, N., Kobayashi, E., Kobayashi, N., Matsuhashi, T., Maruyama, S., Matsumoto, H., Oyama, K., Mannen, H., & Sasazaki, S. (2015). The g.841G>C SNP of FASN gene is

associated with fatty acid composition in beef cattle. *Anim Sci J, 86*(8), 737-746. https://doi.org/10.1111/asj.12357

HAYGEM, (2022). https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf

Holstein Taksonomi, https://www.veteriner.cc/sigir/sigir_taksonomisi.asp

Immonen, K., Ruusunen, M., Hissa, K., Puolanne, E. (2000a). Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. Meat Sci, 55: 25–31

Immonen, K., Ruusunen, M., Hıissa, K., Puolanne, E. (2000b). Some effects of residual glycogen concentration on the physical and sensory quality of normal pH beef. Meat Sci, 55: 33–38

Ip, C., Singh, M., Thompson, H. J., & Scimeca, J. A. (1994). Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res*, *54*(5), 1212-1215. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8118808

İnanç, M., & Daşkın, A. (2015). Sığırlarda suni tohumlama uygulamaları yönünden genomik seleksiyonun önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, *10*(2).

Jeong, J., Kwon, E., Im, S., Seo, K., & Baik, M. (2012). Expression of fat deposition and fat removal genes is associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of Korean cattle steers. *Journal of Animal Science*, *90*(6), 2044-2053.

Kaplanova, K., Dufek, A., Drackova, E., Simeonovova, J., Subrt, J., Vrtkova, I., & Dvorak, J. (2013). The association of CAPN1, CAST, SCD, and FASN polymorphisms with beef quality traits in commercial crossbred cattle in the Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science*, *58*(11), 489-496. https://doi.org/10.17221/7044-Cjas

Karabacak, A., Aytekin, İ., & Boztepe, S. (2013). Malya kuzularında karkas bölgelerinin yağ asidi kompozisyonu. *Hayvansal Üretim*, *54*(1).

Karasoy, M. (1957). Memleketimiz sığır ve karaman koyunları etlerinde kolorimetrique meı'otlarla ph değeri üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *4*(03.04).

Kawaguchi, F., Tsuchimura, M., Oyama, K., Matsuhashi, T., Maruyama, S., Mannen, H., & Sasazaki, S. (2020). Effect of DNA markers on the fertility traits of Japanese Black cattle for improving beef quantity and quality. *Archives Animal Breeding*, *63*(1), 9-17.

Keys, A., Grande, F., & Anderson, J. T. (1974). Bias and misrepresentation revisited: "perspective" on saturated fat. *Am J Clin Nutr*, *27*(2), 188-212. https://doi.org/10.1093/ajcn/27.2.188

Keyvan, E. (2010). Sığır karkaslarında post-mortem değişiklikler. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, *81*(2), 43-46.

Kılıçaslan, Ö., Yıldırmak, Z. Y., & Urgancı, N. (2014). Derin anemi nedeni ile çocuk kliniğine yatırılıp demir eksikliği tanısı alan olguların değerlendirilmesi. *Ş. EEAH Tıp Bültesi*, *48*, 234-238.

Koletzko, B., Aggett, P. J., Bindels, J. G., Bung, P., Ferre, P., Gil, A., Lentze, M. J., Roberfroid, M., & Strobel, S. (1998). Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *Br J Nutr*, *80 Suppl 1*(S1), S5-45. https://doi.org/10.1079/bjn19980104

Koptagel, E., & Kürklü, N. S. (2020). Tek Zincirli Doymuş Yağ Asitleri ve Sağlık İlişkisi. *İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, *5*(3), 307-312.

Kök, S.,Vapur, G., Özcan, C., (2015). Sığır Etlerinde Mozaikleşme ile İlişkili Leptin (LEP) Geni Polimorfizmleri, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 2(4): 297–302

Kök, S., Atalay, S., Vapur, G., & Soysal, M. İ. (2019a). Sığırlarda Kalpain ve Kalpastatin Gen Polimorfizmlerinin Et Tekstürünün İyileştirilmesi Çalışmalarında Kullanımı. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *59*(2), 87-96.

