



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONUKLAR TARIM İŞLETMESİNDE YETİŞTİRİLEN ESMER SIĞIRLARDA LEPTİN VE PİT-1 GENİ POLİMORFİZMLERİ İLE SÜT VERİMİ VE KOMPOZİSYONU ARASINDAKİ İLİŞKİLER

İbrahim AYTEKİN

DOKTORA TEZİ

Zootekni Anabilim Dalı

Ekim - 2011
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KONUKLAR TARIM İŞLETMESİNDE YETİŞTİRİLEN ESMER SIĞIRLARDA LEPTİN VE PİT-1 GENİ POLİMORFİZMLERİ İLE SÜT VERİMİ VE KOMPOZİSYONU ARASINDAKİ İLİŞKİLER

İbrahim AYTEKİN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Saim BOZTEPE

2011, 140 Sayfa

Jüri
Danışman Prof. Dr. Saim BOZTEPE
Prof. Dr. Ramazan YETİŞİR
Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU
Doç. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI
Doç. Dr. İsmail KESKİN

Bu araştırmada toplam 301 baş Esmer sığırda leptin genindeki dört (*Kpn*2I_94, *Sau3*AI_1820/422 *Hph*I_331 and *Bsa*AI_522) ve pit-1 genindeki bir (*Hinf*I_451) polimorfizmin genetik çeşitliliği incelenmiş ve genotipler ile 305 günlük süt verimi (LSV_{305}), kontrol süt verimi (KSV), yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC) ile sütün pH ve iletkenlik (u*S*/cm) gibi özellikleri arasındaki muhtemel ilişkiler değerlendirilmiştir. Allel frekansları leptin genindeki *Kpn*2I_94'de C: 0.553 ve T: 0.447, *Sau3*AI_1820'de A: 0.658, B: 0.198 ve C: 0.144, *Sau3*AI_422'de A: 0.777 ve B: 0.223, *Hph*I_331'de C: 0.849 ve T: 0.151, *Bsa*AI_522'de A: 0.342 ve G: 0.658 ile Pit-1 genindeki *Hinf*I_451'de A: 0.374 ve B:0.626 olarak bulunmuştur.

Süt bileşenleri dışında 305 günlük süt verimi ve kontrol süt verimleri ile bazı leptin geni polimorfizmleri (*Bsa*AI and *Hinf*I) arasında istatistik olarak önemli ilişkiler bulunmuştur ($P<0.05$). *Bsa*AI'da AA genotipliler ile *Hph*I'de CT genotipliler ve T allelinin LSV_{305} ve KSV bakımından diğerlerinden istatistik olarak bir üstünlüğü bulunmuştur. Bununla birlikte *Sau3*AI 1820/422 polimorfizmindeki genotipler bu özellikler ile istastistik olarak önemli bir ilişki göstermemişlerdir ($P>0.05$), fakat LSV_{305}'deki ($P=0.11$, $P=0.13$) ve KSV'deki ($P=0.12$, $P=0.08$) önem seviyelerindeki eğilimlerinden dolayı B alleli seleksiyonda tercih edilebilir.

Anahtar Kelimeler: İsviçre Esmeri, kontrol süt verimi, leptin polimorfizmleri, Pit-1 polimorfizmi, süt verimi ve bileşenleri

ABSTRACT

Ph.D THESIS

ASSOCIATIONS BETWEEN LEPTIN AND PIT-1 GENE POLYMORPHISMS WITH MILK YIELD AND MILK COMPOSITION TRAITS IN BROWN SWISS CATTLE RAISED IN KONUKLAR STATE FARM

İbrahim AYTEKİN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF ANIMAL SCIENCE IN AGRICULTURAL FACULTY

Advisor: Prof. Dr. Saim BOZTEPE

2011, 140 Pages

Jury
Advisor Prof. Dr. Saim BOZTEPE
Prof. Dr. Ramazan YETİŞİR
Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU
Assoc. Prof. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI
Assoc. Prof. Dr. İsmail KESKİN

The present study investigated the genetic variability of four polymorphisms (*Kpn*2I_422bp, *Sau3*AI_1820/422 *Hph*I_331 and *Bsa*AI_522) in leptin gene and one polymorphism (*Hinf*I_451) in pit-1 gene in a total of 301 Brown Swiss cattle, and also evaluated the possible association between genotypes of these genes and dairy traits such as 305 days milk yield (MY_{305}), test day milk yield (TDMY), fat (%), protein (%), lactose (%), density (kg/m^3), solids-non-fat (%), total solids (%), freezing point (^oC) and pH of conductivity (u*S*/cm) milk. Allel frequences are found as C: 0.553 and T: 0.447 in *Kpn*2I_422; A: 0.658, B: 0.198 and C: 144 in *Sau3*AI_1820; A: 0.777 and B: 0.223 in *Sau3*AI_422; C: 0.849 and T: 0.151 in *Hph*I_331 and A: 0.342 and G: 0.658 in *Bsa*AI_522 polymorphisms in leptin gene and A: 0.374 and B: 0.626 in *Hinf*I_451 polymorphism in Pit-1 gene.

Statistically significant relation between some leptin gene polimorphism (*Bsa*AI and *Hinf*I) and milk yields (MY_{305} and TDMY) are found except milk components. Both AA genotype for *Bsa*AI polymorphism and CT genotype and T allele for *Hph*I polymorphism were showed statistically significant superiority than others on MY_{305} and TDMY. In addition to these, the genotypes at *Sau3*AI_1820/422 polymophisms did not show a significant association with the these traits (P>0.05), but B allele may be preferable in selection due to be inclined significant levels on MY_{305} (P=0.11, P=0.13) and TDMY (P=0.12, P=0.08).

Keywords: Brown Swiss, test day milk yield, leptin polymorphisms, Pit-1 polymorphism, milk yield and components

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinden bitiş aşamasına kadarki süreçte hem laboratuar hem de saha çalışmalarındaki sıkıntılarda çözüme ulaşmada sağladığı destek ve yönlendirmelerinden dolayı danışmanım Sayın Prof. Dr. Saim BOZTEPE'ye, tez çalışmalarının gerçekleşmesinde sağladığı katkıdan dolayı Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, tezimde kullandığım kan ve süt örnekleri ile birlikte işletmenin olanaklarını hizmetimize sunan Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü ile müdürlüğe bağlı Konuklar Tarım İşletmesi olmak üzere özellikle Hayvancılık Şefi Ziraat Yüksek Mühendisi Mustafa Ömer DEMİR ve çalışanlarına, işletmeden elde edilen örneklemelerde ve süt analizlerinde gece gündüz demeden sabırlı bir şekilde desteklerini gördüğüm, çalışmayı kendi işleri gibi benimseyen Sayın Doç. Dr. Uğur ZÜLKADİR, Arş. Gör. Selçuk KAPLAN ve değerli öğrenci arkadaşlarıma ve ayrıca moleküler çalışmalar aşamasında yardımlarını gördüğüm Dr. Fulya ÖZDİL'e ve kan alımı esnasındaki yardımlarını esirgemeyen Uzman Özcan ŞAHİN'e teşekkürleri borç bilirim.

Araştırma süresince kayıt sistemlerinin ve bilimsel çalışmaların Türkiye hayvancılığı açısından gerekliliği ve onların kullanılabilirliği her ne kadar vurgulanmaya çalışılmış olsa da, böyle bir araştırmanın devam ettiği bir süreçte Türkiye et üretimini artırma düşüncesi ile işletmedeki hayvanların başka bir işletmeye taşınmış olmaları üzüntü vermiştir. Ayrıca mevcut çevre şartlarına yıllardır adaptasyonlarını sağlayan Esmer sığırların yerine getirilmesi düşünülen diğer ırk veya ırkların özellikle yetiştiricilere daha faydalı olmasını umarım.

Akademik hayatımın başlamasından itibaren bana sabır ve ümit verici bir tutumla her zaman desteklerini esirgemeyen babam, annem, eşim ve kızım Gül Nihal'e bu çalışmayı atfeder, Türkiye hayvancılığına katkı sağlalayacağı düşüncesi ile saygılar sunarım.

İbrahim AYTEKİN
KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **12**

2.1. Leptin Geni Ekzon 2 (*Kpn*2I/94), İntron 2 (*Sau3*AI_1820/422 ile BsaAI_522) ve Ekzon 3 (*Hph*I_331)'deki polimorfizmler 12
2.2. Pit-1 Geni Polimorfizmleri 51

3. MATERYAL VE YÖNTEM **62**

3.1. Materyal 62
3.1.1. İşletme 62
3.1.2. Hayvan materyali 62
3.1.3. İşletmeden elde edilen veriler 63
3.1.3.1. Hayvanların bireysel kayıt bilgileri 63
3.1.3.2. Kan örnekleri 63
3.1.3.3. Süt örnekleri 63
3.1.4. Yemleme 65
3.2. Yöntem 67
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu 67
3.2.2. Genomik DNA miktarının ve kalitesinin hesaplanması 69
3.2.3. Primerlerin seçimi 70
3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) 71
3.2.5. PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi ve agaroz jel elektroforez uygulamaları 73
3.2.6. Kesim ürünlerinin jel kuyularına yüklenmesi 75
3.2.7. Kesim ürünlerinin jelde yürütülmesi ve bant profillerinin elde edilmesi 76
3.2.8. Bant profillerinin değerlendirilmesi, genetik ve istatistik analizler 77
3.2.8.1. Bant profillerinin değerlendirilmesi 77
3.2.8.1. Genetik analizler 78
3.2.8.1. Süt verimi ve kompozisyonunun istatistik analizleri 78

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **86**

4.1. Moleküler Genetik Çalışmaları 86
4.1.1. Genomik DNA örneklerinin spektrofotometre sonuçları 86
4.1.2. Leptin ve Pit-1 genlerindeki restriksiyon enzimlerinin kesim bölgelerine göre allel ve genotip frekansları ile χ^2 testi sonuçları 87

4.1.2.1. Leptin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi 87
4.1.2.2. Leptin intron 2 bölgesi *Sau3A*I (1820 bç ve 422 bç) polimorfizmleri..... 90
4.1.2.3. Leptin ekzon 3 bölgesi *Hph*I (331 bç) polimorfizmi 95
4.1.2.4. Leptin intron 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi 98
4.1.2.5. Pit-1 intron 5- ekzon 6 bölgesi *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi..... 100
4.2. Süt Verimi ve Bileşenleri ile Gen Bölgelerindeki Polimorfizmler Arasındaki İlişkiler 104
4.2.1. Leptin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi..... 104
4.2.2. Leptin intron 2 bölgesi *Sau3*AI (1820/422 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi 108
4.2.3. Leptin ekzon 3 bölgesi *Hph*I (331 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi 114
4.2.4. Leptin ekzon 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi 116
4.2.5. Pit-1 intron 5- Ekzon 6 bölgesi *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi 119

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 124

KAYNAKLAR 126

ÖZGEÇMİŞ 138

SİMGELER VE KISALTMALAR

TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı
MAS	Marköre dayalı seleksiyon
QTL	Kantitatif karakter lokusu
RFLP	Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
SNP	Tek nükleotit değişimi
SSR	Basit Tekrar Dizileri
AFLP	Çoğaltılmış Fragman Uzunluk Polimorfizmi
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
UV	Ultraviyole
kDa	Kilo dalton
cM	Santi morgan
µl	Mikro litre
ml	Mili litre
^{o}C	Santigrat derece
M	Molar
mM	Mili molar
g	Gram
kg	Kilogram
nm	Nanometre
OD	Optik Densite
$dNTP_s$	Deoksiribonükleozid trifosfat
A	Adenin nükleotid
T	Timin nükleotid
G	Guanin nükleotid
C	Sitozin nükleotid
bç	Baz çifti
kb	Kilo baz
dk	Dakika
sn	Saniye
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
TE	Tris-EDTA
EDTA	Ethylendinitrilotetraaceticacid
TBE	Tris-Borate-EDTA
U	Ünite (1 µg λ DNA kesimi için gerekli enzim miktarı)
µ*S*	Mikro siemens
m^3	Metre küp
cm	Santi metre
χ^2	Kikare Testi
RNA	Ribonükleoik asit
mRNA	Haberci RNA
TD	Tablo değeri

1. GİRİŞ

Hayvansal üretim faaliyetlerinden biri olan süt sığırcılığı insanoğlu için tüketilmesi mümkün olmayan yem kaynaklarını kullanarak çok kıymetli olan süt ve et gibi hayvansal ürünleri sağlamasının yanı sıra ülke ekonomisine istihdam, bitkisel üretime gübre ve deri sanayisine hammadde sağlaması yönünden en önemli tarımsal faaliyetlerden birisidir.

Gelişmişliğin önemli göstergelerinden birisi hayvansal ürünlerin üretim ve tüketim miktarlarıdır. Dengeli bir beslenme karbonhidrat, protein, yağ, vitamin ve minerallerin vücut için gerekli miktarlarda alınması ile sağlanabilir. İnsanoğlunun beslenmesinde önemli bir yer tutan hayvansal ürünler hem büyüme ve gelişmede hem de zihinsel gelişim için önemli bir yere sahiptir. Dünya genelinde enerjice yetersiz beslenmenin yanında yeterli hayvansal proteinin tüketilmemesi dengesiz beslenmeye yol açmaktadır. Dengesiz beslenmeden de önemlisi dünya genelinde açlıkla karşı karşıya kalan ülkelerin sayısının da oldukça fazla olmasıdır. Ortalama olarak günde kişi başına hayvansal protein tüketimi dünya genelinde 27 g olduğu halde, günde kişi başına tüketim, gelişmiş ülkelerde 44 g, gelişmemiş ülkelerde 9 g ve Türkiye'de 20 g olarak bildirilmektedir. Dengeli beslenmede bir insanın, günde her kg vücut ağırlığı için 1 gram protein tüketmesi gerekir. Protein gereksiniminin en azından üçte biri, hayvansal ürünlerden sağlanmalıdır. Bunun için; süt, yumurta, beyaz et ve kırmızı etin günlük olarak düzenli şekilde tüketilmesi önemlidir. Hayvansal gıdalardaki protein miktarı; ette % 15-20, balıkta % 19-24, yumurtada % 12, sütte % 3-4, peynirde % 15-25'dir (Anonim, 2010). Çizelge 1.1 incelendiğinde yılda kişi başına tüketilen hayvansal ürünlerden sağlanan protein tüketiminin balık tüketimi dahil edilse bile (6.93 kg/kişi/yıl) yetersiz olduğu ve kırmızı ve beyaz et ile yumurta tüketiminin Dünya ve AB ülkelerinden düşük olduğu görülebilir. Türkiye'de kişi başına tüketilen içme sütü (≈24.5 kg) AB ülkelerinin (≈75 kg) neredeyse üçte biri dolayındadır.

Çizelge 1.1. Tüketilen hayvansal ürünler (kg/kişi/yıl)

FAO-2005	Süt*	Kırmızı Et (kg)		Kanatlı Eti (kg)	Yumurta (kg)	Bal (kg)
		Sığır, Manda, Koyun, Keçi ve Deve eti	Domuz eti			
Dünya	82.14	12.14	15.22	12.49	8.31	0.22
AB (15)	249.03	25.14	41.90	20.88	11.93	0.72
Türkiye	125.06	8.77	-	12.43	9.08	1.1

*Süt ve sütten yapılan ürünler için tüketilen yağsız süt miktarının tümüdür.

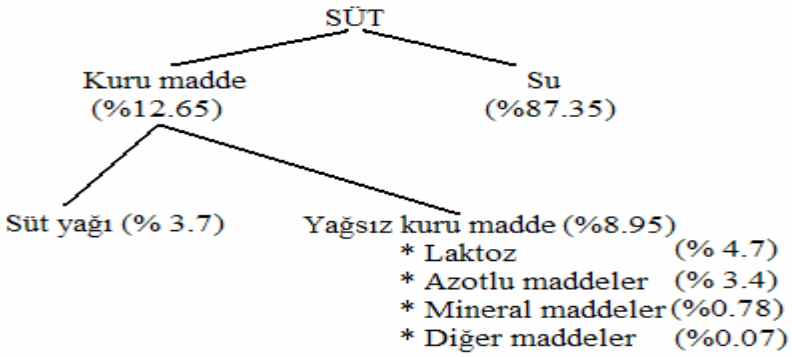
Tüketilen hayvansal ürünlerin düşük olmasının yanında, Türkiye'de yıllar itibariyle sağılan hayvan sayılarının da düşmesine rağmen hem toplam süt üretiminde hem de hayvan başına verim ortalamalarında yıldan yıla yükselme meydana gelmiştir. 2010 yılı TUİK verilerine göre toplam süt üretiminde (13 605 600 ton) sığırların payı % 92 dolayında olup, sığırlardan elde edilen sütün (12 480 107 ton) % 51'i kültür, % 39'u melez ve % 10'u ise yerli ırklardan elde edilmektedir. Hayvan başına süt verim ortalamaları ise sırasıyla 3878 kg, 2719 kg ve 1316 kg'dır. Sağılan sığır varlığı içerisinde (4 384 130 baş) genotiplerin payları dikkate alındığında yaklaşık olarak % 37'si kültür, % 41'i melez ve % 22'si ise yerli ırklardan meydana gelmektedir.

Birim hayvan başına süt verimleri ABD'de 9331 kg/laktasyon ve AB ülkelerinde 6117 kg/laktasyon'dur (FAO, 2011). Hayvancılığı gelişmiş ülkelerde üretilen sütün tamamına yakın kısmı sığırlardan elde edilmektedir (Şekerden ve Özkütük, 1990). Bu açıdan Türkiye süt sığırcılığı bakımından istenilen oranı yakalamış olsa da birim hayvan başına süt üretimleri bakımından bir değerlendirme yapılacak olursa gelişmiş ülkelerden (>6000 kg/laktasyon) düşük seviyelerde olduğu aşikardır. Bunun sebebi ise populasyonların mevcut genotipik yapıları ile bakım ve besleme şartlarının yetersizliğidir. Süt sığırlarının genotipik kabiliyetlerini ortaya koyabilmeleri, ancak genotipe uygun çevre şartlarının sağlanması ile mümkündür. Bu durum söz konusu işletmelerde hem genotipik yapının hem de çevre şartlarının ıslahının zorunlu olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte süt sığırcılığı işletmelerinde yapılması gerekenler tek başına süt verim ortalamalarını ırk ortalamalarına yaklaştırmak değil, bunun yanında ilkine doğurma yaşı, buzağılama aralığı, servis periyodu, gebelik başına tohumlama sayısı ve yaşama gücü gibi çok önemli üreme özelliklerinin de optimum seviyelerde tutulması son derece önemlidir.