Kök,S., Vapur, G., (2019b). "Edirne bölgesindeki Türk Holstein sığırlarının LEP geni 2. ekson (E2JW, E2FB) ve TG gen 5' promotör bölgesindeki (C422T) markır genlerin Canlı Ağırlık ve Sıcak Karkas Ağırlığı üzerindeki etkilerinin araştırılması". The 11th International Animal Science Conference, Cappadocia, Turkey. 20-22 October 2019, Book of Proceedings. e-ISBN : 978–605–80643-1-7, pp.119-120.

Kök, S., & Vapur, G. (2021). Effects of leptin and thyroglobulin gene polymorphisms on beef quality in Holsteinbreed bulls in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, *45*(2), 238-247.

Köseoğlu, İ. (2014). *Çeşitli et ürünlerinde üretim aşamalarının yağ asidi bileşimi ve yağ oksidasyonu üzerine etkisi* Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 49-65].

Laborde, F. L., Mandell, I. B., Tosh, J. J., Wilton, J. W., & Buchanan-Smith, J. G. (2001). Breed effects on growth performance, carcass characteristics, fatty acid composition, and palatability attributes in finishing steers. *J Anim Sci*, *79*(2), 355-365.

Leal-Gutierrez, J. D., Elzo, M. A., Johnson, D. D., Scheffler, T. L., Scheffler, J. M., & Mateescu, R. G. (2018). Association of mu-Calpain and Calpastatin Polymorphisms with Meat Tenderness in a Brahman-Angus Population. *Front Genet*, *9*, 56. https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00056

Lee, S. H., Cho, Y. M., Lee, S. H., Kim, B. S., Kim, N. K., Choy, Y. H., Kim, K. H., Yoon, D., Im, S. K., Oh, S. J., & Park, E. W. (2008). Identification of marbling-related candidate genes in M. longissimus dorsi of high- and low marbled Hanwoo (Korean Native Cattle) steers. *BMB Rep*, *41*(12), 846-851. https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.12.846

Leech, N. L., Barrett, K. C., & Morgan, G. A. (2014). *IBM SPSS for intermediate statistics: Use and interpretation*. Routledge.

Lehnert, S. A., Reverter, A., Byrne, K. A., Wang, Y., Nattrass, G. S., Hudson, N. J., & Greenwood, P. L. (2007). Gene expression studies of developing bovine longissimusmuscle from two different beef cattle breeds. *BMC developmental biology*, *7*(1), 1-13.

Li, X., Ekerljung, M., Lundstrom, K., & Lunden, A. (2013). Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat science*, *94*(2), 153-158. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.010

Li, CT., Wick, M., Marriott, NG. (1992). Evaluation of lipid oxidation in animal fat. Extension Research. Research and Reviews: Meat. Special Circular. 1992; 172: 99.

Mannen, H. (2011). Identification and utilization of genes associated with beef qualities. *Anim Sci J, 82*(1), 1-7. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00845.x

Massaro, M., Carluccio, M., Bonfrate, C., Siculella, L., Lazzerini, G., Bernini, W., Basta, G., & De Caterina, R. (1999). The double bond in unsaturated fatty acids is the necessary and sufficient requirement for the inhibition of expression of endothelial leukocyte adhesion molecules through interference with nuclear factor-κB activation. *Lipids, 34*, S213-S214.

Matsubara, K. (1998). Quality of and consumer preference for marketing beef. *Bulletins of Hyogo Prefectural Agriculture Institute*, *34*, 10-15.

Matsuhashi, T., Maruyama, S., Uemoto, Y., Kobayashi, N., Mannen, H., Abe, T., Sakaguchi, S., & Kobayashi, E. (2011). Effects of bovine fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. *Journal of Animal Science*, *89*(1), 12-22.

Matsumoto, H., Inada, S., Kobayashi, E., Abe, T., Hasebe, H., Sasazaki, S., Oyama, K., & Mannen, H. (2012). Identification of SNPs in the FASN gene and their effect on fatty acid milk composition in Holstein cattle. *Livestock Science*, *144*(3), 281-284.

Menendez, J., A., Lupu, R., (2007), Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis, *Nature Reviews Cancer*, 7, S763–777

Mermer, M., & Yıldıran, H. (2020). Parkinson Hastalığı Patogenezinde Esansiyel Yağ Asitleri ve Kolesterolün Etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, *11*(1), 120-126.

Morris, C. A., Cullen, N. G., Glass, B. C., Hyndman, D. L., Manley, T. R., Hickey, S. M., McEwan, J. C., Pitchford, W. S., Bottema, C. D., & Lee, M. A. (2007). Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. *Mamm Genome*, *18*(1), 64-74. https://doi.org/10.1007/s00335-006-0102-y

Mozaffarian, D., Ascherio, A., Hu, F. B., Stampfer, M. J., Willett, W. C., Siscovick, D. S., & Rimm, E. B. (2005). Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation*, *111*(2), 157-164. https://doi.org/10.1161/01.Cir.0000152099.87287.83

NCBI, (2022). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/

Nergis, H., Koncagül, S., & Kiraz, S. (2016). Hereford ırkı sığırlarda stearoyl-CoA desaturase (SCD) gen polimorfizmi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, *23*(2), 247-253.

OECD, (2022). https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm

Oh, D. Y., Nam, I., Hwang, S., Kong, H., Lee, H., Ha, J., Baik, M., Oh, M. H., Kim, S., Han, K., & Lee, Y. (2018). In vivo evidence on the functional variation within fatty acid synthase gene associated with lipid metabolism in bovine longissimus dorsi muscle tissue. *Genes & genomics*, *40*(3), 289-294. https://doi.org/10.1007/s13258-017-0634-4

Oh, D., Lee, Y., La, B., Yeo, J., Chung, E., Kim, Y., & Lee, C. (2012b). Fatty acid composition of beef is associated with exonic nucleotide variants of the gene encoding FASN. *Mol Biol Rep*, *39*(4), 4083-4090. https://doi.org/10.1007/s11033-011-1190-7

Oh, D. Y., Lee, Y. S., La, B. M., & Yeo, J. S. (2012a). Identification of the SNP (Single Nucleotide Polymorphism) for Fatty Acid Composition Associated with Beef Flavor-related FABP4 (Fatty Acid Binding Protein 4) in Korean Cattle. *Asian-Australas J Anim Sci*, *25*(7), 913-920. https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12078

Öztabak, K., Gürsel, F. E., Akis, I., Ates, A., Yardibi, H., & Turkay, G. (2014). FASN gene polymorphism in indigenous cattle breeds of Turkey. *Folia Biol (Krakow)*, *62*(1), 29-35. https://doi.org/10.3409/fb62_1.29

Özbeyaz, C., & Kocakaya, A. (2011). Süt sığırlarında genomik değerlendirme (Derleme). *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *51*(2), 93-104.

Özkaya, P. T., & Kayaardı, S. (2018). Et ve et ürünlerinin kalitesini geliştirmede kullanılan yeni teknikler. *Akademik Gıda*, *16*(3), 323-331.

Park, Y., & Pariza, M. W. (2007). Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Research International*, *40*(3), 311-323. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.11.002

Pećina, M., & Ivanković, A. (2021). Candidate genes and fatty acids in beef meat, a review. *Italian Journal of Animal Science*, *20*(1), 1716-1729.

Pinto, L. F., Ferraz, J. B., Pedrosa, V. B., Eler, J. P., Meirelles, F. V., Bonin, M. N., Rezende, F. M., Carvalho, M. E., Cucco, D. C., & Silva, R. C. (2011). Single nucleotide polymorphisms in CAPN and leptin genes associated with meat color and tenderness in Nellore cattle. *Genet Mol Res*, *10*(3), 2057-2064. https://doi.org/10.4238/vol10-3gmr1263

Rhee, K. S. (1992). Fatty acids in meats and meat products., https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9325839

Roy, R., Ordovas, L., Zaragoza, P., Romero, A., Moreno, C., Altarriba, J., & Rodellar, C. (2006). Association of polymorphisms in the bovine FASN gene with milk-fat content. *Anim Genet*, *37*(3), 215-218. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2006.01434.x

Roy, R., Zaragoza, P., Gautier, M., Eggen, A., & Rodellar, C. (2005). Radiation hybrid and genetic linkage mapping of two genes related to fat metabolism in cattle: fatty acid synthase (FASN) and glycerol-3-phosphate acyltransferase mitochondrial (GPAM). *Anim Biotechnol*, *16*(1), 1-9. https://doi.org/10.1081/abio-200044295

Rule, D., & Beitz, D. (1986). Fatty acids of adipose tissue, plasma, muscle and duodenal ingesta of steers fed extruded soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *63*(11), 1429-1436.