Memelilerin doğumdan kuruya çıkana kadar süt verdiği dönem olan laktasyon, yetiştiricilerin mümkün olduğunca en az giderle en fazla kar elde etmeyi amaçladıkları bir süreçtir. Laktasyon, hücresel uyarılar ve endokrin sistem sayesinde anadan yavrulara önemli bir enerji transferini sağlayan (Block ve ark., 2001) fizyolojik bir olay olmakla birlikte, memelilerin yeni generasyonlar oluşturmasındaki rolünün yanında insanların ihtiyaç duyduğu besin maddelerini sağlaması açısından hayati bir dönem olarak hayvansal üretimde insanoğlunun uğraş alanlarının başında gelmektedir. Başlangıçta nicelik olarak düşünülen süt verimi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde zamanla bileşimi bakımından da değerlendirilmeye alınmış ve bazı ülkelerde ödemeler bileşime

yönelik yapılmaya başlanmıştır. ABD, Kanada ve Avrupa Birliği gibi süt sığırcılığı öne çıkan ülkeler dikkate alındığında, sütün kalite fiyatının belirlenmesinde süt veriminin yanında sütün bileşimindeki yağ, protein, toplam ve yağsız kuru madde ile sütteki somatik hücre ve toplam bakteri sayıları da dikkate alınmaktadır (EEC, 1992; Anonymous, 2011a, Anonim, 2011d). Dolayısıyla ekonomik bir üretim için sadece yüksek süt verimi değil aynı zamanda süt bileşenleri de yetiştirilecek ırk seçiminde önem kazanmaktadır. Bu amaçla dünyada süt verimi ve bileşenleri bakımından Siyah Alaca, Guernsey, İsviçre Esmeri, Jersey ve Ayrshire gibi sığır ırkları ön plana çıkmaktadır (Hasheider, 2007).

Çok kıymetli hayvansal ürünlerden birisi olan süt, besin maddeleri bileşimi itibariyle dişi memeli hayvanların yeni doğurdukları yavrularının belirli bir dönem ek besin maddesi almadan büyüme ve gelişmesini sürdürebilmesi için karbonhidrat, protein, yağ, vitamin ve hemen hemen demir dışında bütün mineralleri gerekli oranlarda bulunduran porselen beyazı renginde, kendine has tat ve kokusu olan hayati bir sıvıdır. Süt özellikle su ve kuru madde olmak üzere 2 temel bileşimden meydana gelmekle birlikte kuru maddesi süt yağı ve yağsız kuru madde olmak üzere 2 alt unsurdan teşekkül etmektedir. Yağsız kuru madde ise laktoz, azotlu maddeler, mineral ve diğer maddeler olmak üzere çeşitli kısımlardan oluşmaktadır. Şekil 1.1'de inek sütünün temel bileşenleri gösterilmiştir (Demirci ve ark., 1992; Tekinşen, 1996; Fox ve ark., 1998; Şekerden, 2001; Özhan ve ark., 2004; Metin, 2005; Anonim, 2011b).



Şekil 1.1. İnek sütünün temel bileşenleri

Süt teknolojisi için önem taşıyan çiftlik hayvanlarına ait süt bileşenlerinin değerleri literatürde çeşitli varyasyonlar göstermekle birlikte süt bileşenlerinin bazılarının ortalama değerleri Çizelge 1.2'de verilmiştir (Demirci ve ark., 1992;

Tekinşen, 1996; Fox ve ark., 1998; Şekerden, 2001; Özhan ve ark., 2004; Metin, 2005; Anonim, 2011b).

Çizelge 1.2. Bazı çiftlik hayvanları ile insan sütü bileşenlerinin ortalama değerleri (%)

Tür	Kuru Madde (%)	Yağ (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	Kül (%)
İnek	12.65	3.7	3.4	4.7	0.78
Manda	17.52	7.7	4.2	4.7	0.77
Koyun	18.44	7.0	5.1	4.9	0.94
Keçi	13.42	4.7	3.6	4.2	0.76
İnsan	12.23	3.7	1.4	6.7	0.25

Çiftlik hayvanlarına ait süt bileşenleri incelenecek olursa (Çizelge 1.2) türler arasında varyasyon olduğu görülmektedir. Süt verimi ve bileşimini başta tür olmak üzere ırk, yaş, mevsim, laktasyon sayısı ve dönemi, kuruda kalma süresi, sağım (sağım zamanı, sayısı ve şekli), kızgınlık, hastalık ve ilaçlar gibi faktörler etkilemektedir. Gelişmiş ülkelerde süt üretim miktarı bakımından inek sütü ön plana çıktığından dolayı süt teknolojisi başta inek sütü olmak üzere diğer çiftlik hayvanlarının sütlerini kullanmakta, hem süt hem de süt ürünlerine yönelik ürünleri tüketicilere sunmaktadır. Bazı yetiştiriciler veya ürün satıcıları inek sütüne kıyasla diğer çiftlik hayvanlarından elde edilen süt ve süt ürünlerinin daha yüksek fiyattan satılmasından dolayı bazen hile (süt karıştırma) yoluna başvurabilmektedirler. Türlere özgü olan süt ve süt ürünleri bileşenlerinin bilinmesi bu amaçla çok önemli olmakla birlikte materyalin orjininin tespitinde elektroforetik, immünolojik ve kromatografik teknikler kullanılmaktadır (Yetişmeyen, 1999; Abdel-Rahman ve Ahmed, 2007; Lopez-Calleja ve ark., 2007; Tunçtürk ve ark., 2008; Darwish ve ark., 2009). Bu teknikler yanında moleküler marker sistemlerinin yardımıyla daha hassas olarak süt (Abdel-Rahman ve Ahmed, 2007; Darwish ve ark., 2009) ve ürünlerinde (Maskova ve Paulickova, 2006; Lopez-Calleja ve ark., 2007) orjin tespiti de yapılabilmektedir. Haksız rekabetin önlenmesi, tüketicilerin ürünleri hem beslenme tercihleri hem de dini inanç gibi isteklerine göre alabilmeleri için bu durum son derece önemlidir. Bununla birlikte inek sütü bazı çocuklarda alerjik reaksiyonlara neden olduğundan (Rance ve ark., 2005) bazı gıdaların karışımında olması istenmemektedir. Ayrıca süt ürünleri kullanılarak yapılan çikolota gibi gıda ürünlerinde sütün mevcudiyeti (Herman, 2001) ve orjininin bilinmesi tüketicilerin temel haklarındandır. İnsanoğlunun gelecek yıllarda sütün bileşimini oluşturan yapılar hakkında daha çok bilgi sahibi olması değişik çiftlik hayvan sütlerinden bazılarının

belki tek bir ambalaj üzerinde tüketicilere sunulmasını da gerektirebilir. Moleküler marker sistemlerinin bu alanda hassas ve çabuk sonuç vermesi hem günümüzde hem de gelecekte bu sistemlerin ürün kontrolünde kullanımını artıracaktır. Süt sığırlarının beslemesinde kullanılan yem kaynaklarının sütte tespitine yönelik Ponzoni ve ark.'nın (2009) yaptıkları bir çalışmada hem çiftliklerden alınan çiğ sütte hem de marketlerde satılan sütlerde yem kaynaklarının tespitinin marker sistemleri ile başarılı bir şekilde belirlenebildiği ortaya çıkmıştır.

İnek sütünün bileşimi ile ilgili değişim sınırları Çizelge 1.3'de verilmiştir (Oysun, 1991; Metin, 2005; Anonim, 2011b).

Çizelge 1.3. İnek sütü bileşiminin değişim sınırları

Bileşenler	Değişim sınırları	Ortalama Değer (%)
Su (%)	85.5 - 89.5	87,5
Kuru madde (%)	10.5 – 14.5	12.5
Yağ (%)	2.5 - 6.0	4
Protein (%)	2.9 – 5.0	3.4
Laktoz (%)	3.6 – 5.5	4.8
Kül (%)	0.6 – 0.9	0.8
Yoğunluk (kg/m^3)	1028 -1039	1032
Donma Noktası (^oC)	-0.530 - -0.570	-0,545
pH	6.5 - 6.6	6.55
İletkenlik (μ*S*/cm)	4-5.5 *	

*Ölçüm cihazlarına göre farklı değerler almaktadır.

Süt üretimi denilince ilk olarak akla gelmesi gereken hayvancılık faaliyeti sığır yetiştiriciliğidir. Türkiye'de sığır varlığı yıllar itibariyle önemli değişimler göstermekle birlikte 1990'lı yıllardaki seviyeye halen ulaşılamamıştır. Ancak zaman zaman sayısal olarak bir azalma söz konusu olmasına rağmen 2003 yılından günümüze kadar sığır varlığının arttığı görülebilir. Bununla birlikte populasyonu oluşturan kültür ırklarının sayısal varlığı 1990'lı yıllardan itibaren artan bir eğilim içerisinde olmakla birlikte yerli sığır varlığı gün geçtikçe azalma eğilimini sürdürmektedir (Anonim, 2011a). Türkiye'de süt sığırcılığında Cumhuriyetin ilk yıllarından itibaren kullanılagelen başlıca sığır ırklarından biri olan Esmer sığırlar, İsviçre'nin dağlık bölgelerinden orjin alan süt sığır ırklarının en eskisi olarak düşünülen kombine verimli bir sığır ırkıdır. Dayanıklı ve kuvvetli bir ırk olan Esmer sığırlar geniş bir vücut yapısına sahiptir. Renkleri çok açık kahverengiden koyu siyah kahverengiye kadar değişebilir. Sırtında ester çizgisi vardır. Mizaç olarak oldukça uysal olup, hem entansif hem de ekstansif yetiştirilebilmekle

birlikte farklı çevre şartlarına adaptasyon kabiliyetleri oldukça iyidir. Ergin canlı ağırlıkları 600-750 kg olup, süt verimleri yaklaşık 7500 kg, % 4 yağlı ve % 3.6 proteinlidir. Buzağılarının gelişme hızları yüksek olduğundan yetiştiriciliği yapılan bölgelerde iyi bir besi materyali olarak kullanılmaktadır. Esmer sığırlar özellikleri itibariyle tercih edilen bir ırk olduğundan zaman içerisinde değişik ülkelere götürülmüş sürekli ve sıkı bir seleksiyona tabi tutularak daha yüksek süt verimine ve canlı ağırlığa sahip alt tipleri oluşturulmuştur (Hasheider, 2007; Şekerden ve Özkütük, 1990). Şekil 1.2'de Esmer sığırlara ait bir resim verilmiştir.



Şekil 1.2. Esmer sığır sürüsünden bir görüntü

1925'li yıllardan günümüze kadar Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğünün aracılığıyla hem melezlemelerde kullanmak hem de saf olarak yetiştirilmek üzere Esmer sığırlar ithal edilmiş ve Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen kültür ırkları arasında yerini almıştır. Türkiye'de mevcut varlığı 1 099 926 baş saf ve 2 298 119 baş melez olmak üzere toplam 3 398 045 baş olup, Konya ilinde 83 314 baş saf ve 38 720 baş melez olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır. Saf olarak en çok yetiştiriciliği yapılan iller ise Afyon, Aydın, Çorum, Kayseri, Konya, Sivas, Tokat ve Yozgat illeridir (Anonim, 2011c).

Populasyonda üzerinde durulan herhangi bir özelliğin ıslahı öncelikle onun ekonomikliliğine bağlıdır. Bu nedenle günümüze kadar yetiştiriciler öncelikle inek başına süt veriminin yüksek olmasına yoğunlaşmışlardır. Ancak süt bileşenlerini de göz ardı etmemek gerekmektedir. Genetik seleksiyon süt veriminin yanında süt yağı, proteinini ve yağsız kuru maddesini artırmak yönünde olmalıdır. Süt veriminin kalıtım derecesi orta dereceli olup 0.25 dolaylarında, süt bileşenlerinin ise oldukça yüksek olup 0.50 dolayındadır. Ancak süt verimi ile bileşen yüzdeleri arasında negatif korelasyon

eğiliminin olması seleksiyonu sınırlamaktadır. Bununla birlikte rasyon muhtevasındaki değişiklikler ile majör süt bileşenlerinden yağ yüzdesi % 3 ünite, proteinin ise % 0.6 ünite kadar artırılabilmektedir (Düzgüneş ve ark., 1996; Looper ve ark., 2001; Rajcevic ve ark., 2003). Slots ve ark. (2009), her biri farklı rasyonlarla beslenen geleneksel (Siyah Alaca), organik (Siyah Alaca) ve geniş ölçüde yapılan (Siyah Alaca ve Jersey karışımı) süt üretim sistemlerindeki süt sığırlarının yağ yüzdelerinin sırasıyla 4.12, 4.05 ve 4.57 olduğunu bildirmişlerdir. Ancak her ne kadar besleme ile süt bileşenleri ve özellikle yağ ve protein yüzdeleri arzu edilebilir seviyeye getirilebilse de bu yaklaşım hem hayvanların genetik etkisini görmezlikten gelmekte hem de kalıcı bir etki yapmamaktadır (Soyeurt ve ark., 2006). Kısaca yapılacak bir seleksiyonda süt verimini artırmanın yanında süt bileşenlerinin de arzu edilen seviyelerde tutulmasına yönelik bir seleksiyon programının planlanması önemlidir. Ancak seleksiyonda üzerinde durulacak özellikler ve bunların seleksiyondaki ekonomik ağırlıkları ülkelerin süt piyasalarına, üretim sistemlerine, yem temini ve maliyetine, verilerin varlığı ve kullanılabilirliği ile sanayisine bağlı olmaktadır (Shook, 2006).

Hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik öneme sahip özellikler kantitatif karakterlerdir. Bu karakterlerin ıslahına öncelikle üzerinde durulan özelliğe ait varyasyonun tespitiyle başlanılmaktadır. Diğer bir ifadeyle sürüdeki fenotipik farklılıkta genotipik farklılığın payı fenotipten yararlanılarak tahmin edilir. Üzerinde durulan özelliğe etkili olabilecek çevre faktörleri tespit edilerek bunların etki miktarlarının belirlenmesi ve toplam varyasyonda bunların paylarının tespitine çalışılır. Buna karşın moleküler genetikte, bilinen allel veya DNA dizileri ile başlanmakta ve daha sonra bunların fenotipe etkileri değerlendirilmektedir. Ökaryotik genomlar yüksek bir oranda DNA dizi varyasyonları (polimorfizm) göstermektedir (Beuzen ve ark., 2000).

Genetik materyalde meydana gelen varyasyonların temel kaynağı mutasyon olup, DNA'daki yer değiştirmeler, ters dönmeler, parça eksilmeleri ve yerleşmeleri gibi nedenler ile meydana gelen polimorfizm aynı çevre şartlarında bulundurulan bireylerde fenotipik varyasyonun kaynağını oluşturmaktadır. Mutasyona ilave olarak şans, seleksiyon ve göç gibi nedenler de populasyonun sahip olduğu allel ve genotip frekanslarını değiştirerek populasyonu genetik dengeden uzaklaştırabilir. Populasyonlarda veya bireylerde bu varyasyonları tespit amacıyla son yıllarda DNA düzeyinde moleküler genetik ve moleküler biyoloji çalışmalarına ağırlık verilmiştir. Moleküler çalışmalarda cinsiyet farkı gözetmeksizin yaşamın erken dönemlerinde ekonomik değere sahip olan özelliklerin DNA analizlerinin gerçekleştirilebilir olması

bu sistemlerin dolaylı seleksiyon kriteri olarak kullanımlarını sağlamaktadır. Marköre dayalı seleksiyonun dolaylı seleksiyon kriteri olarak kullanılmasının diğer bir temel dayanağı seleksiyonu düşünülen özellikle markör sistemleri ile elde edilen varyantlar arasında yüksek bir genetik bağlantının (linkage) varlığıdır. Çiftlik hayvanlarında populasyonların genetik yapısının DNA düzeyinde belirlenmesi ve ıslah çalışmalarında marköre dayalı seleksiyon (MAS) çalışmaları için moleküler teknikler kullanılmaktadır. Beuzen ve ark. (2000), MAS'ta kullanılması düşünülen markörlerin başarısının populasyonda seleksiyona konu olan özellik ile genin bağlılık derecesi (linkage) ile arzu edilen allellerin frekanslarına bağlı olmakla birlikte söz konusu özelliğin kalıtım derecesi, hayvanlar arasındaki varyasyonun seviyesi, araştırmadaki hayvan sayısı ile istatistik değerlendirmede kullanılacak fenotipik kayıtların doğru ve uygun verilerden oluşması gerektiğini ifade etmişlerdir. Bishop ve ark. (1995), ileri üreme teknolojileriyle birlikte MAS teknolojisinin kullanılması ile sığırlarda generasyon aralığını 69 aydan 45 aya kadar kısalttığını, bunun yanında seleksiyon yoğunluğunu artırması ve genetik ilerlemenin daha hızlı olmasına yol açacağını ifade etmişlerdir. Meuwissen ve Goddard (1996), farklı özelliklerin seleksiyonunda MAS'ın kullanılmasındaki genetik kazancı belirlemek amacıyla yaptıkları simülasyon çalışmasında kantitatif karakter lokusunun (QTL) seleksiyondan önce populasyondaki genetik varyasyonun % 33`lük payına sahip olması durumunda, beş generasyon sonra seleksiyona karşı genetik kazancın % 64`e kadar bir artış göstermesinin muhtemel olacağını öne sürmektedirler. Bazı DNA polimorfizmleri hem translasyon hem de transkripsiyon aşamalarında gen ekspresyonunu etkileyebilir. Genlerin ekzon bölgelerindeki bazı varyasyonlar amino asit değişikliklerine sebep olarak proteinlerin ekspresyonunu değiştirebilir. Fakat intron bölgelerindeki bu gibi varyasyonlar proteinlerin amino asit sekanslarında değişikliğe sebep olmamakla birlikte transkripsiyon sürecinde splicing ve düzenleyici proteinlerin bağlanmalarında önemli bir role sahip olabilirler (Choudhary ve ark., 2005). Fakat tek nükleotit polimorfizminin etkisi genetik ve çevrenin interaksiyonu sonucu baskılanarak fenotipik değerlerde gözükmeyebilir. Bu tür interaksiyonların söz konusu genin etkisini maskeleyebilmesi genler arasındaki genotipik dengesizlikten veya çevrenin güçlü bir etkisinden kaynaklanabilir (Franco ve ark., 2005).