Savell, J. W., Mueller, S. L., & Baird, B. E. (2005). The chilling of carcasses. *Meat Sci*, *70*(3), 449-459. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.027

Schennink, A., Bovenhuis, H., Leon-Kloosterziel, K. M., van Arendonk, J. A., & Visker, M. H. (2009). Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. *Anim Genet*, *40*(6), 909-916. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01940.x

Silva, D. B., Crispim, B. A., Silva, L. E., Oliveira, J. A., Siqueira, F., Seno, L. O., & Grisolia, A. B. (2014). Genetic variations in the leptin gene associated with growth and carcass traits in Nellore cattle. *Genet Mol Res*, *13*(2), 3002-3012. https://doi.org/10.4238/2014.April.16.9

Siyah Alaca, (2022). https://www.esk.gov.tr/tr/10887/HOLSTEIN-SIGIR-IRKI-SIYAH-ALACA

Smith, S. (1994). The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J*, *8*(15), 1248-1259. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8001737

Smith, S. B., Gill, C. A., Lunt, D. K., & Brooks, M. A. (2009). Regulation of Fat and Fatty Acid Composition in Beef Cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *22*(9), 1225-1233. https://doi.org/DOI 10.5713/ajas.2009.r.10

Söbeli, C., & KAYAARDI, S. (2014). Et kalitesini belirlemede yeni teknikler. *Gıda*, *39*(4), 251-258.

Sun, Y. H., Cheng, Q., Tian, W. X., & Wu, X. D. (2008). A substitutive substrate for measurements of beta-ketoacyl reductases in two fatty acid synthase systems. *J Biochem Biophys Methods*, *70*(6), 850-856. https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2007.10.005

Şireli, H. D. (2018). Karkaslarda et kalitesinin belirlenmesinde kullanılan geleneksel yöntemler ve yeni teknikler. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *7*(3), 126-132.

Taşçı, F. (2002). Et ve İşlenmiş Et Tüketiminin Halk Sağlığına Etkileri. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, *3*(2), 231-245.

TEPGE,(2022b) https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2022-Temmuz%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/37-DANA%20T%C3%9CP%20TEMMUZ%202022.pdf

TEPGE,(2022a) https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2022-Ocak%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Rapor%C4%B1/Dana%20Eti,%20Ocak-2022%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasa%20Raporu%20--+.pdf

Tian, J., Zhao, Z., Zhang, L., Zhang, Q., Yu, Z., Li, J., & Yang, R. (2013). Association of the leptin gene E2-169T>C and E3-299T>A mutations with carcass and meat quality traits of the Chinese Simmental-cross steers. *Gene*, *518*(2), 443-448. https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.11.071

Turan, Z., Şanver, D., & Öztürk, K. (2017). Türkiye'de hayvancılık sektöründen süt inekçiliğinin önemi ve yurt içi hasılaya katkısı ve de dış ülkelerle karşılaştırılması. *Ömer Halisdemir Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, *10*(3), 60-74.

TÜİK, (2021) https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kirmizi-Et-Uretim-Istatistikleri-2020-2021-45671

Türkyılmaz, D., Oğraş, Ş. Ş., Dağdelen, Ü., Yaprak, M., & Esenbuğa, N. (2021). Morkaraman ve İvesi Erkek Kuzularında Bazı Et Kalite Özellikleri Üzerine Olgunlaştırma Süresi ve Irkın Etkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, *11*(4), 3292-3299.

Vapur, G. (2019). Türk holstein sığırların lep gemi 2. ekzon (E2JW, E2FB) ve TG geni 5'promotor bölgedeki (TG5) markörlerin et kalitesine etkilerinin araştırılması.