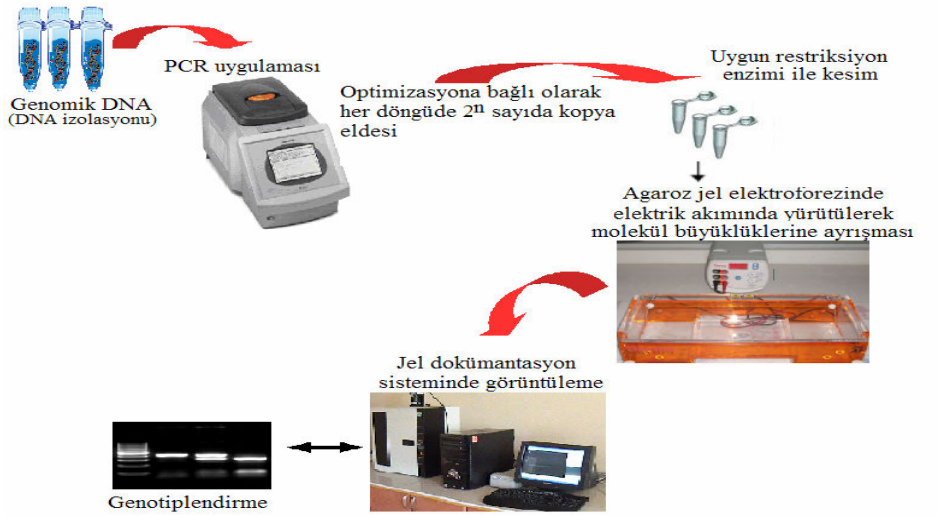
Özellikle hayvancılıkta ekonomik öneme sahip, ölçülmesi pahalı ve güç olan kantitatif karakterlerde hayvanların fenotipine bakarak en iyi allelleri taşıyan genotiplerin belirlenmesi oldukça güçtür. Diğer bir ifadeyle hayvanların fenotipik değerleri her zaman genotipik değerlerini yansıtmamaktadır. Bu gibi durumlarda ilgili

allelleri taşıyan bireyleri DNA markörleri ile belirlemek için son yıllarda özellikle süt verimi, et verimi, hastalıklara direnç, konformasyon özellikleri, döl verimi vb. gibi kantitatif karakterler üzerinde oldukça yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Oprzadek ve ark., 2003; Schnabel ve ark., 2005; Chebel ve ark., 2008). Kantitatif karakterleri etkileyen lokusların kromozom üzerinde yerlerinin tam olarak belirlenmesi, markör ve QTL (Kantitatif karakter lokusu; Quantitative trait locus) arasındaki rekombinasyon olasılığının yol açtığı belirsizliği önlemek amacıyla yapılmaktadır. Daha sonra seleksiyonun nasıl olacağına karar vermek gerekir. Sade olması için ifade edilen bu fikir, markör ve QTL arasındaki rekombinasyon olmaksızın MAS'ın özel bir durumu olarak ele alınmakta ve genom haritaları ile çoklu mikrosatellitler MAS'ta kullanılmaktadır (Montaldo ve Meza-Herrera, 1998). Kantitatif karakterlerle ilgili QTL analizinde sığır, koyun ve domuzda ticari ve deneysel amaçlı olarak kantitatif karakterleri determine eden genetik yapıların tespiti yapılmaktadır. Süt sığırlarında süt verimi ve süt bileşenleri, et sığırlarında doğum ağırlığı, boynuz büyümesi, doğum öncesi gelişme ile koyunlarda döl verimi ve kas hipertrofisi ile ilişkisi olan markörler tespit edilmiştir (Davis ve DeNise, 1998).

Son zamanlarda moleküler genetik teknikler ve istatistik metotlarındaki gelişmelere paralel olarak populasyonların gen ve genotiplerinin DNA seviyelerinde çalışılmaları mümkün hale gelmektedir. Günümüze kadar yoğun olarak DNA Parmakizi analizinde kullanılan ve DNA'yı temel alan en önemli moleküler markörler Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Mikrosatelitler (Basit Tekrar Dizileri - SSR), Çoğaltılmış Fragman Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) ve Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) metotlarıdır. DNA seviyesinde moleküler genetik metotları kullanılarak genotiplere özgü spesifik özellikler ve ekonomik verimler üzerine etkili kantitatif özellik lokuslarının (QTL) incelenmesi söz konusu olabilmektedir.

RFLP tekniği Southern blotting ve PCR tabanlı olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak uygulanabilmektedir. RFLP analizi, dokulardan izole edilen genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan restriksiyon enzimlerince (*Eco*RI, *HindIII*, *Cla*I gibi) kesilmesi ile sonda olarak kullanılan DNA'nın melezlediği (hibridizasyon) DNA etrafındaki farklı kesim yerlerinin tespit edilmesi esasına dayanır. Genomik DNA'nın restriksiyon enzimlerince kesimi sonucunda oluşan DNA fragmentlerinin jel elektroforezinde molekül büyüklüklerine göre ayrışması sağlanır. Daha sonra DNA jel ortamından daha kullanışlı olan naylon filtrelere/membranlara tek iplikçik halinde Southern transfer metoduyla transfer edilir. Filtreler bundan sonra çoğunlukla

radyoaktif ^{32}P ile işaretlenmiş bir DNA sondası ile hibridize edilmekte ve görüntülenmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). RFLP çalışmalarında Southern blotting yöntemi ile örneklerin analizinin uygulanmasının oldukça zor, karmaşık, zaman alıcı, pahalı ve işgücü gerektirmesi sebebiyle bu yöntem zamanla yerini PCR tabanlı RFLP tekniğine bırakmıştır. PCR tabanlı RFLP yönteminde genel olarak, özgün primer çiftleri ile hedeflenen DNA bölgeleri çoğaltılmakta, bu DNA bölgeleri arzu edilen restriksiyon enzimleri ile nükleotid tanıma sıralarından kesilerek DNA parçacıkları elde edilmekte ve bu DNA parçacıkları uygun konsantrasyondaki agaroz yada poliakrilamid jellerinde moleküler büyüklüklerine göre ayrılmakta ve UV altında görüntülenmektedir. Böylece genetik farklılığa sebep olan her bir bireye özgü RFLP bant profilleri elde edilmektedir. RFLP metodunun farklı laboratuvar şartlarına göre otomasyona uygun olması, çeşitli çalışmalara transferlerinin yapılabilmesi ve kodominant özellikte olması avantajları arasındadır. Şekil ’de RFLP analiz tekniğinin aşamaları gösterilmiştir.



Şekil 1.3. RFLP analiz tekniği aşamaları

Süt verimi ve özellikleri çok sayıda gen tarafından determine edilen ve çevre faktörlerinden büyük ölçüde etkilenen kantitatif özelliklerdir. Bu özellikleri determine eden genlerin sekanslarında meydana gelebilecek mutasyonlar hayvanların performansını değiştirebileceği gibi damızlık değerlerini de değiştirebilecektir (Madeja ve ark., 2004). Süt ve süt ürünlerinin insan beslenmesindeki öneminden dolayı süt verimi ve bileşimi ile bunlarla ilişkisi olabilecek özellikler üzerine halen araştırmalar devam etmektedir. Dolayısıyla zamanla verim artışını sağlayacak uygulamalara hayvancılıkta yer verilmesi kar artışını da yanında getirecektir. Süt verimini artırmaya yönelik yapılan ıslah çalışmaları da fenotipe dayalı olarak seleksiyonla yapılmaktadır.

Hayvan yetiştiriciliğinde mevcut yapının iyileştirilmesi veya en azından muhafazası damızlık seçimine bağlı olduğundan en üstün hayvanların seçilmesi ve bunların sürüdeki nispi miktarlarının artırılması gerekmektedir. Uygulamanın özellikle kayıt sistemlerinin tam olarak gelişmeyen işletmeler veya ülkeler göz önüne alındığında, fenotiplerine göre yapılacak değerlendirmenin başarısız olacağı açıktır. Bununla birlikte boğaların da döl verim kontrolüne tabi tutulmaları hem zaman kaybını ortaya çıkarmakta hem de maliyeti yükseltmektedir. Mackinnon ve Georges (1998) döl kontrolünde kullanılacak boğa adaylarının ön seçiminde bu tekniklerden (MAS) faydalanılmasının ıslah açısından yararlı olabileceğini ifade etmişlerdir. Günümüzde seleksiyonda PCR tekniğine dayalı uygulamalara yer verilmesi göz ardı edilemeyecek kadar fayda sağlamaktadır (Javanmard ve ark., 2004).

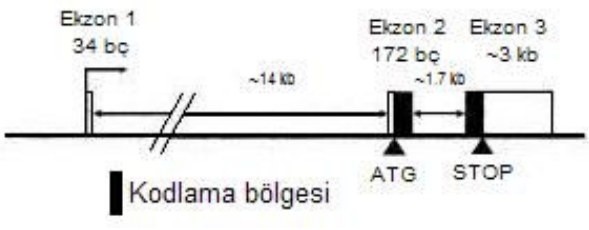
Son zamanlarda gerek süt sığırcılığı gerekse et sığırcılığında popülaritesi artan ve yurt dışında çeşitli hayvancılık şirketleri tarafından ticari olarak DNA seviyesinde tespit edilmeye çalışılan bir çok gen ve bu genlerdeki mutasyonlar sonucu meydana gelen yeni genotipler yetiştiricilerin ilgisini çekmeye başlamıştır. Söz konusu bir ilişki ile ileriki zamanlarda seleksiyonu düşünülen özelliklerin dikkate alınmasında arzu edilebilir nitelikteki damızlık seçimine katkı sağlayarak, seleksiyon işleminin daha kısa sürede ve daha etkili bir şekilde yapılmasına imkan verecektir. Günümüzde mevcut moleküler analizlerin hayvancılıkta kullanım maliyetlerinin yüksek olması kullanımlarını sınırlamaktadır. Ancak moleküler biyolojideki gelişmelere paralel olarak insan yaşamında önemli yer tutan bu yöntemlerin hayvan yetiştiriciliğinde de yer alması seleksiyonun daha etkili ve hızlı bir şekilde yapılmasına yardımcı olacaktır. Zaman içerisinde hayvan yetiştirilerinin ekonomik öneme sahip özellikleri belirlemek için kullanılacak PCR testlerine olabilecek ilgilisi moleküler sektörün bu alanda daha da yoğunlaşmasını muhtemel kılacaktır. Yakın bir gelecekte DNA seviyesinde farklılığa dayanan genotiplendirme çalışmaları hayvanların gerçek verim kabiliyetleri ile damızlık değerlerinin tahminini sağlayarak üstün verimli hayvanların seçilmesi için güçlü bir yöntem olarak ve daha geniş uygulama alanlarıyla yetiştiricilerin hizmetinde olacaktır.

Bu araştırma, Konuklar Tarım İşletmesinde yetiştirilen Esmer sığırlarda moleküler genetik yöntemlerden RFLP metodu ile leptin ve pit-1 genleri bakımından populasyonun DNA seviyesinde genetik yapısı hakkında bilgi edinilmesi ve söz konusu genlerdeki mutasyonlar sonucu meydana gelen genotipler ile süt verimleri ve bileşenleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Leptin Geni Ekzon 2 (*Kpn*2I/94), İntron 2 (*Sau3*AI_1820/422 ile BsaAI_522), ve Ekzon 3 (*Hph*I_331)'deki polimorfizmler

Leptin sığırlarda yem tüketiminin ayarlanması, enerji metabolizması, canlı ağırlık, büyüme, karkas kompozisyonu, süt ve üreme özellikleri ile bağışıklık sistemi üzerine etkisi olan 16 kDa ağırlığında 167 amino asitten meydana gelen ve sığırlarda 4. kromozom üzerinde (4q32) bulunan 3 ekzon ve 2 introndan meydana gelen 280836 numaralı pleiotropik etkili bir gen olup, özellikle adipoz dokulardan sentezlenmektedir (Zhang ve ark., 1994; Friedman ve Halas, 1998; Block ve ark., 2001; Taniguchi ve ark., 2002; Lagonigro ve ark., 2003; Javanmard ve ark., 2004; Van Der Lende ve ark., 2005; Leifers ve ark., 2003b). 167 amino asitten 21 tanesi leptinin prokürsör formunda yer almaktadır (Buchanan ve ark., 2002; Komisarek ve ark., 2005; Leifers ve ark., 2005). Lindersson ve ark. (1998), süt verim özellikleri için QTL lokusuna leptin geninin yakınlığını 82.8 cM olarak belirlemişlerdir. Leptin geninin söz konusu özelliklerdeki etkisinden dolayı sığır yetiştiriciliğinde QTL çalışmaları için potansiyel bir aday gen olarak kabul edilmektedir. Leptin geni adipoz dokudan başka plesanta, meme bezleri, iskelet kasları, gastrik mukoza, beyin ve hipofiz bezinden de sentezlenmektedir (Houseknecht, 1998). Leptin geninin kodlama kısmı ekzon 2 ve ekzon 3 olup (Konfortov ve ark., 1999; Taniguchi ve ark., 2002), ekzonik sekansının her 84 bç'nde bir polimorfizm meydana geldiğinden (Leifers ve ark., 2005) son yıllarda SNP ve RFLP çalışmaları yoğun bir şekilde yapılagelmektedir. Leptin, nöropeptit Y nöronlarına lokalize olan bir reseptöre bağlanarak metabolizmada fonksiyonlarını göstermekte (Komisarek ve ark., 2005) ve bu multifonksiyonel etkilerinden dolayı metabolizma düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir (Houseknecht, 1998). Şekil 2.1'de leptin geninin yapısı gösterilmiştir.



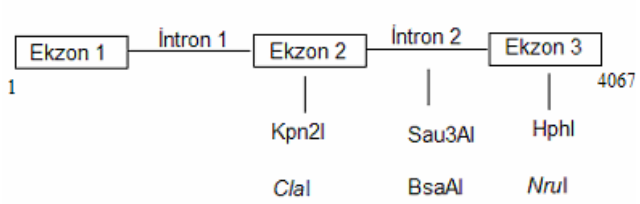
Şekil 2.1. Leptin geninin yapısı (Taniguchi ve ark., 2002)

Leptin geni normal olan memelilerde, vücut yağ miktarı ile plazma leptin seviyesi arasında bir ilişki vardır (Leifers ve ark., 2003a). Vücut yağı miktarı arttığında plazma leptin seviyesi de artarak vücut enerji dengesini ayarlamak için hipotalamustaki reseptörlere sinyal vermekte ve iştah baskılanmaktadır. Ancak Zhang ve ark. (1994) tarafından fareler üzerinde yapılan bir çalışmada leptin genindeki mutasyonun farelerde (ob/ob genotipli) obeziteden sorumlu olduğu ifade edilmiştir. ob/ob tipi farelerde leptinin yeterince üretilememesi nedeniyle yağ depolanması fazla olmaktadır. Daha sonraki yıllarda db/db genotipli ve fa/fa genotipli farelerin de ob/ob genotipliler gibi obez oldukları fakat bunlarda leptin seviyelerinin yüksek olduğu dolayısıyla leptine karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (Houseknecht, 1998). Buchanan ve ark. (2002) leptin geninde meydana gelen bazı mutasyonlar neticesinde leptin molekülünün fonksiyonunun değişerek hormonun reseptörlere bağlanmasında karışıklığa ve biyolojik fonksiyonunda bir bozukluğa neden olabileceği öne sürülmektedir. Dolayısıyla obezlerde fazla miktarda olan yağ dokusu ile orantılı olarak, yine fazla miktarda leptin yapılmakta ancak yem tüketimi baskılanamadığından kilo alımı devam etmektedir (Özbalcı ve Şahin, 2007).

Silva ve ark. (2002), sığırlarda ortalama olarak cinsi olgunluk yaşından önce günlük 1 kg'ın üzerinde büyüme oranını sağlayan yüksek enerjili rasyonların meme gelişimini % 15-20 oranında zarar vermesinden yola çıkarak, meme gelişimi üzerine yüksek enerjili rasyonların inhibitör etkisine leptinin arabulucu bir görev üstlendiğini öne sürmüşlerdir. Araştırıcılar leptin reseptör formlarından uzun form Ob-Rb'nin mRNA'larının hipotalamus, ekstra parankimal yağ, meme parankiması, meme epitel hücreleri, kalp, yumurtalık, hipofiz, akciğer, karaciğer, iskelet kasları, deri altı yağ, testis ve dalakta tespit edildiğini, ancak kısa form olan Ob-Ra'nın mRNA'larının ise sadece hipofiz, karaciğer ve dalakta tespit edildiğini bildirmişlerdir. Sığır meme hücrelerindeki Ob-Rb sentezinin parankimal büyümenin düzenlenmesinde leptinin direk bir etkisinin olduğunu, yüksek enerjili rasyonlarla beslenen sığırların serum leptin konsantrasyonunun yükselerek meme epitel hücrelerinin DNA sentezini azaltmakta ve meme gelişimine zarar vermekte olduğunu bildirmişlerdir.

Sığırlar için leptin geninin bütün sekansına GenBank veri tabanında U50365 erişim numarası ile ulaşılmaktadır (Anonymous, 2011b). Leptin geninde günümüze kadar tanımlanan RFLP polimorfizmlerinden ekzon 2 bölgesinde *Kpn2*I polimorfizmi (C/T baz değişikliği ile bir arginin amino asidinin sisteine dönüşümü, Arg25Cys) (Buchanan ve ark., 2002) ve *Cla*I polimorfizmi (A/T baz değişikliği ile bir tirosin amino

asidinin fenilalanine dönüşümü) (Lagonigro ve ark., 2003); intron 2 bölgesinde *Sau3*AI polimorfizmi (Pomp ve ark., 1997) ve *Bsa*AI polimorfizmi (G→A baz değişikliği) (Lien ve ark., 1997) ile ekzon 3 bölgesindeki *Hph*I polimorfizmi (C→T baz değişikliği ile bir alanin amino asidinin valine dönüşümü) (Haegeman ve ark., 2000) ve *Nru*I polimorfizmine (C→T baz değişikliği ile bir valin amino asidinin alanine dönüşümü) (Lagonigro ve ark., 2003) bilgileri mevcuttur. Bununla birlikte leptin geni için mikrosatellit (BM1500) ve bir çok SNP polimorfizmi de bulunmaktadır. Şekil 2.2'de leptin geni RFLP polimorfizmleri kısaca gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Leptin genindeki RFLP polimorfizmleri

Pomp ve ark.'nın (1997) sığırlarda 4. kromozom üzerinde bulunan leptin geninin intron 2 bölgesindeki 1820 bç'lik gen bölgesinin *Sau3*AI polimorfizmini tanımlamak amacıyla yaptıkları çalışmada, A allelinin frekanslarını Limuzin (7 baş), Simmental (9 baş), Gelbvieh (17 baş), Siyah Alaca (14 baş), Hereford (16 baş), Angus (15 baş), Brahman (4 baş) ve Brangus (4 baş) sığırlarında sırasıyla 0.70, 0.79, 0.82, 0.71, 0.50, 073, 0.00 ve 0.60 olarak belirlemişler ve nadir olarak gözlenen başka bir allelin (C alleli) varlığını bildirmişlerdir. Araştırıcılar bu allelin Simmental, Gelbvieh ve Angus sığırlarında gözlendiğini bildirmişlerdir. *Bos primigenius indicus* olan 4 baş Brahman sığırında A allelini hiç belirleyememişlerdir.

Haegeman ve ark. (2000), leptin geni ekzon 3 bölgesindeki *Hph*I polimorfizmini (C→T baz değişikliği ile bir alanin amino asidinin valine dönüşümü (A59V)) bildirdikleri çalışmalarında, T alllelinin mutant allel olduğunu, CC genotipli olanların *Hph*I enzim kesimi ile herhangi bir ilave fragment vermeyerek sadece 331 bç'nde bant görüntüsü verdiğini, mutant allelden kaynaklanan TT genotipli hayvanların ise 311 bç ve 20 bç'nde olan 2 kesim ürününe sahip olduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar en az 18 en fazla 56 baş olmak üzere 10 sığır ırkında (Çizege 2.3a) *Hph*I polimorfizmi bakımından C allelinin frekansının 0.518 ile 0.887 değerleri arasında belirlemişler ve mutant allel olan T'nin frekasını ise C'ye kıyasla daha düşük bulmuşlardır.

Leptin geni *Kpn*2I polimorfizmi (C→T baz değişikliği) et sığırlarında yağ depolarının artışıyla ilişkilidir. Bu durum süt sığırlarında da mevcut olup, erken laktasyon döneminde enerji tüketimi sınırlandığında yüksek süt veriminin muhafazasında vücut yağ depoları önemli bir rol oynamaktadır. Buzağılamadan önce vücut kondüsyonunun artması hayvanların laktasyondaki süt üretimleri için enerji depoları sağlanması bakımından önemlidir (Buchanan ve ark., 2003). Bununla birlikte Verkamp ve ark.'nın (1995) lüteal aktivite ve enerji dengesi ile süt verimi ve canlı ağırlık arasında tespit ettikleri genetik korelasyonlardan yola çıkarak Leifers ve ark. (2002), leptin geni lokusundaki polimorfizmlerin bir rolü olabileceğini ifade etmişlerdir. Araştırıcılar 613 baş Siyah Alaca düvenin doğumlarından sonra laktasyona başlayan 565 baş inekte leptin geninin intron 2 bölgesindeki S*au3*AI ve ekzon 3 bölgesindeki *Hph*I polimorfizmleri ile BM1500 mikrosatellitinin laktasyonun ilk 105 gününe (ilk 15 hafta) kadarki periyodunda canlı ağırlık, yem tüketimi ve süt verimi ile ilişkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında süt verimi, protein verimi, yem tüketimi ve laktoz verimi bakımından S*au3*AI-AA ve S*au3*AI-AB genotipleri arasında farklılıkları önemli düzeyde bulmuşlardır ($P<0.05$). Araştırma sonunda S*au3*AI-AB genotipine sahip hayvanların S*au3*AI-AA genotiplilere kıyasla günlük 1.23 ile 1.32 kg arasında daha fazla süt verdiğini ($P<0.05$), günlük 0.73 kg daha fazla yem ($P<0.05$) ve 0.39 kg daha fazla kuru madde tükettiklerini ($P<0.10$) ve ayrıca laktasyonun 15. haftasında 9.1 kg daha fazla ortalama canlı ağırlığa sahip olduklarını tespit etmişlerdir ($P<0.10$). Araştırıcılar AB genotipli hayvanların AA genotiplilere kıyasla kuru madde tüketimlerinin 0.39 kg/gün daha fazla olduğunu ve tüketilen kuru maddeye göre 0.36 kg/gün süt verimlerinin yüksek olması gerekirken 0.96 kg/gün gibi daha yüksek bir seviyede tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Günlük 0.96 kg süt verimi için ihtiyaç duyulan enerjinin de kuru madde tüketimleri sonucunda elde edilen enerjinin dışındaki bir kaynaktan (daha fazla negatif enerji dengesi, düşük canlı ağırlık veya daha iyi yemden yararlanma) elde edilebileceğini ifade etmişlerdir. Ancak yüksek süt üretimine karşılık AB genotipli hayvanların şaşırtıcı bir şekilde daha ağır olduklarını ve daha düşük seviyede negatif enerji dengesinde olma eğiliminde olduklarını, bununda AB genotipli hayvanların leptin seviyelerinin düşük olmaları sonucunda daha fazla yem tükettiklerini ve daha az bazal enerji kullandıklarını veya yemden yararlanmalarının yüksek olabileceği hipotezini ortaya atmışlardır. *Hph*I-CC genotipinin ise diğer genotiplere göre 5 kg daha düşük canlı ağırlık kazancına sahip olduğunu ($P=0.087$) ve en düşük laktoz yüzdesine sahip genotip olduğunu ($P=0.085$) bildirmişlerdir. Lüteal aktivite ile

ilgili olarak önemli düzeyde hiçbir etkinin bulunmadığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak *Sau3*AI polimorfizminin süt üretimiyle ilişkili olmakla birlikte yem tüketimi ve canlı ağırlığı da etkileyebileceğini, *Hph*I polimorfizminin de sütteki % yağ miktarını etkileyebileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte ileride yapılacak yetiştirme programları için S*au3*AI-B allelinin enerji dengesini ve döl verimi üzerine negatif etki yapmaksızın daha fazla süt verimi için en ideal allel olduğunu bildirmişlerdir. S*au3*AI polimorfizmi sonucunda AA, AB ve BB genotiplerinin frekanslarını sırasıyla % 83.3, % 18.5 ve % 0.2 olarak tespit etmişler ve seleksiyon uygulamasına başlamadan önce leptin lokusunun pleoitropik etkileri hakkında (süt verimi-bağışıklık) daha fazla bilgiye sahip olunması gerektiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırıcılar *Hph*I polimorfizmi sonucunda CC, CT ve TT genotiplerinin frekanslarını ise sırasıyla % 58.1, % 32.9 ve % 9 olarak bildirmişlerdir.

Leifers ve ark. (2003a), ilk laktasyona başlayacak ineklerin buzağılamadan 30 gün önce ve 80 gün sonra leptin konsantrasyonunun süt sığırlarının enerji dengesi, süt verimi ve kompozisyonu, kuru madde tüketimi, canlı ağırlık ve östrus üzerine etkisini ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, plazma leptin seviyesinin gebelik süresince yüksek olduğunu, doğuma doğru azalma gösterdiğini, doğumdan sonra biraz artış göstererek tekrar doğumdaki seviyesinde olduğunu ve buzağılamadan 70 gün sonrasına kadar bu seviyede seyrettiğini bildirmişlerdir. Leptin konsantrasyonunun laktasyondaki hayvanların enerji dengesinin durumunu yansıttığını ve laktasyon süresince ortalama olarak negatif enerji dengesinde olan ineklerin plazma leptin konsantrasyonunun daha düşük olduğunu, genellikle diğer hayvanlara göre daha fazla süt verimine, daha az yem tüketimine ve daha düşük canlı ağırlığa sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Buzağılamadan sonra leptin konsantrasyonunun tekrar yükselmesinin negatif enerji dengesinin süresi ve miktarına bağlı olmakla birlikte, bu durumun da muhtemelen doğum sonrası tekrar yağlanma miktarından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Süt kompozisyonu bakımından gebeliğin sonlarında leptin seviyesi daha yüksek olan ineklerin laktasyon boyunca sütteki % yağ oranının, gebeliğin sonlarında ve erken laktasyon döneminde leptin seviyesi yüksek olanlarda laktoz yüzdesinin ve her iki dönemde de leptin seviyesi yüksek olanlarda da protein yüzdesinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte leptin seviyesi ile buzağılamadan sonra ilk lüteal aktivite arasında bir ilişkinin tespit edilmemesine rağmen, leptin seviyesi yüksek olan hayvanlarda doğum ile gözlenebilen ilk kızgınlık arasındaki sürenin daha kısa olduğunu, bu durumun da leptin ile kızgınlık arasındaki bir ilişkinin göstergesi

olabileceğini öne sürmüşlerdir. Dolayısıyla leptin enerji dengesinin ayarlanmasında plazmada seviyesini artırarak ve azaltarak yem tüketimini etkileyerek hayvanların vücut yağ miktarını ve canlı ağırlıklarını ayarlamada rol oynamakta, süt ve döl verim özelliklerini de etkilemektedir. Bununla birlikte Leifers ve ark. (2003b) 323 baş ilk laktasyonlarına başlayacak olan Siyah Alaca düvelerin buzağılamadan 30 gün önce ve 80 gün sonrasına kadarki leptin seviyeleri ile leptin genindeki 4 farklı polimorfizm (R4C, A59V, RFLP1, BM1500) ile arasındaki ilişkileri araştırmışlardır. Araştırıcılar intron 2'deki RFLP1-*Sau3A*I polimorfizmi sonucu CT genotipli hayvanların CC genotiplilere kıyasla gebeliğe 20 ile 30 gün kalan zaman diliminde leptin konsatrasyonlarının önemli derecede daha yüksek olduğunu, ekzon 3'deki A59V-*Hph*I polimorfizmi (C/T baz değişikliği ile arginin amino asidinin valine dönüşümü) sonucu meydana gelen genotipik farklılık sonucu TT genotipli hayvanların diğerlerine göre leptin seviyelerinin buzağılamadan 30 gün öncesine kadar önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak ekzon 2'deki R4C polimorfizmi (C/T baz değişikliği ile arginin amino asidinin sisteine dönüşümü) sonucu meydana gelen genotipik farklılık sonucu CC genotipli hayvanların diğerlerine göre leptin seviyelerinin buzağılamadan 30 gün önce ve laktasyonun ilk 5 gününde önemli derecede yüksek olduğunu ve bu durumun mutasyondan kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Araştırıcılar ekzon 3'deki *Hph*I (A59V) polimorfizmi sonucu meydana gelen CC, CT ve TT genotip frekanslarını sırasıyla 0.58, 0.34 ve 0.08 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. RFLP1-*Sau3A*I polimorfizmi sonucu TT (BB) genotipli 1 tane hayvan olduğunu ifade ederek CC (AA) ile CT (AB) genotip frekanslarını 0.81 ile 0.09 olarak bildirmişlerdir. R4C polimorfizmi bakımından ise R4C polimorfizmi bakımından CC, CT ve TT genotip frekanslarını sırasıyla 0.46, 0.42 ve 0.12 olarak bulmuşlardır.

Block ve ark. (2001), leptinin yem tüketimi ve enerji eğiliminin düzenlenmesindeki rolünden dolayı süt sığırlarında gebelikten laktasyona geçiş döneminde metabolizmanın organizasyonuna katılabileceğini bildirmektedir. Araştırıcılar doğumdan sonra sağılan ineklerde plazma insilün ve glikoz konsantrasyonlarının düşük, sağılmayan ineklerde ise plazma büyüme hormonu ile serbest yağ asitleri konsantrasyonlarının yüksek olduklarını ve sağılan hayvanların plazma leptin konsantrasyonlarının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar laktasyondaki süt sığırlarında plazma leptin konsantrsayonunun plazma insülin ve glikoz seviyeleri ile pozitif, büyüme hormonu ve serbest yağ asitleri ile negatif bir korelasyon içinde olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca doğum öncesinde ineklerdeki

enerji açığı plazma leptin seviyesinde sürekli bir azalmaya sebep olmakla birlikte doğumdaki enerji açığı başlangıcının erken laktasyon dönemindeki süt sığırlarının düşük plazma leptin seviyesi üzerine kısmen sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle erken laktasyon döneminde plazma leptin konsantrasyonunun azalmasında büyük ölçüde adipoz dokuda leptin sentezinin düşük olmasından kaynaklandığı ifade edilmektedir. Kadokawa ve ark. (2000), Siyah Alaca süt sığırlarında doğum sonrası erken laktasyon döneminde plazmada seviyesi düşen leptinin, tekrar yükselmesindeki gecikmenin ilk ovulasyonu geciktirdiğini bildirmişlerdir.

Leury ve ark (2003), süt sığırlarında enerji yetersizliğinin plazma leptin seviyesinin azalmasına katkıda bulunmasında plazma insilün ve plazma GH (büyüme hormonu)'larının resiprokal etkisinden kaynaklanabileceğini ve süt sığırlarında doğum öncesi plazma leptin seviyesinin düzenlenmesinde bu iki hormonun etkili olabileceğinden yola çıkarak, 6 baş Siyah Alaca süt sığırında hiperglisemik-öglisemik (kanda normal glukoz seviyesini sağlayan ancak insülün seviyesini artıran) klamplar kullanarak doğumdan 31 gün önce ve doğum sonrası 7 günlük dönemde yaptıkları çalışmalarında, insülünün doğum öncesindeki ve sonrasındaki ineklerde plazma leptin seviyesini sırasıyla 2.4 ile 0.4 ng/ml artırdığını, özellikle insülünün doğum öncesi dönemde adipoz doku sentezini teşvik ettiğini ve GH'nin ise her iki dönemde de büyük bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Çiftlik hayvanlarında buzağılamadan en yüksek günlük süt verimine ulaşıncaya kadar geçen sürede süt veriminde oldukça hızlı bir artış meydana gelmektedir. Bu dönem içerisindeki süt verimindeki hızlı artışa karşılık, kuru madde tüketimindeki yetersizlik hayvanların negatif enerji dengesine girmesine sebep olmaktadır. Leifers ve ark. (2005) erken laktasyon dönemindeki süt sığırlarında süt verimindeki artışa daha fazla negatif enerji dengesinin eşlik ettiğini ve bu dönemde üreme fonksiyonlarının azaldığını bildirmişlerdir. Süt sığırları süt verimi için gereksinim duyduğu enerji ihtiyacını karşılamak için vücut yağı rezervlerini kullanma yoluna gitmektedir. Dolayısıyla ineklerin buzağılamadaki vücut kondüsyonları (ideali 3-3.5) önem arz etmektedir. İdeal vücut kondüsyonunda laktasyona başlamayan ineklerin erken laktasyon döneminde enerji tüketimlerinin süt sentezi için yetersiz kalmasından dolayı inekler negatif enerji dengesine girmekte ve süt verimlerini devam ettirebilmek için ihtiyaç duyduğu enerjiyi vücut yağ ve proteinlerinden karşılama yoluna giderek ketosis vb… gibi metabolik hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Rasor ve ark. (2002), Amerika Birleşik Devletleri'nin güney batısı ile Meksika'nın kuzey bölgesinde yüksek sıcaklıklara adapte olan et sığırlarında leptin geninin intron 2 bölgesindeki 1147 bç'lik bölgede *Sau3*AI polimorfizminin cinsi olgunluk yaşına ulaşma zamanı (gün) ile cinsi olgunluktaki canlı ağırlıkları (kg) arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Araştırıcılar A allel frekansını 25 baş Angus ile 11 baş Criolla sığırlarında (*Bos taurus*) sırasıyla 0.88 ve 1.00 olarak, *Bos indicus*'dan köken alan 44 baş Brangus, 7 baş Amerikan Brahmanı, 18 baş Hereford F_1 x Brahman melezi, 33 baş Santa Cruz ve 25 baş Santa Gertrudis sığırlarında sırasıyla 0.76, 0.93, 0.97, 0.94 ve 0.96 olarak, *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi olan Afrikan Mashona sığırlarında ise 1.00 olarak belirlemişlerdir. Araştırıcılar et sığırlarında A alleli (0.76-1.00) ile AA genotip frekanslarının (0.59 - 1.00) yüksek frekanslarda belirlendiğini, Hereford F_1 x Brahman melezi, Santa Cruz ve Santa Gertrudis sığırlarında cinsi olgunluk yaşına ulaşma zamanı (gün) ve cinsi olgunluktaki canlı ağırlıkları (kg) ile *Sau3*AI arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir.