Wang, Y. H., Bower, N. I., Reverter, A., Tan, S. H., De Jager, N., Wang, R., McWilliam, S. M., Cafe, L. M., Greenwood, P. L., & Lehnert, S. A. (2009). Gene expression

patterns during intramuscular fat development in cattle. *J Anim Sci*, *87*(1), 119-130. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1082

Whigham, L. D., Cook, M. E., & Atkinson, R. L. (2000). Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacol Res*, *42*(6), 503-510. https://doi.org/10.1006/phrs.2000.0735

Williams, P. (2007). Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics*, *64*, S113-S119. https://doi.org/10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x

Wood, J., Enser, M., Richardson, R., & Whittington, F. (2007). Fatty acids in meat and meat products. In *Fatty acids in foods and their health implications* (pp. 101-122). CRC Press.

Xin, J., Zhang, L.-c., Li, Z.-z., Liu, X.-h., Jin, H.-g., & Yan, C.-g. (2010). Association of polymorphisms in the calpain I gene with meat quality traits in Yanbian yellow cattle of China. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *24*(1), 9-16.

Yakovleva, O. A., Loktionova, G. R. ve Liseykina, O. V. (2018). IBM SPSS Statistics 22 Kullanılarak Hayvan Araştırmaları İçin Küçük Örneklem İstatistiksel Hipotez Testi Deneyimi. *Veterinerlik Bilimi, Hayvan Bilimi ve Biyoteknoloji* , (6), 103-108.

Yardibi, H., Gürsel, F. E., Ates, A., Akıs, I., Hosturk, G. T., & Öztabak, K. (2013). BTN1A1, FABP3 and TG genes polymorphism in East Anatolian red cattle breed and South Anatolian red cattle breed. *African Journal of Biotechnology*, *12*(20).

Yeon, S. H., Lee, S. H., Choi, B. H., Lee, H. J., Jang, G. W., Lee, K. T., Kim, K. H., Lee, J. H., & Chung, H. Y. (2013). Genetic variation of FASN is associated with fatty acid composition of Hanwoo. *Meat Sci*, *94*(1), 133-138. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.002

Zhang, S., Knight, T. J., Reecy, J. M., & Beitz, D. C. (2008). DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. *Anim Genet*, *39*(1), 62-70. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2007.01681.x

ÖZGEÇMİŞ



1. Adı Soyadı: Hilal ARSLAN

2. Doğum Tarihi: 1996

3. Ünvanı: Gıda Mühendisi

4. Öğrenim Durumu: Lisans

Derece	Üniversite	Fakülte	Bölüm	Yıl
Yüksek Lisans	Trakya Üniversitesi	Fen Bilimleri Enstitüsü	Genetik ve Biyomühendislik	2023
Lisans	Trakya Üniversitesi	Mühendislik Fakültesi	Gıda Mühendisliği	2020
Önlisans	Anadolu Üniversitesi	Açıköğretim Fakültesi	İş Sağlığı ve Güvenliği	2023
Önlisans	Anadolu Üniversitesi	Açıköğretim Fakültesi	İlahiyat	2020

5. Katıldığı Projeler

24.02.2022-23.12.2022 ‘Türk Holstein Boğalarının FASN Geni Varyant Genotipleri ile Etin Yağ Asitleri Arasındaki İlişki’

Proje Türü: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) Yüksek Lisans Tezi Araştırma Projesi

Görev: Araştırmacı

Proje No: 2022/02

30.11.2022-01.12.2022 INTERREG-IPA CBC Bulgaristan-Türkiye Sınırötesi işbirliği programı kapsamında CB005.3.12.001 numaralı ‘Cross-Border Regions Colloborate for BLUE GROWTH (BLUEGROWTH COLLABs)’ isimli proje kapsamında ‘Mavi Büyüme Proje Pazarı’ etkinliğinde ‘Sol-Dray’ isimli projemiz ilk 10 içerisinde yer almıştır.

Proje Türü: Teknopark Kuluçka Projesi

Görev: Araştırmacı

Mayıs 2019 ‘Üzüm Kabuklarından Antosiyaninlerin Konvansiyonel Ekstraksiyonu Matematiksel Modelleme ve Proses Kontrolü’

Proje Türü: Gıda Mühendisliği Lisansında bitirme projesi

Ocak 2019 ‘Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (HFCS)-KOSGEB formatına uygun hazırlanmış Fizibilite-Tasarım Raporu’

Proje Türü: Gıda Mühendisliği Lisansında bitirme projesi

Mayıs 2018 Gıda Mühendisliği Lisansında bitirme projesi ‘Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (HFCS)-KOSGEB formatına uygun hazırlanmış Fizibilite Raporu’

Proje Türü: Gıda Mühendisliği Lisansında bitirme projesi

6. Bildiri ile Katıldığı Kongre, Konferans ve Sempozyumlar

18.11.2022 'Kasaplık Kuzuların Karkas Bölgelerine Göre Yağ Asitleri Kompozisyonu' başlıklı bildiri ile 100. Yılında Her Yönüyle Keşan Sempozyumu'na katılım sağladım.