Buchanan ve ark. (2002), leptin geninin ekzon 2 bölgesindeki *Kpn2*I polimorfizmini (C/T baz değişikliği ile arginin amino asidinin sisteine dönüşümü) PCR-RFLP yöntemi ile tespit etmek amacıyla 60 baş Angus, 55 baş Hereford, 22 baş Simmental ve 17 baş Şarole'den oluşan, toplamda 154 baş etçi sığır ırkında çalışmışlardır. Araştırıcılar C/T baz değişikliğinin etçi ırklarda karkas yağlanması üzerine etkisi bakımından T alleline sahip hayvanların karkaslarının daha fazla yağlandığını, C alleli taşıyanların ise daha az yağlandığını ve ele alınan ırklarda C ve T allel frekansları bakımından Avrupalı ırkların C alleli frekanslarının (Simmental için C:0.68 – Şarole için C:0.66) yüksek olmalarına karşın, Avrupalı ırklara göre ergenliğe erken ulaşan Britanya ırklarının T alleli frekanslarının (Angus için T:0.58, Hereford için T:0.55) yüksek olduğunu ifade ederek ırklar arasıda allel frekans dağılımlarının dengede olmadığını (P=0.03) bildirmişlerdir. Bununla birlikte T alleli bakımından homozigot hayvanların kesim zamanlarında elde edilen yağ örneklerinde ribonükleaz koruma analizi ile leptin mRNA miktarlarının fazla olduğunu ve sebebinin de proteine ekstra bir sistein ilavesi yapan T allelinin leptin hormonunun biyolojik fonksiyonunda karışıklığa neden olarak mutasyona sebep olabileceğini ifade etmişlerdir. Dolayısıyla hem ortalama yağ hem de yağlılık derecesinin genotipik farklılıktan dolayı önemli derecede etkilendiklerini bildirmişlerdir. C/T baz değişikliği sonucu arginin amino asidinin sistein amino asidine dönüşmesi leptin molekülünün fonksiyonunun değişmesine neden olmaktadır. Fonksiyon değişikliğine sebep olabilecek hipotezlerden ilkinin leptin

molekülünün A-heliks yapısındaki sisteinin varlığının leptin hormonunun reseptörlere bağlanmasında karışıklığa sebep olabileceğini ve bunun da leptinin biyolojik fonksiyonunda bir bozukluğa/karışıklığa neden olabileceğini ifade etmişlerdir. İkincisinin ise leptin molekülünde eşleşmemiş bir sistein amino asidi varlığının hormonun biyolojik fonksiyonu için kritik olan 2 sistein arasındaki disülfid köprüsünün dengesini bozabileceğini bildirmişlerdir.

Buchanan ve ark. (2003), PCR-RFLP yöntemi ile 416 baş Siyah Alaca süt sığırında leptin geninin ekzon 2 bölgesindeki *Kpn2*I polimorfizminin (C→T baz değişikliği ile arginin amino asidinin sisteine dönüşümü, Arg25Cys) leptin geni ile süt verimi ve laktasyon verilerini kıyaslayarak yaptıkları çalışmada sığır leptin geninin T alleline sahip homozigot genotiplerin C alleline sahip olanlara kıyasla günde ortalama olarak 1.5 kg (P=0.04), TC genotiplilerin CC genotiplere kıyasla günlük 0.91 kg (P=0.12) daha fazla süt verimine sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Bununla birlikte laktasyonun ilk 100 günlük periyodunda CC genotiplilere kıyasla TT genotiplilerin günlük 2.44 kg, TC genotiplilerin de günlük 1.74 kg; laktasyonun 101.ve 200. günlerinde TT genotipli hayanların 1.74 kg, TC genotiplilerin de günlük 1.38 kg ve 200. günden sonraki laktasyon döneminde ise TT genotipli hayanların 0.24 kg, TC genotiplilerin de günlük 0.22 kg daha fazla süt verdiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak leptin geni polimorfizmi bakımından T alleline sahip homozigot genotiplerin laktasyon süresince sütün % yağ ve % protein verimini önemli derecede etkilemeden C alleline sahip olanlara kıyasla günde ortalama olarak 1.5 kg daha fazla süt verdiklerini ve özellikle laktasyonun ilk 100 günlük döneminde bu üstünlüğün göze en çarpan durum olduğunu ve daha yüksek somatik hücre skoruna sahip olduklarını bildirmişlerdir. Kontrol günlerindeki süt protein miktarındaki artış bakımından CC genotiplilere kıyasla laktasyonun ilk 100 günlük periyodunda TT genotiplilerin günlük 72 g, TC genotiplilerin de günlük 50 g ($P < 0.02$), laktasyonun 101.ve 200. günlerinde TT genotipli hayanların günlük 47 g, TC genotiplilerin de günlük 37 g ($P < 0.08$) ve de laktasyon boyunca günlük olarak TT genotiplilerin CC genotiplilere göre 43 g/gün daha fazla protein verimine sahip (P=0.06) ve yağ verimindeki azalmanın önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte leptin geni polimorfizminin süt verim özellikleri ile ilişkisine sadece Siyah Alaca sığırlarda araştırmalarına rağmen, araştırmada leptin geni polimorfizmindeki T ve C allelleri frekanslarını 416 Siyah Alaca sığırında T: 0.46; C: 0.54 olarak tespit etmekle birlikte; 17 Ayrshire sığırında T: 0.62; C: 0.38, 21 İsviçre Esmeri sığırında T: 0.45; C: 0.55, 9 Canadienne sığırında T: 0.11; C: 0.89, 16 Guernsey

sığırında T: 0.06; C: 0.94, 20 Jersey sığırında T: 0.53; C: 0.47 olarak tespit etmişlerdir. Analizlerinde süt somatik hücre skorlaması üzerine leptin genindeki genotipik farklılıkların etkisinin de önemli olduğunu ifade etmişler ve TT genotiplilerin hem yüksek süt verimine hem de yüksek somatik hücre skoruna sahip olduklarını, bununda süt verimlerinin yüksek olduğu için mastitis vakalarının muhtemel olabileceğini ya da bağışıklık sistemlerinin düşük olduğundan kaynaklanabileceğini ve leptin ile somatik hücre skoru arasındaki ilişkilerin çözülebilmesi için ileride daha fazla araştırmaların yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak leptin geninin T alleline sahip homozigot ineklerdeki yağ verimini değiştirmeksizin süt verimi ve protein verimi üstünlüğünün sığır yetiştiricileri için büyük bir ekonomik avantaj olarak temsil edilebileceğini bildirmişlerdir.

Sürü içinde istenen genlerin frekansını artırmak için yapılan seleksiyona dayalı yetiştirme programlarında kullanılabilen gen markörleri, özellikle doğru bir biçimde ölçülmesi zor ya da görece pahalı olan, yaşamın daha sonraki dönemlerinde veya sadece eşeyin birinde ortaya çıkan özellikler bakımından oldukça yararlıdır (Elmacı ve Öner, 2007).

Et sığırlarında leptin geni ile üreme özellikleri arasındaki ilişkileri tespit etmek amacıyla Almeida ve ark. (2003) tarafından 4 RFLP polimorfizmi (*Hph*I; *Bsa*AI; *Sau3*AI (AB) ve *Sau3*AI (+/-) ile 5 STRs (Short Tandem Repeats; Kısa Tekrar Dizileri) kullanarak 160 etçi inek (5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore) üzerinde yapılan çalışmada, *Hph*I polimorfizmi bakımından C/T allelleri ile heterozigotluk değerini 0.85/0.15 ve 0.26, *Bsa*AI polimorfizmi bakımından A/G allelleri ile heterozigotluk değerini 0.42/0.58 ve 0.49, *Sau3A*I polimorfizmi bakımından A/B allelleri ile heterozigotluk değerini ise 0.63/0.37 ve 0.47 olarak belirlemişlerdir. *Sau3*AI (+/-) polimorfizmi bakımından buzağılama aralığının *Sau3*AI*+/*Sau3*AI*- heterozigot hayvanlarda *Sau3*AI*-/*Sau3*AI*- homozigot hayvanlara kıyasla yaklaşık olarak 81 gün (P=0.016) daha fazla olduğunu, ilkine buzağılama ağırlığı bakımından ise ortalama olarak 27 kg (P=0.052) daha ağır olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca kısa tekrar dizilerinden IDVGA51*181 alleline sahip olanların diğer allellerine kıyasla yaklaşık olarak 79 gün (P=0.002) daha fazla buzağılama aralığına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Dolayısıyla IDVGA51*181 ve *Sau3A*I*+ mutasyonlarının taşıyıcılarına karşı seleksiyonda en azından 2 ay gibi buzağılama aralığının ıslahına gidilebileceğini ve *Sau3A*I*+/*Sau3A*I*- genotipli hayvanlara gebelik süresince yapılacak ek yemleme ile sürünün performansının daha iyi olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu durum ile ilgili

olarak Pyrce ve ark. (2000), Stott ve ark.'nın (1999) yaptığı bir çalışmadaki buzağılama aralığının 1 gün uzamasının İngiltere'de 4 İngiliz Sterlini gibi ekonomik bir kayba sebep olduğunu ifade etmektedir.

Lagonigro ve ark. (2003), 169 baş Siyah Alaca x Şarole F_2 melezi buzağıyı besiye alarak, besi sonunda yem tüketimleri ve yağlanma ile ilgili özellikler ile leptin geninde 5 SNPs (Single Nükleotid Polymorphism; Tek Nükleotid Polimorfizmi) arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, leptin geni ekzon 2'deki 252 posizyonunda *ClaI* restriksiyon enzim kesim bölgesindeki (A→T baz değişikliği ile tirosin amino asidinin fenilalanine dönüşümü) polimorfizm sonucu A/T genotipli bireylerin (10.14 kg/gün) A/A genotiplilere (8.54 kg/gün) göre % 19 daha fazla ortalama yem tüketimlerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Ayrıca bu hayvanlarla birlikte 49 baş İngiltere Alacası, 42 baş Aberden Angus, 50 baş Hereford, 48 baş Highland ve 56 baş Şarole ırklarından oluşan 5 sığır ırkında da polimorfizm sonucu tespit ettikleri yeni allel varyantı (T) bakımından allel frekanslarını da düşük seviyelerde (% 0 - 15.18) tespit etmişlerdir. Çalışmalarında leptin geninin ekzon 2 deki 252 ve 305. tek nükleotit ve ekzon 3'deki 140. tek nükleotit polimorfizm sonucu meydana gelen haplotiplerden TCC haplotipinin kaslar arası yağ seviyesi (% 30 artırıcı, $P<0.001$) ile ACC haplotipinin ise deri altı yağ seviyesi (% 19 azaltıcı, $P=0.046$) ile ilişkili olduklarını da bildirmişlerdir.

Oprzadek ve ark. (2003), 141 baş Siyah Alaca danasının gelişme, yem değerlendirme ve karkas özellikleri ile leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkileri araştırmışlardır. Çalışmalarında 7. aydan 8. aya kadar yapılan besi performansları ve 15 aylık yaşta yapılan kesim performansları bakımından 98 baş AA genotiplilerin 21 baş AB ve 22 baş AC genotiplilere kıyasla günlük olarak daha fazla kuru madde (AA: 6.5 kg/gün; AB: 6.3 kg/gün ve AC: 6.2 kg/gün), ham protein (AA: 0.98 kg/gün; AB: 0.95 kg/gün ve AC: 0.91 kg/gün), yaşama ve verim payı için yem değerlendirme (Feed unit for maintance and meat production; UFV) (AA: 6.8; AB: 6.6 ve AC: 6.3) ve PDI (sindirilebilir protein tüketimi) tüketimlerinin (AA: 0.64; AB: 0.62 ve AC: 0.60) olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte karkas özellikleri bakımından AA genotiplilerin sağ karkastaki ağırlık ve yağ birikimi (114.6 kg ve 19.2 kg) bakımından AB (113.5 kg ve 18.2 kg) ve AC (112.8 kg ve 17.9 kg) genotiplilerden daha yüksek değerlere sahip olduklarını, ancak sağ karkastaki değerli kısımların yüzdesi bakımından AC genotipli (% 62.7) hayvanların AA (% 62.2) ve AB (% 61.9) genotiplilerden daha yüksek değerlere sahip olduklarını bildirmişlerdir ($P\leq0.05$).

Araştırıcılar A, B ve C allel frekaslarını sırasıyla 0.85, 0.07 ve 0.08 olarak tespit etmekle birlikte sonuç olarak AA genotipli hayvanların daha fazla yem tükettiklerini ifade etmişlerdir.

Madeja ve ark. (2004), süt verimi ve özellikleri üzerine öne sürülen *Kpn*2I, *Sau3A*I ve *Hph*I polimorfizmlerinin etkilerini doğrulamak için 117 baş Polonya Siyah Alaca boğada, süt, yağ ve protein verimi ile sütün yağ ve protein yüzdeleri gibi özellikler bakımından hayvanların damızlık değerleri üzerinde yaptıkları çalışmada, *Hph*I polimorfizminde TT genotipli hayvanların süt ve protein verimi bakımından diğerlerine nazaran 2 kat daha fazla damızlık değerine ve yağ verimi bakımından da yüksek bir damızlık değerine sahip olduklarını bildirmişlerdir. *Kpn*2I ve *Sau3*AI polimorfizmleri bakımından ise herhangi bir ilişki tespit etmediklerini ifade etmişlerdir. *Hph*I, *Kpn*2I ve *Sau3*AI polimorfizmleri bakımından populasyonda elde ettikleri allel frekanslarını ise sırasıyla C:0.66 ve T:0.34, C:0.54 ve T:0.46 ile A: 0.86, B:0.11 ve C:0.03 olarak bulmuşlardır. Araştırıcılar alanin amino asidinin valine dönüşümü ile sonuçlanan *Hph*I kesim bölgesinin leptin proteinin *β* heliks yapısının korunmuş bölgesinde yer aldığını, alanin ve valin amino asitlerinin benzer polar olmayan (hidrofobik) alifatik R grubuna sahip olmalarından dolayı amino asit değişikliğinin protein yapısını veya reseptörlere bağlanmayı etkilemeyeceğini bildirmişlerdir. Bundan dolayı bu polimorfizmin verim özelliklerini doğrudan etkilemeyeceğini, fakat çevresindeki diğer bilinmeyen süt verimi ile ilişkili olan lokuslarla bağlantılı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Klauzińska ve ark. (2004), 208 baş Polonya Kırmızısı ve 211 baş Polonya Siyah Alacasında leptin geni intron 2 bölgesi 1820 bç'lik gen bölgesinin *Sau3*AI polmimorfizmi belirlemek için yaptıkları çalışmada A, B ve C allellerini sırasıyla Polonya Kırmızısı hayvanlarda 0.74, 0.11 ve 0.15 olarak, Polonya Siyah Alacalarında 0.80, 0.10 ve 0.10 olarak tespit etmişlerdir. Bununla birlikte Polonya Kırmızısı ve Polonya Siyah Alacalarında gözlenen heterozigotluk değerlerini 0.535 ve 0.353 olarak bildirmişlerdir. Hardy–Weinberg dengesi bakımından Polonya Kırmızısı hayvanlarının dengede, Polonya Siyah Alacalarının ise dengede olmadıklarını ifade etmişler ve iki ırk arasındaki allel frekanslarının farklı olduğunu ifade etmişlerdir ($P \leq 0.04$).

Javanmard ve ark. (2004), İran'ın önemli sığır ırklarından olan ve iki farklı işletmede yetiştirilen Sarabi sığırlarında (*Bos taurus*) leptin intron 2 bölgesi *Sau3*AI (422 bç) polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında, AA, AB ve BB genotipleri ile A/B allel frekanslarını sırasıyla Shabestar'da yetiştirilen populasyonda 0.429, 0.400 ve 0.171

ile 0.63/0.37, Sarabi'de yetiştirilen populasyonda ise 0.193, 0.452 ve 0.355 ile 0.42/0.58 olarak bulmuşlar ve populasyonlar arasındaki allel frekans farklılıklarının istatistik olarak önemli olduğunu ($P \leq 0.05$) ve bu durumun genetik sürüklenmeden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Her iki populasyondaki Sarabi sığırları dikkate alındığında AA, AB ve BB genotipleri ile A/B allel frekansları sırasıyla 0.31, 0.43 ve 0.26 ile 0.53/0.47 olarak tespit edilmiştir.

Choudhary ve ark. (2005), *Bos indicus* (Hariana, Sahiwal, Gir ve Nimari) ve *Bos taurus* (Siyah Alaca, Jersey) ile *Bos taurus* x *Bos indicus* (1/2 Siyah Alaca x ½ Hariana) melezi toplamda 403 sığır üzerinde leptin geninin ekzon 3 ve intron 2'nin bir kısmına uzanan 522 bç fragmentinin *Bsa*AI enzimi (G→A baz değişikliği) ve ekzon 3 bölgesindeki 94 bç fragmentinin *Kpn*2I restriksiyon enzimi (C→T baz değişikliği) ile kesimi sonucunda meydana gelen polimorfizmleri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *Bsa*AI polimorfizmini bütün hayvanlarda belirlemekle birlikte, saf olarak yetiştirilen *Bos indius* sığırlarında ilk olarak kendilerinin tespit ettiklerini ve *Kpn*2I polimorfizminin ise sadece *Bos taurus* ile *Bos indicus* x *Bos taurus* melezlerinde belirlediklerini bildirmişlerdir. *Bsa*AI polimorfizmi bakımından GG, GA ve AA genotiplerinin frekanslarını melez sığırlarda 0.54, 0.43 ve 0.03, Siyah Alaca sığırlarında 0.67, 0.30 ve 0.03, Jersey sığırlarında 0.57, 0.38 ve 0.05, Hariana sığırlarında 0.40, 0.53 ve 0.07, Sahiwal sığırlarında 0.47, 0.50 ve 0.03, Gir sığırlarında 0.55, 0.40 ve 0.05, Nimari sığırlarında ise 0.48, 0.45 ve 0.07 olarak belirlemişlerdir. *Kpn*2I polimorfizmi bakımından CC/CT/TT genotip frekanslarını Siyah Alaca, Jersey ve melez sığırlarda sırasıyla 0.25/0.69/0.06, 0.18/0.52/ 0.30 ve 0.68/0.27/0.05 olarak tespit etmişlerdir. Her iki polimorfizm bakımından mutant homozigotların (AA ve TT) genotip frekanslarının çok düşük olduğunu ve *Bsa*AI-RFLP mutasyonunun evrimin ilk zamanlarında meydana geldiğini, *Kpn*2I-RFLP mutasyonu için ise TT genotip frekansının saf olarak yetiştirilen iki *Bos taurus* (Siyah Alaca, Jersey) ırkında melezlere kıyasla daha yüksek olduğu ve sadece *Bos taurus* sığırlarında belirlendiği için mutasyonun son zamanlarda meydana geldiğini ifade etmişlerdir.

Javanmard ve ark. (2005), 6 farklı İran sığır ırkı (82 baş Sarabi, 57 baş, Golpayegani, 38 baş Sistani, 70 baş Taleshi, 26 baş Manzadrani ve 8 baş Dashtiyari), Golpayegani x İsviçre Esmeri F_1 melezi (13 baş) ve İran mandalarında (30 baş) leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI (422 bç) polimorfizmi ile heterozigotluk değerlerini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada, İran sığır ırkları arasında B alleli bakımından en yüksek alleli Dashtiyari sığırlarında (0.875) en düşük frekansı ise Sarabi (0.250) ve

Golpayegani (0.281) sığırlarında belirlemişlerdir. Golpayegani x İsviçre Esmeri F_1 melezi sığırlarında B allelinin frekansını ise 0.846 olarak bulunmuşlardır. Genotip frekansları bakımından en yüksek AB genotip frekansının Taleshi sığırlarında (0.757) bulmuşlardır. Söz konusu alleller bakımından heterozigotluk değerlerini ise 0.219 (Dashtiyari) ile 0.499 (Taleshi) değerlerleri arasında tespit etmişlerdir.

Beş farklı işletmede yetiştirilen ve değişik oranlarda Holstein Friesian (hf) geni taşıyan 860 Polonya Siyah Alacasının süt verimi ve bileşenleri ile leptin geninin ekzon 3 bölgesindeki *Hph*I ve intron 2 bölgesindeki *Sau3*AI polimorfizmlerini birlikte dikkate alarak aralarındaki ilişkileri belirlemek için Kulig (2005a) tarafından yapılan bir çalışmada, *Hph*I polimorfizmi bakımından C ve T allelleri ile *Sau3*AI polimorfizmi bakımından da A, B ve C allelleri bakımından meydana gelen genotiplerden en yüksek genotipik frekansı CC/AA genotiplilerin (0.315) olduğunu, bunu CT/AA (0.272) ve CC/AB (0.142) genotiplilerin izlediğini ve geri kalan genotiplerin frekanslarının ise 0.100'ü geçmediğini bildirmişlerdir. *Hph*I polimorfizmi bakımından ortalama olarak C alleli frekansını 0.760 ve T alleli frekansını 0.240, *Sau3*AI polimorfizmi bakımından ise A, B ve C allel frekanslarını sırasıyla 0.805, 0.114 ve 0.081 olarak tespit etmişlerdir. Birinci, ikinci ve üçüncü laktasyondaki inekler dikkate alınarak yapılan analiz sonucunda laktasyon süt verimleri bakımından CC/BB genotiplilerin I. II. ve II. laktasyon süt verimlerini sırasıyla 5789, 7577 ve 8027 kg olarak tespit etmişler ve en yüksek laktasyon süt verim ortalamasına bu genotiplerin sahip olduğunu, CC/BB ile CC/BC genotiplilerin II. ve III. laktasyon süt verim farklılıklarını istatistik olarak önemli düzeyde belirlemişlerdir ($P \leq 0.01$). I., II. ve III. laktasyonlar için en yüksek ortalama günlük süt verimlerini sırasıyla TT/AB (30.1 kg), CC/CC (34.8 kg) ve CC/BB (35.3 kg) genotiplilerde belirlenmiş ve TT/CC-CC/BC (8.9 kg) ile CC/BB-CT/AC (5.5 kg) genotiplilerin ortalama günlük süt verim farklılıklarını II. ve III. laktasyon için istatistik olarak önemli bulmuşlardır ($P \leq 0.01$). Protein ve yağ verimleri bakımından CC/BB genotipli hayvanların II. laktasyondaki CC/BC genotipliler ile III. laktasyondaki CT/AB genotiplilerden farklılıklarını (72.6 kg ve 74.8 kg) istatistik olarak önemli düzeyde tespit ederken, % protein ve % yağ içerikleri bakımından genotip ortalamaları bakımından istatistik olarak önemli bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak her iki mutasyon dikkate alınarak yapılan analiz sonucunda CC/BB genotipli hayvanların istatistik olarak süt, yağ ve protein verimleri bakımından diğerlerine kıyasla daha yüksek ortalamalara sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Kulig (2005b), 905 baş Polonya Siyah Alaca ineğe ait süt verim özellikleriyle leptin geni LEP/*Hph*I ile LEP/*Sau3*AI genotipleri arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, *Hph*I polimorfizmi bakımından CC, CT ve TT genotip frekanslarını sırasıyla 0.582, 0.364 0.054, *Sau3*AI polimorfizmi bakımından ise AA, AB, AC, BB, BC ve CC genotip frekanslarını sırasıyla 0.638, 0.189, 0.137, 0.015, 0.013 ve 0.008 olarak tespit ederlerken, bu genotiplerle süt, yağ ve protein verim özellikleri arasındaki ilişkileri istatistik olarak çok önemli olduğunu bildirmişlerdir ($P \leq 0.01$). Çalışmada *Hph*I polimorfizmi bakımından CC ve *Sau3*AI polimorfizmi bakımından ise BB genotipinde olan ineklerin daha yüksek ortalamalara sahip olduklarını ifade etmişlerdir.

Komisarek ve Dorynek (2005), döl kontrolüne tabi olan 213 baş Polonya Siyah Alaca boğada (108 başı % 94 oranında Siyah Alaca geni taşımakta) leptin geninin ekzon 2 bölgesindeki C/T (Arg25Cys) baz değişikliği ile ekzon 3 bölgesindeki C/T (Ala80Val) baz değişikliği sonucu meydana gelen polimorfizm sonucu CC, CT ve TT genotipleri ile C/T allel frekanslarını sırasıyla *Kpn*2I için 0.26, 0.56 ve 0.18 ile 0.54/0.46, *Eco*91I için 0.50, 0.41 ve 0.09 ile 0.71/0.29 olarak belirlemişlerdir.

Ghazanfari ve ark. (2006), İran'da İsviçre Esmeri sığırlarda süt verimi ve üreme özellikleri (laktasyon süresi-servis periyodu) ile leptin geni arasındaki ilişkileri tespit etmek amacıyla toplam 104 hayvan üzerinde leptin geninin 422 bç fragmentinin PCR ile çoğaltarak *Bst*MB1 (*Sau3*AI) restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda genotip frekanslarını AA için 0.64, AB için 0.36 ve BB için de 0.01 olarak tespit etmişler ve allel frekanslarını ise A alleli için 0.82, B alleli için de 0.18 olarak tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda AB genotipinde olan hayvanların ilk 60 ve 100 günlük süt verimi üzerine pozitif yönde önemli derecede ($P<0.01$), AA genotipli hayvanların da üreme özellikleri üzerine pozitif yönde önemli bir etkiye ($P<0.05$) sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Heravi Moussavi ve ark. (2006), İran Siyah Alaca sığırlarında bir önceki (tamamlanmış) süt verimi (laktasyonun ilk 60 günlük periyodu-305 günlük süt verimi) ve üreme özellikleri (İlk damızlıkta kullanma yaşı-servis periyodu-İDKY'dan gebe kaldığı günler arası veya ilkine servis periyodu) kayıtlarını kullanarak bu özellikler ile leptin geni (*Sau3*AI_422 bç) arasındaki ilişkileri tespit etmek amacıyla toplam 238 hayvan üzerinde araştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. Araştırıcılar AA ve AB genotiplerinin frekanslarını sırasıyla 0.89 ve 0.11 olarak belirlemişler ve laktasyonun ilk 60 günlük periyodu için süt verimini AA genotipliler için 2288 kg ve AB genotipliler için 2377 kg ($P=0.21$), 305 günlük laktasyon süt verimini AA genotipliler için 9479 kg

ve AB genotipliler için 9550 kg (P=0.03) olarak tespit etmişlerdir. Üreme özelliklerinde ise AA ve AB genotipliler için sırasıyla ilk damızlıkta kullanma yaşını 71.04 ± 8.8 g ve 67.97 ± 12.2 g (P=0.77), servis periyodunu 126.75 ± 18.7 g ve 119.86 ± 28.1 g (P=0.79), ilk servis periyotlarını ise 50.23 ± 20.7 g ve 46.18 ± 28.7 g (P=0.49) olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak 305 günlük süt veriminde AB genotiplilerin AA genotiplilere kıyasla daha fazla süt verimine sahip olduklarını (P<0.05) ve 305 günlük süt verimine yılın, mevsimin, buzağılama yaşının ve babalarının etkili olduklarını (P<0.01) ve 305 günlük süt verimindeki AB genotipli hayvanların gösterdikleri üstünlüğün laktasyonun ilk 60 günlük periyodu içinde aynı şekilde tespit edildiğini ve 60 günlük süt verimlerine ise yılın, buzağılama yaşının ve babalarının etkili olduklarını (P<0.01) bildirmişlerdir. Üreme özellikleri üzerine ise genotipin etkisi önemsiz bulunmuş olup, yetiştirme programlarında üreme özelliklerini ters yönde etkilemeden 305 günlük süt verimi bakımından en ideal allelin B alleli olduğunu ifade etmişlerdir.

Kong ve ark. (2006), Kore'nin yerli sığırlarından olan 275 baş Hanwoo sığırlarında leptin geninin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmi ile gerçek zamanlı ultrasonik yöntem kullanarak belirlenen göz kası alanı, yağlılık durumu ve mermerleşme skoru gibi özellikler arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, CC, CT ve TT genotipleri ile C/T allel frekanslarını sırasıyla 0.262, 0.476 ve 0.262 ile 0.50/0.50 olarak tespit etmişlerdir. *Kpn*2I polimorfizmi sonucu CC genotipli bireylerin yağlılık (4.23 mm) ve göz kası alanı (57.57 cm^2) bakımından TT genotiplilerden sırasıyla 3.14 mm ve 53.93 cm^2 daha yüksek ortalamaya sahip olduklarını (P<0.05), fakat mermerleşme skoru bakımından genotipler arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir (P>0.05). Hem yağlılık hem de göz kası alanında CC ve CT genotipleri ile CT ve TT genotipleri arasındaki fark istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

Nassiry ve ark. (2007), İran yerli sığır ırklarından 76 baş Golpayani ve 64 baş Taleshi sığırlarında leptin geninin ekzon 3 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada, CC/CT/TT genotip frekansları, C/T allel frekansları ve heterozigotluk değerlerini Golpayani sığırlarında 0.42/0.58/0.00, 0.71/0.29 ve 0.41 olarak, Taleshi sığırlarında 0.36/0.36/0.27, 0.55/0.45 ve 0.51 olarak belirlemişlerdir. Ayrıca her iki populasyonun Hardy–Weinberg dengesinde olmadığını (P<0.05) bildirmişlerdir.

Komisarek ve Antkowiak (2007), 219 baş Jersey sığırında RFLP tekniği kullanarak leptin genindeki R4C (*Kpn*2I), A59V (*Hph*I) ve C(-963)T polimorfizmleri ile

ilk buzağılama yaşı, servis periyodu, buzağılama aralığı, gebelik başına tohumlama sayısı ve gebelik süresi gibi üreme özellikleri arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, C ve T allel frekanslarını sırasıyla R4C ve A59V polimorfizmleri için 0.80/0.20 ve 0.67/0.33 olarak tespit etmişlerdir. R4C ve C(-963)T polimorfizmleri ile üreme özellikleri arasında herhangi bir ilişki tespit edemediklerini, fakat A59V polimorfizmi bakımından TT genotipli bireylerin CT ve CC genotiplilere kıyasla daha kısa buzağılama aralığı, servis periyodu ve gebelik başına tohumlama sayısına sahip olduklarını bildirmişlerdir ($P \leq 0.05$).

Alashawkany ve ark. (2008), İran'da yetiştirilen 161 baş Siyah Alaca sığırda leptin geninin ekzon 3 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmi ile servis periyodu ve 60, 100 ve 305 günlük laktasyon süt verimleri arasındaki ilişkileri tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında söz konusu polimorfizm bakımından allel ve genotip frekansları ile ilgili herhangi bir bilgi vermemektedirler. İlişki analizi sonucunda TT genotipli hayvanların CC genotiplilerden 60 ve 100 günlük süt verimleri bakımından sırasıyla 1.7 kg/gün ve 1.5 kg/gün daha fazla süt verdiklerini ($P<0.028$), ancak 305 günlük süt verimleri bakımından herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte üreme özelliklerinden servis periyodu bakımından da herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir.

Chebel ve ark. (2008), 356 baş ilk laktasyonunda olan ve 458 baş birden fazla laktasyona sahip toplamda 814 baş Siyah Alaca ineğe ait tekrarlanan ölçümlerle kontrol günlerinde tespit edilmiş olan laktasyon performansları (305 günlük laktasyon süt verimi, % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein yüzdeleri ve somatik hücre skoru), sağlık bozuklukları (plasentanın tutulması, abomasum kayması, mastitis, topallık, herhangi bir hastalık veya birden fazla hastalığa sahip olma) ve üreme performansları (buzağılama skoru, güç doğum oranı, dişi buzağı oranı, ikizlik oranı) ile leptin geni ekzon 2 bölgesi R4C (*Kpn*2I) polimorfizmi arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Söz konusu polimorfizm bakımından CC, CT ve TT genotip ve C/T allel frekanslarını sırasıyla 0.346, 0.482 ve 0.172 ile 0.587/0.413 olarak belirlemişler ve C ve T allelini taşıyan hayvanların frekansını sırasıyla 0.828 ve 0.654 olarak bildirmişlerdir. Vücut kondüsyon skoru bakımından laktasyonun ilk 62 günlük sürecinde CT genotipli ineklerin (2.98) CC (3.02) ve TT (3.04) genotiplilere kıyasla daha düşük değerlere sahip olduklarını ($P=0.09$), özellikle CT genotiplilerin TT genotiplilerden daha düşük vücut kondüsyon skoruna sahip olduklarını ($P=0.05$) bildirmişlerdir. Araştırıcılar hayvanların kontrol günü süt verimleri, yağ ve protein

yüzdeleri ile genotipler arasında istatistik olarak herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir (P>0.05). Kontrol günü protein yüzdeleri ile genotipler arasında istatistik olarak herhangi bir ilişki olmamasına rağmen (P=0.28), birden fazla laktasyona sahip olan CC ve TT genotipli hayvanların protein yüzdeleri bakımından tek laktasyona sahip olanlardan daha yüksek değerler aldıklarını ve önem seviyelerinin P=0.04 gibi seviyelerde değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte % 3.5 yağa göre düzeltilmiş kontrol günü süt verimleri ile genotipler arasında bir ilişki söz konusu olup (P=0.02), CC genotiplilerin (39.2 kg/gün) CT (40.8 kg/gün, P=0.01) ve TT (40.9 kg/gün, P=0.04) genotiplilerden daha düşük değerlere sahip olduklarını bildirmişlerdir. Kontrol günü yağ verimleri ile genotipler arasında olan ilişkide (P=0.02), CC genotipliler (1.37 kg/gün) diğer iki genotipe sahip hayvanlardan (1.43 kg/gün) düşük değerlere sahip olmuşlardır. Kontrol günü protein verimleri ile genotipler arasındaki ilişki (P<0.04) bakımından ise yine CC genotiplilerin (1.15 kg/gün) CT (1.19 kg/gün) ve TT (1.18 kg/gün) genotiplilerden daha düşük değerlere sahip oldukları bildirilmiştir. 305 günlük laktasyon süt verimi, % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein yüzdeleri bakımından CC genotipli homozigot hayvanların CT ve TT genotiplilerden daha düşük değerler aldığını, özellikle CT genotiplilerin CC genotiplilere kıyasla söz konusu özellikler bakımından sırasıyla 282 kg (P=0.07), 258 kg (P=0.04), 12 kg (P=0.05) ve 10.7 kg (P=0.01) daha yüksek ortalamalara sahip olduklarını bildirmişlerdir. Somatik hücre skoru bakımından ise CT (2.79) genotipli hayvanlar CC (2.55) ve TT (2.48)'lere kıyasla daha yüksek değerler almasına karşılık önem seviyesi P=0.07 olarak bulunmuştur. Sağlık bozuklukları özellikleri ile yapılan ilişki analizi sonucunda özelliklerin tümünde CT genotipliler en düşük değerleri almakla birlikte, abomasum kayması (P=0.02), herhangi bir hastalığa sahip olma (P=0.004) ile birden fazla hastalığa sahip olma (P=0.10) bakımından CT genotipli hayvanların diğerlerine kıyasla tercih edilebilir olduğu ifade edimekle birlikte üreme performansları ile genotipler arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir. Kısaca araştırıcılar CT genotipine sahip ineklerin laktasyonun ilk 62 günlük döneminde CC ve TT'lere kıyasla daha düşük vücut kondüsyon skoruna sahip olduklarını, bununla birlikte % 3.5 yağa göre düzeltilmiş kontrol süt verimi, kontrol yağ ve kontrol protein verimleri ile % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip oldukları bildirilmektedir. Ayrıca TT genotipli hayvanların CT genotipliler gibi % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi bakımından benzer bir ortalamaya sahip olduklarını fakat vücut kondüsyon skorlarının

daha yüksek olması yem tüketimleri, enerji tüketimleri ve depolamalarının daha yüksek olacağına işaret ettiğinden dolayı çiftleştirme programlarında heterozigotların verim ve sağlık özelliklerindeki bu üstünlüklerinden dolayı populasyonda frekanslarının artırılması gerektiği bildirilmektedir.

Sadeghi ve ark. (2008), İran'da döl kontrolüne tabi olan 134 Siyah Alaca boğanın süt, yağ ve protein verimlerinin yanı sıra yağ ve protein yüzdeleri bakımından hesaplanan damızlık değerleri ile leptin geni *Kpn*2I polimorfizmi arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada CC, CT ve TT genotip frekanslarını sırasıyla 0.366, 0.418 ve 0.216 olarak, C ve T allel frekanslarını ise 0.575 ve 0.425 olarak bulmuşlar ve söz konusu polimorfizm bakımından populasyonun dengede olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırıcılar TT genotipli boğaların CT ve CC genotiplilere kıyasla süt, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek damızlık değerlerine sahip olduklarını ($P<0.05$) bildirmekle birlikte CC genotipli boğaların TT genotiplilerden daha yüksek protein yüzdesine ($P<0.05$) sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca C→T baz değişikliği ile süt veriminde 139.5 kg, yağ veriminde 2.1 kg ve protein veriminde 1.83 kg'lık bir artışın meydana geldiğini, fakat yağ ve protein yüzdelerinde ise -0.024 ile -0.019'luk bir azalışın meydana geldiğini ifade etmektedirler.