31.08.2022-03.09.2022 Hilal ARSLAN*, Süleyman KÖK, Sertaç ATALAY, 'Investigation of Fatty Acid Compositions in *Musculus Longissumus Dorsi* (MLD) Muscle of Turkish Holstein Bulls', s.223, IV. Balkan Agricultural Congress, Edirne

28.08.2022- 31.08.2022 Sertaç ATALAY*, Süleyman KÖK, Hilal ARSLAN, **'**A Research on Determination of FASN Gene Polymorphisms in Turkish Holstein Bulls', s.144, IV. International Agricultural, Biological & Life Science Conference

29.08.2021-01.09.2021 Hilal ARSLAN*, Süleyman KÖK, 'Marker Genes Related to Fatty Acids Composition of Red Meats', s.210, III. Balkan Agricultural Congress, Edirne

7.Katıldığı Sempozyumlar

12.12.2022-13.12.2022 'Fen Bilimlerinde Bilimsel Makale Yazımı ve Değerlendirme Süreçleri Sempozyumu'

8. Katıldığı Paneller

23.03.2021-06.06.2021 Trakya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü ile European Association of Science Editors (EASE) işbirliğinde 'Sosyal Bilimler Alanında Bilimsel Araştırma ve Yayın Süreçleri Eğitim Panelleri Serisi'

9. Katıldığı Konferanslar ve Seminerler

22.04.2022 Trakya Üniversitesi Sağlık Kültür Spor Daire Başkanlığı bünyesinde Genetik ve Biyoteknoloji Topluluğu tarafından düzenlenen 'Kök Hücrenin Gen Mühendisliğindeki ve Hücresel Tedavideki Yeri- Laboratuvardan Kliniğe' adlı konferansa katıldım.

17.10.2018 Trakya Üniversitesi Sağlık Kültür Spor Daire Başkanlığı bünyesinde Akılcı İlaç ve Eczacılık Topluluğu tarafından düzenlenen '2. Geleneksel Akılcı İlaç Kullanımı Eğitimi' isimli seminere katıldım.

14.12.2017 Trakya Üniversitesi Sağlık Kültür Spor Daire Başkanlığı bünyesinde Türk Tıp Öğrencileri Birliği ve T.Ü. Gıda Topluluğu tarafından düzenlenen 'Gıda Güvenliği ve Halk Sağlığı' isimli seminere katıldım.

10. Aldığı Sertifikalar

ISO 45001:2018 İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi Temel Bilgilendirme Eğitim (2021)- Eğitim 8 saat sürmüştür.

ISO 14001:2015 Çevre Yönetim Bilimi Temel Bilgilendirme Eğitimi (2021)- Eğitim 8 saat sürmüştür.

ISO9001:2015 Temel Bilgilendirme Eğitimi (2020)- Eğitim 8 saat sürmüştür

11. Katıldığı Eğitimler

❖ Eğitimin Adı: Tedarik Zinciri Yönetimi

Eğitimi Veren Yer: Güneydoğu Anadolu İhracatçı Birlikleri

Eğitimi Veren Kişi: Serhat Öztürk

Eğitim Tarihi: 23.03.2021- 25.03.2021

- ❖ Eğitimin Adı: Müşteri Şikayet Yönetimi

Eğitimi Veren Yer: Güneydoğu Anadolu İhracatçı Birlikleri

Eğitimi Veren Kişi: Hüseyin Mandacı

Eğitim Tarihi: 30.03.2021

- ❖ Eğitimin Adı: İngilizce İş Yazışmaları

Eğitimi Veren Yer: Güneydoğu Anadolu İhracatçı Birlikleri

Eğitimi Veren Kişi: Necil Beykont

Eğitim Tarihi: 13.04.2021- 15.04.2021