Nassiry ve ark. (2008), İran'da 86 baş Sarabi, 66 Baş Taleshi, 94 baş Sistani, 76 baş Golpayegani, 161 baş Siyah Alaca ve 104 baş Esmer sığır ırkı olmak üzere toplamda 587 baş sığırda leptin genin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, C/T allel frekansları ile heterozigotluk değerlerini (H_b) söz konusu sığır ırklarında sırasıyla 0.68/0.32 ile 0.4390, 0.55/0.45 ile 0.4997, 0.69/0.29 ile 0.4289, 0.71/0.29 ile 0.4141, 0.57/0.43 ile 0.4922 ve 0.55/0.45 ile 0.485 olarak tespit ederek CC ve CT genotiplerinin 6 sığır ırkında gözlendiğini fakat TT genotipinin sadece Taleshi, Sistani ve Siyah Alaca sığırlarda gözlendiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırıcılar C allelilin frekansını 6 sığır ırkında T allelinden yüksek bulmuşlardır.

Kulig ve ark. (2009), Polonya'da yetiştirilen 181 baş Jersey sığırında leptin geninin ekzon 3 bölgesindeki *Hph*I (331 bç) polimorfizmi ve *Hph*I polimorfizmi ile intron 2 bölgesindeki *Sau3A*I (1820 bç) polimorfizmlerini birlikte dikkate alarak süt, yağ ve protein verimleri ile süt ve yağ yüzdeleri bakımından ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *Hph*I polimorfizmi bakımından CC, CT ve TT genotip frekansları ile C ve T allel frekanslarını sırasıyla 0.52, 0.40 ve 0.08 ile 0.72 ve 0.28 olarak, *Sau3A*I polimorfizmi bakımından (çalışmalarında A ve B allelleri C ve T

allelleri olarak tanımlanmış) AA, AB ve BB genotip frekansları ile A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.30, 0.57 ve 0.13 ile 0.59 ve 0.41 olarak bildirmişlerdir. Her iki polimorfizm bakımından TT/BB haplotipleri dışındaki CC/AA, CC/AB, CC/BB, CT/AA, CT/AB, CT/BB, TT/AA ve TT/AB haplotip frekaslarını ise sırasyla 0.11, 0.29, 0.11, 0.12, 0.27, 0.02, 0.07 ve 0.01 olarak tespit etmişlerdir. Haplotip frekanslarından en yüksek frekansa CC/AB haplotipliler sahip olmuşlardır. Süt verim özellikleri ile yapılan ilişki analizi sonucunda *Hph*I (A59V) polimorfizmi sonucunda TT genotipli hayvanların CC ve CT genotiplilere kıyasla sırasıyla 173 ve 177 kg daha az süt (P≤0.01), 10.6 ve 15.3 kg daha az yağ (P≤0.05), ve 7.6 ve 7.8 kg protein (P≤0.01) verimlerine sahip olduklarını, ancak süt ve protein yüzdeleri bakımından herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir. *Sau3*AI polimorfizmi bakımından ise herhangi bir ilişkinin olmadığını, ancak BB genotipli hayvanların yüksek süt, yağ ve protein verimlerine, AA genotipli hayvanların da yüksek yağ ve protein yüzdelerine sahip olduklarını ifade etmişlerdir. *Hph*I polimorfizmi ile birlikte meydana gelen haplotiplerden TT/AA haplotiplilerin toplam yağ ve protein verimi bakımından CC/BB ve CT/AA haplotiplilerden daha düşük (P≤0.01) değerlere sahip olduklarını ve ayrıca CT/AA haplotiplilerin yağ yüzdeleri bakımından CC/BB (P≤0.01), CT/AB (P≤0.05) ve CC/AB (P≤0.05) haplotiplilerden daha yüksek değerlere sahip olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca CC/BB haplotiplerinin süt ve protein verimlerini düşürmeden sütün yağ yüzdesi üzerine düşürücü bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (P≤0.01).

Kulig ve Kmieć (2009), 129 baş Limuzin buzağısının 3., 210. ve 365. gün canlı ağırlığı, 3. günden 210. ve 365 güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı, cidago ve sakrum yüksekliği ile göğüs çevresi gibi özelliklerle leptin geni *Hph*I (331 bç) ve *Sau3*AI (1820 bç) genotipleri arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, *Hph*I polimorfizmi bakımından CC, CT ve TT genotip frekansları ile C ve T allel frekanslarını sırasıyla 0.54, 0.39 ve 0.07 ile 0.74 ve 0.26 olarak, *Sau3*AI polimorfizmi bakımından A ve B allellerini C ve T allelleri olarak tanımlanmış olup, AA, AB ve BB genotip frekansları ile A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.65, 0.33 ve 0.02 ile 0.81 ve 0.19 olarak bildirmişlerdir. Her iki polimorfizm bakımından CT/BB ve TT/BB haplotipleri dışındaki CC/AA, CC/AB, CC/BB, CT/AA, CT/AB, TT/AA ve TT/BB haplotip frekaslarını ise sırasyla 0.33, 0.19, 0.02, 0.26, 0.13, 0.06 ve 0.01 olarak tespit etmişlerdir. *Hph*I (A59V) polimorfizmi sonucunda TT genotipli hayvanların CC genotiplilere kıyasla 210. gün canlı ağırlığı ile 3. günden 210. güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı bakımından sırasıyla 19.1 kg (P≤0.05) ve 78.3 g (P≤0.01)

daha fazla ortalamaya sahip olduğunu ve TT genotipli hayvanların seleksiyonda seçilmesinin canlı ağırlığı artırmada katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir. *Sau3*AI polimorfizmi bakımından ise her hangi bir ilişkinin olmadığını (P>0.05), ancak *Hph*I polimorfizmi ile birlikte meydana gelen haplotiplerden CT/AB haplotiplilerin 3. günden 210. güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı bakımından CC/AA ve CC/AB haplotiplilerden 73.8 g (P≤0.05) daha yüksek değerlere sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca 365. gün canlı ağırlığı, 365 güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı, cidago ve sakrum yüksekliği ile göğüs çevresi gibi özelliklerle leptin polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir.

Carşai (2009), 88 baş Bălţată Românească ve 64 baş Brună de Maramureş sığır ırklarında leptin geninin intron 2 bölgesindeki *Sau3*AI polimorfizmi bakımından AA, AB ve BB genotipleri ile A/B allel frekanslarını Bălţată Românească sığırlarında sırasıyla 0.60, 0.36 ve 0.04 ile 0.78/0.22 olarak, Brună de Maramureş sığırlarında ise sırasıyla 0.62, 0.38 ve 0.00 ile 0.81/0.19 olarak bulmuşlardır. Araştırıcı leptin geninin intron 2 bölgesindeki diğer bir polimorfizm olan *Bsa*AI polimorfizmi bakımından ise her iki sığır ırkında AA ve AG genotiplilerin gözlendiğini belirtmiş ancak genotip ve allel frekanları ile ilgili herhangi bir bilgi vermemişlerdir.

Jawasreh ve ark. (2009), Ürdün'de yetiştirilen yerli sığırlar (36 baş) ile Siyah Alacalarda (45 baş) leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI (422 bç) polimorfizmini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada AA, AB ve BB genotip ve A/A allel frekansları ile heterozigotluk değerlerini yerli sığırlarda sırasıyla 0.629, 0.296 ve 0.074, 0.777/0.223 ile 0.346, Siyah Alaca sığırlarda sırasıyla 0.619, 0.309 ve 0.071, 0.774/0.226 ile 0.346 olarak bulmuşlardır.

Dandapat ve ark. (2010), leptin geninin ekzon 3 bölgesi *Hph*I polimorfizmini Hindistan'da yetiştirilen 30 baş saf Sahiwal sığırı (*Bos indicus*) ile 70 baş *Bos taurus* x *Bos indicus* (Jersey x Siyah Alaca x Sahiwal) melezi sığırlarda tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, Sahiwal sığırlarında mutant allel olan T (V) alleline rastlamadıklarını ve 30 baş hayvanın tümünün CC (AA) genotipli olduklarını bildirmişlerdir. *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi sığırlarda ise mutant allel olan T allelinin var olduğunu, genotip frekanslarını CC, CT ve TT için sırasıyla 0.57, 0.36 ve 0.07, C ve T allel frekanslarını ise 0.75 ile 0.25 olarak tespit etmişlerdir. Bununla birlikte *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi sığırlarda mutant allelin varlığının Jersey ve Siyah Alaca sığırlardan kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Öztabak ve ark. (2010), 40'ar baş Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Boz ırk sığırlarda *Kpn*2I (94 bç), *Sau3*AI (1820 bç) ve *Hph*I (458 bç) polimorfizmini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *Sau3*AI polimorfizmi bakımından populasyonların Hardy–Weinberg dengesinde olduğunu (P>0.05), *Kpn*2I polimorfizmi bakımından üç sığır ırkının ve *Hph*I polimorfizmi bakımından ise sadece Güney Anadolu Kırmızısı sığırların Hardy–Weinberg dengesinde olmadığını (P<0.05) bildirmişlerdir. *Kpn*2I polimorfizmi bakımından en yüksek T alleli frekansını Güney Anadolu Kırmızılarında (0.58), en düşük T alleli frekansını ise Boz ırk sığırlarında (0.45) tespit etmişler ve genotip frekanslarından CT genotipliler (0.65, 0.67 ve 0.70) en yüksek frekanlara sahip olmuşlardır (Çizelge 2.1c). *Sau3*AI polimorfizmi bakımından her üç ırkta da B (0.19, 0.26 ve 0.30) ve C (0.09, 0.03 ve 0.02) allellerinin frekanslarını A (0.72, 0.71 ve 0.68) alleline kıyasla daha düşük bulduklarını bildirmekle birlikte BB ve AC genotip frekanslarını çok düşük seviyelerde tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırıcılar CC ve BC genotiplileri populasyonlarda hiç gözleyememişlerdir (Çizelge 2.2d). *Hph*I polimorfizmi bakımından ise A (C) allelinin frekansını populasyonlarda sırasıyla 0.89, 0.86 ve 0.89 olarak bulurlarken, AA (CC) genotip frekanslarını sırasıyla 0.83, 0.78 ve 0.80 olarak bildirmişlerdir (Çizelge 2.3c). Araştırıcılar söz konusu leptin polimorfizmlerinin her üç ırkta da eşit seviyelerde belirlendiklerini ve dikkate değer bir farklılığın olmadığını ifade etmekle birlikte *Kpn*2I polimorfizmi bakımından T allelinin, *Sau3*AI polimorfizmi bakımından ise B ve C allellerinin verim özellikleri ile ilişkili olabileceğini önermektedirler.

Brickell ve ark. (2010), 385 baş Siyah Alaca düvenin ilk doğumlarındaki perinatal ölüm oranları ile leptin geni ekzon 2FB bölgesindeki SNP polimorfizmi (*Kpn*2I) arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, söz konusu polimorfizm bakımından CC, CT ve TT genotip ve C/T allel frekanslarını sırasıyla 0.35, 0.48 ve 0.17 ile 0.59/0.41 olarak belirlemişler ve söz konusu gen bölgesi bakımından populasyonun dengede olduğunu ifade etmişlerdir. 385 baş düvenin ilk buzağılamadaki perinatal ölüm oranını % 16.9 olarak tespit ederek, CT (% 20.2) ve TT (% 19.4) genotipliler CC genotiplilere (% 11.1) kıyasla 2 kat daha fazla perinatal ölüm oranına sahip olduklarını bildirmişlerdir. *Kpn*2I polimorfizmi bakımından T allelinin yüksek süt verimi ile ilişkili olmasından dolayı süt verimini yükseltmek için T alleli lehine yapılacak bir seleksiyonda perinatal ölüm oranlarının artmasının muhtemel olabileceği bildirilmektedir.

Giblin ve ark. (2010), İrlanda'da uluslararası döl kontrolüne tabi olan 848 baş Siyah Alaca boğanın 43.117 kızının laktasyon kayıtlarını kullanarak performans özellikleri ile leptin geninin reseptör, promotor ve kodlama bölgelerindeki SNP'ler ile ilişkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, kodlama bölgesindeki R25C (*Kpn*2I) ve A80V (*Hph*I) polimorfizmleri bakımından CC, CT ve TT genotipleri ile C/T allel frekanslarını sırasıyla 0.40, 0.47 ve 0.13, 0.63/0.37 ile 0.49, 0.44 ve 0.07, 0.61/0.29 olarak bulmuşlar ve her iki SNP bölgesi bakımından populasyonun dengede olduğunu ifade etmişlerdir. Performans özellikleri bakımından R25C polimorfizminde T allelinin daha kısa gebelik süresi ve doğum kolaylığı ($P<0.05$) ile ilişkili olmasından dolayı kısa süren gebelik süresinden dolayı doğumda buzağının daha düşük canlı ağırlıkta doğması ve sonuçta perinatal ölüm oranının yüksek olmasının meydana gelebileceğini bildirilmiştir. Bununla birlikte T allelinin somatik hücre sayısı, süt, yağ ve protein verimleri ile herhangi bir ilişkisi tespit edilememiş ($P>0.05$), ancak yağ ve protein yüzdesini artırıcı bir etkisinin olduğu bildirilmektedir ($P<0.05$). A80V polimorfizmi bakımından ise T allelinin sürüde yaşama gücünü azaltıcı bir etkiye sahip olduğunu ($P<0.05$), diğer özellikler bakımından herhangi bir ilişkisinin tespit edilemediği bildirilmiştir. Kalça dolgunluğu, vücut kondüsyon skoru ve karkas yağlanması gibi özellikler bakımından hem R25C hem de A80V polimorfizmlerinin herhangi bir ilişkisi olmayıp ($P>0.05$), söz konusu SNP'lerden sadece Y7F (ekzon 2'de tirosin amino asitinin fenilalanin amino asitine dönüşümü) polimorfizmindeki A/T baz değişikliği sonucu T allelinin kalça dolgunluğunu düşürücü bir etkisi ($P<0.01$) ile birlikte protein verimini de ($P<0.05$) düşürücü bir etkisinin olduğunu, ayrıca vücut kondüsyon skorunu artırıcı, süt verimi ile gebelik süresini kısaltıcı bir eğilim içerisinde ($P<0.10$) bulunduğunu ifade ederek enerji depolanması ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Souza ve ark. (2010), 3 farklı Nelore populasyonundan (*Bos indicus*) toplamda 350 baş sığırın doğum ağırlığı, 210. gün sütten kesim ağırlığı, 550. gün canlı ağırlığı, sağrı yüksekliği, göz kası alanı, sırt bölgesi yağlılığı (backfat thickness) ve sağrı bölgesi yağlılığı (rump fat thickness) ile leptin geni intron 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Çalışmalarında AA, AG ve GG genotipleri ile A/G allel frekanslarını sırasıyla kontrol populasyonunda 0.26, 0.41 ve 0.33 ile 0.46/0.54, selekte edilmiş populasyonda 0.23, 0.52 ve 0.25 ile 0.49 ve 0.51, geleneksel populasyonda 0.28, 0.49 ve 0.23 ile 0.53/0.47 olarak belirlemekle birlikte genelde 0.26, 0.49 ve 0.25 ile 0.50/0.50 olarak tespit etmişlerdir. *Bsa*AI polimorfizmi bakımından AA genotipli sığırların sütten kesim ağırlığı bakımından (180.78 kg) AG

(175.89 kg) ve GG (172.62 kg) genotipli sığırlardan istatistik olarak daha fazla ortalamaya sahip olduğunu bildirmişlerdir (P=0.03). Doğum (P=0.08) ve 550. gün canlı ağırlıkları (P=0.06) bakımından da AA genotipli hayvanlar en yüksek ortalamaya sahip olmakla birlikte P=0.05 önem seviyesine yönelik bir eğilime sahip oldukları anlaşılmıştır. Araştırıcılar, 210. gün canlı ağırlıkları bakımından önemli bulunan AA genotipli hayvanların doğum güçlüğüne neden olmayacak şekilde seleksiyonda tercih edilmesinin 30 kg kadar düşük doğum ağırlığına sahip olan Nelore sığırlarının doğum ağırlığını artırabileceğini ifade etmişlerdir. Söz konusu diğer özellikler ile *Bsa*AI genotipleri arasında istatistik olarak herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (P>0.05).

Yazdani ve ark. (2010), İran'da yetiştirilen 4 farklı Siyah Alaca populasyonundan aldıkları kan örnekleri ile toplam 255 baş sığırda leptin geninin ekzon 3 bölgesindeki 331 bç'lik A59V polimorfizmi ile buzağılama aralığı, servis periyodu ve gebelik süresi gibi özellikler bakımından ilişkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, BB (TT) genotip frekanslarını düşük seviyelerde bularak ortalamada AA (CC), AB (CT) ve BB (TT) genotipleri ile A/B (C/T) allel frekanslarını sırasıyla 0.558, 0.388 ve 0.024 ile 0.782/0.218 olarak belirlemişlerdir. *Hph*I polimorfizmi ile üreme özellikleri arasındaki ilişki analizinde genotipler arasında buzağılama aralığı ve servis periyodu bakımından herhangi bir farklılığın olmadığını (P>0.05), fakat gebelik süresi bakımından AA (CC) genotiplilerin (279.17 gün) hem AB (CT) (276.96 gün) hem de BB (TT) (274.8 gün) genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip olduğunu bildirmişlerdir (P≤0.05).

Javanmard ve ark. (2010), İran'da yetiştirilen 66 baş Siyah Alaca boğanın süt ve yağ verim özellikleri ile leptin geninin intron 2 bölgesindeki 422 bç'lik gen bölgesinin *Sau3*AI polimorfizmi arasındaki ilişkileri incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, söz konusu gen bölgesi bakımından AA, AB ve BB genotipleri ile A/B allel frekanslarını sırasıyla 0.90, 0.10 ve 0.00 ile 0.95/0.05 olarak belirlemişlerdir (P≤0.21). Verim özellikleri açısından boğalarda hesaplanan damızlık değeri ile genotipler arasındaki ilişki analizinde süt verimi ile istatistik olarak herhangi bir ilişkiyi tespit edemediklerini, ancak AB genotipli boğaların (43.41 kg) AA genotiplilere kıyasla daha yüksek yağ verimine sahip olduklarını ifade etmişlerdir (P≤0.005).

Kulig ve ark. (2010), 181 baş Jersey sığırında leptin geninin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I (R4C_94 bç), intron 2 bölgesi *Sau3*AI (1820 bç) ve ekzon 3 bölgesi *Hph*I (A59V_331 bç) kesim bölgeleri ile mastitisin erken dönemde bir göstergesi olan sütteki somatik hücre sayısı ile ilişkilerini inceledikleri çalışmalarında, *Kpn*2I polimorfizmi

bakımından CC genotipi ile C allelinin, Sau3AI polimorfizmi bakımından BB genotipi ile B allelinin somatik hücre sayısını düşürücü bir etkisinin olduğunu bildirmişlerdir (P≤0.01). *Kpn*2I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından CC/BB haplotiplerinin somatik hücre sayısını düşürücü bir etkisinin olmasınının bu ilişkileri doğruladığını ifade etmişlerdir (P≤0.01). Ayrıca *Hph*I polimorfizminin tek başına somatik hücre sayısı üzerine bir etkisi bulunmamakla birlikte, somatik hücre sayısını *Kpn*2I/*Hph*I haplotipleri bakımından TT/CC haplotiplilerin artırdığı (P≤0.05), *Hph*I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından ise CT/BB haplotiplilerin azalttığı (P≤0.05) bildirilmiştir. Çalışmada CC, CT ve TT genotipleri ile C/T allel frekanlarını *Kpn*2I ve *Hph*I polimorfizmleri bakımından sırasıyla 0.514, 0.436 ve 0.05 ile 0.732/0.268 ve 0.519, 0.403 ve 0078 ile 0.721/0.279 olarak, *Sau*3AI polimorfizmi bakımından AA, AB ve BB genotipleri ile A/B allel frekanslarını ise sırasıyla 0.298, 0.575 ve 0.127 ile 0.586/0.414 olarak tespit etmişlerdir.

Kaygısız ve ark. (2011), 38 baş Doğu Anadolu Kırmızısı, 45 baş Yerli Kara ve 16 baş Esmer sığırda leptin geni ekzon 2 bölgesi Arg25Cys polimorfizminin *Bam*HI kesim enzimi ile kesimi sonucu CC, CT ve TT geotipleri ile C/T allel frekanslarını sırasıyla 0.21, 0.50 ve 0.29 ile 0.46/0.54, 0.24, 0.56 ve 0.20 ile 0.52/0.48 ve 0.19, 0.56 ve 0.25 ile 0.47/0.53 olarak bulmuş ve üç sığır ırkının da Hardy–Weinberg dengesinde olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar Arg25Cys polimorfizmi ile vücut ölçülerinden sadece göğüs çevresi ile olan ilişkisini Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara sığırlarında araştırmış olmakla birlikte Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarda herhangi bir ilişki bulamamışlardır (P>0.05). Fakat Yerli Kara sığırlarda TT genotipli sığırların (153 cm) CC (133.25 cm) ve CT (137.45 cm) genotiplilerden daha yüksek göğüs çevresi ortalamasına sahip oldukları bildirilmiştir (P<0.05).

Leptin geni ile ilgili olarak özellikle mevcut çalışmadaki polimorfizmler ile verimler arasındaki ilişkilerin daha iyi anlaşılması için takip eden sayfalarda polimorfizmlerden *Kpn*2I için Çizelge 2.1a,b,c,d; *Sau3*AI için Çizelge 2.2a,b,c,d,e; *Hph*I için 2.3a,b,c,d ve *Bsa*AI için Çizelge 2.4 hazırlanmıştır.

Çizelge 2.1a. Leptin geni ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Buchanan ve ark. (2002) 94 bç	Angus	60	-	-	-	0.42	0.58	0.487*	T alleline sahip hayvanların karkasları daha fazla yağlanmakta, Avrupalı ırklara göre ergenliğe erken ulaşan Britanya ırklarında T alleli frekansları (Angus, Hereford) yüksek, TT genotipli hayvanların kesim zamanlarında leptin mRNA miktarları yüksek
	Şarole	55	-	-	-	0.66	0.34	0.449*	
	Hereford	22	-	-	-	0.45	0.55	0.495*	
	Simmental	17	-	-	-	0.68	0.32	0.435*	
	Genel	154	-	-	-	0.54	0.46	0.497*	
Buchanan ve ark. (2003) 94 bç	Siyah Alaca	416	-	-	-	0.54	0.46	0.497*	Siyah Alaca sığırlarda laktasyon boyunca günlük olarak TT genotipliler CC genotiplilere göre 1.5 kg daha fazla süt verimi ve 43 g/gün daha fazla protein verimine sahip, yağ verimindeki azalma ise önemsiz ve ancak yüksek somatik hücre skoruna sahipler
	Ayrshire	17	-	-	-	0.38	0.62	0.471*	
	İsviçre Esmeri	21	-	-	-	0.55	0.45	0.495*	
	Canadienne	9	-	-	-	0.89	0.11	0.196*	
	Guernsey	16	-	-	-	0.94	0.06	0.113*	
	Jersey	20	-	-	-	0.47	0.53	0.498*	
Leifers ve ark. (2003b) R4C	Siyah Alaca	323	0.46	0.42	0.12	0.67*	0.33*	0.442*	CC genotipli hayvanların leptin seviyeleri diğerlerine göre buzağılamadan 30 gün önce ve laktasyonun ilk 5 gününde önemli derecede yüksek #
Madeja ve ark. (2004) 94 bç	Polonya Siyah Alaca boğası	117	-	-	-	0.54	0.46	0.497*	Süt, yağ ve protein verimi ile sütün yağ ve protein yüzdeleri gibi özellikler bakımından bir ilişki yok
Choudhary ve ark. (2005) 94 bç	1/2 Siyah Alaca x ½ Hariana	205	0.68	0.27	0.05	0.82	0.18	0.295*	#
	Siyah Alaca	19	0.25	0.69	0.06	0.60	0.40	0.480*	
	Jersey	40	0.18	0.52	0.30	0.44	0.56	0.493*	
	Hariana	60	-	-	-	0.00	1.00	0.00*	
	Sahiwal	32	-	-	-	0.00	1.00	0.00*	
	Gir	20	-	-	-	0.00	1.00	0.00*	
	Nimari	29	-	-	-	0.00	1.00	0.00*	
Komisarek ve Dorynek (2005) Arg25Cys	Polonya Siyah Alacası	213	0.26	0.56	0.18	0.54	0.46	0.497*	#

Çizelge 2.1b. Leptin geni ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Kong ve ark. (2006) 94 bç	Hanwoo	275	0.262	0.476	0.262	0.50	0.50	0.50*	CC genotipliler yağlılık (4.23 mm) ve göz kası alanı (57.57 cm^2) bakımından TT genotiplilerden (3.14 mm ve 53.93 cm^2) daha yüksek ortalamaya sahip (P<0.05)
Nassiry ve ark. (2007) 94 bç	Golpayani Taleshi	76 64	0.42 0.36	0.58 0.36	0.00 0.27	0.71 0.55	0.29 0.45	0.41 0.51	#
Komisarek ve Antkowiak (2007) R4C	Jersey	219	-	-	-	0.80	0.20	0.320*	İlk buzağılama yaşı, servis periyodu, buzağılama aralığı, gebelik başına tohumlama sayısı ve gebelik süresi gibi üreme özellikleri ile ilişkisi yok
Chebel ve ark. (2008) R4C	Siyah Alaca	814	0.346	0.482	0.172	0.587*	0.413*	0.485*	CT genotipliler laktasyonun ilk 62 günlük döneminde CC ve TT'lere kıyasla daha düşük vücut kondüsyon skoruna sahip, ancak %3.5 yağa göre düzeltilmiş kontrol süt verimi, kontrol yağ ve kontrol protein verimleri ile %3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip CT genotiplilerin frekansını artırıcı melezlemeler yapılmalı
Sadeghi ve ark. (2008) 94 bç	Siyah Alaca boğa	134	0.366	0.418	0.216	0.575	0.425	0.489*	TT genotipliler CT ve CC'lilere kıyasla süt, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek damızlık değerlerine sahip (P<0.05), CC genotipliler ise TT genotiplilerden daha yüksek protein yüzdesine sahip (P<0.05)

Çizelge 2.1c. Leptin geni ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Alashawkany ve ark. (2008) 94 bç	Siyah Alaca	161	Bildirilmemiş					-	TT genotipliler CC genotiplilere göre laktasyonun 60 ve 100 günlük süt verimleri bakımından sırasıyla 1.7 kg/gün ve 1.5 kg/gün daha fazla süt vermekte (P<0.05), ancak 305 günlük süt verimleri ve servis periyodu ile genotipler arasında istatistik bakımdan bir ilişki yok (P>0.05)
Nassiry ve ark. (2008) 94 bç	Sarabi	86	-	-	-	0.68	0.32	0.439	#
	Talashi	66	-	-	-	0.55	0.45	0.500	
	Sistani	94	-	-	-	0.69	0.31	0.429	
	Golpayegani	76	-	-	-	0.71	0.29	0.414	
	Siyah Alaca	161	-	-	-	0.57	0.43	0.492	
	Esmer	104	-	-	-	0.55	0.45	0.485	
Öztabak ve ark. (2010) 94 bç	Güney Anadolu Kırmızısı	40	0.10	0.65	0.25	0.42	0.58	0.487*	#
	Doğu Anadolu Kırmızısı	40	0.15	0.67	0.18	0.49	0.51	0.500*	
	Boz ırk	40	0.20	0.70	0.10	0.55	0.45	0.495*	
Brickell ve ark. (2010) Ekzon 2FB-94 bç	Siyah Alaca	385	0.35	0.48	0.17	0.59	0.41	0.484*	CT (% 20.2) ve TT (% 19.4) genotipliler CC genotiplilere (% 11.1) kıyasla 2 kat daha fazla perinatal ölüm oranına sahip
Giblin ve ark. (2010) R25C	Siyah Alaca boğası	848	0.40	0.47	0.13	0.63	0.37	0.466*	T alleli daha kısa gebelik süresi ve doğum kolaylığı (P<0.05) ile ilişkili olmasından dolayı kısa süren gebelik süresinden dolayı doğumda buzağının daha düşük canlı ağırlıkta doğmasına sebep olarak perinatal ölüm oranı yükseltebilir. T allelinin somatik hücre sayısı, süt, yağ ve protein verimleri ile herhangi bir ilişkisi yok (P>0.05), ancak yağ ve protein yüzdesini artırıcı bir etkisi mevcut (P<0.05) Kalça dolgunluğu, vücut kondüsyon skoru ve karkas yağlanması ile ilişkisi yok

Çizelge 2.1d. Leptin geni ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Kulig ve ark. (2010) 94 bç	Jersey	181	0.514	0.436	0.050	0.732	0.268	0.392*	CC genotipi ile C allelinin somatik hücre sayısını azaltıcı bir etkiye sahip (P≤0.01) *Kpn*2I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından CC/BB haplotiplerinin somatik hücre sayısını düşürücü bir etkisinin olması bu ilişkileri doğrulamakta (P≤0.01), *Kpn*2I/*Hph*I haplotipleri bakımından TT/CC haplotipleri ise somatik hücre sayısını artırmakta (P≤0.05)
Kaygısız (2011) Arg25Cys	Doğu Anadolu Kırmızısı Yerli Kara Esmer	38 45 16	0.21 0.24 0.19	0.50 0.56 0.56	0.29 0.20 0.25	0.46 0.52 0.47	0.54 0.48 0.53	0.497* 0.499* 0.498*	Yerli Kara sığırlarda TT genotipli sığırlar (153 cm) CC (133.25 cm) ve CT (137.45 cm) genotiplilerden daha yüksek göğüs çevresine sahip (P<0.05)

H_b beklenen heterozigotluk, # herhangi bir verimle ilişkilendirilmemiş, *allel veya genotip frekanslarından hesaplanmış değerleri temsil etmektedir.

Çizelge 2.2a. Leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları						Allel frekansları			H_b	Verimle ilişkisi
			AA	AB	BB	CC	AC	BC	A	B	C		
Pomp ve ark. (1997) 1820 bç	Limuzin	7	-	-	-	-	-	-	0.70	0.30*	-	0.420*	#
	Simmental	9	-	-	-	-	-	-	0.79	0.21*	-	0.332*	İlave bir kesim bölgesi olarak tanımlanan C allel polimorfizminin Simmental, Gelbvieh ve Angus sığırlarında gözlenmekte
	Gelbvieh	17	-	-	-	-	-	-	0.82	0.18*	-	0.295*	
	Siyah Alaca	14	-	-	-	-	-	-	0.71	0.29*	-	0.412*	
	Hereford	16	-	-	-	-	-	-	0.50	0.50*	-	0.500*	
	Angus	15	-	-	-	-	-	-	0.73	0.27*	-	0.394*	
	Brahman	4	-	-	-	-	-	-	0.00	1.00*	-	0.000*	*Bos primigenius indicus* olan 4 baş Brahman sığırında A alleli yok
	Brangus	4	-	-	-	-	-	-	0.60	0.40*	-	0.480*	
Leifers ve ark. (2002) 422 bç	Siyah Alaca	613	0.813	0.185	0.002	-	-	-	0.905*	0.095*	-	0.171*	S*au3*AI-AB genotipliler S*au3*AI-AA genotiplilere kıyasla günlük 1.23 ile 1.32 kg arasında daha fazla süt vermekte (P<0.05), günlük 0.73 kg daha fazla yem (P<0.05) ve 0.39 kg daha fazla kuru madde (P=0.087) tüketmekte, laktasyonun 15. haftasında 9.1 kg daha fazla ortalama canlı ağırlığa sahip (P=0.097) ve ayrıca günlük daha fazla 40.3 g protein (P<0.05) ve 64.7 g laktoz (P<0.05) verimlerine sahip
Rasor ve ark. (2002) 1147 bç	Angus	25	0.76	0.24	0.00	-	-	-	0.88	0.12	-	0.211*	Hereford F_1 x Brahman melezi, Santa Cruz ve Santa Gertrudis sığırlarında cinsi olgunluk yaşına ulaşma zamanı (gün) ve cinsi olgunluktaki canlı ağırlıkları (kg) ile bir ilişki yok (P>0.38)
	Brangus	44	0.59	0.34	0.07	-	-	-	0.76	0.24	-	0.365*	
	Amerikan Brahmanı	7	0.86	0.14	0.00	-	-	-	0.93	0.07	-	0.130*	
	Criolla	11	1.00	0.00	0.00	-	-	-	1.00	0.00	-	0.000*	
	Hereford F_1 x Brahman	18	0.94	0.06	0.00	-	-	-	0.97	0.03	-	0.058*	
	Afrikan Mashona	6	1.00	0.00	0.00	-	-	-	1.00	0.00	-	0.000*	
	Santa Cruz	33	0.91	0.06	0.03	-	-	-	0.94	0.06	-	0.113*	
	Santa Gertrudis	25	0.92	0.08	0.00	-	-	-	0.96	0.04	-	0.077*	
	Genel	169	0.82	0.16	0.02	-	-	-	0.90	0.10	-	0.180*	
Leifers ve ark. (2003b) 422 bç	Siyah Alaca	322	0.808	0.189	0.003*	-	-	-	0.902*	0.098*	-	0.177*	CT (AB) genotiplilerin leptin konsatrasyonları CC (AA)'lere kıyasla gebeliğe 20 ile 30 gün kalan zaman diliminde önemli derecede daha yüksek

Çizelge 2.2b. Leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları						Allel frekansları			H_b	Verimle ilişkisi
			AA	AB	BB	CC	AC	BC	A	B	C		
Almeida ve ark. (2003) 1820 bç	5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore	96	-	-	-	-	-	-	0.63	0.37	-	0.47	*Sau3*AI_A ve *Sau3*AI_B alleleri arasında buzağılama aralığı ve ilk buzağılamadaki canlı ağırlık arasında bir ilişki yok. Ancak *Sau3*AI*+/*Sau3*AI*-'lar *Sau3*AI*-/*Sau3*AI*-homozigotlara kıyasla yaklaşık 81 gün daha fazla buzağılama aralığına (P=0.016) ve ilkine buzağılama ağırlığı bakımından ise ortalama olarak 27 kg daha ağır (P=0.052)
Oprzadek ve ark. (2003) 1820 bç	Siyah Alaca danası	141	0.695*	0.149*	-	-	0.156*	-	0.85	0.07	0.08	0.266*	AA genotipli hayvanların yem tüketimleri AB ve AC genotiplilerden daha fazla, ancak sağ karkastaki ağırlık ve yağ birikimi bakımından daha yüksek değerlere sahip Sağ karkastaki değerli kısımların yüzdesi bakımından ise AC genotipli hayvanlar yüksek değerlere sahip (P≤0.05)
Madeja ve ark. (2004) 1820 bç	Polonya Siyah Alaca boğası	117	-	-	-	-	-	-	0.86	0.11	0.03	0.247*	Süt, yağ ve protein verimi ile sütün yağ ve protein yüzdeleri gibi özellikler bakımından bir ilişki yok
Klauzińska ve ark. (2004) 1820 bç	Polonya Kırmızısı	208	0.529*	0.149*	0.014*	-	0.264*	0.043*	0.74	0.11	0.15	0.423*	#
	Polonya Siyah Alacası	211	0.621*	0.152*	0.019*	-	0.190*	0.019*	0.80	0.10	0.10	0.352*	
Javanmard ve ark. (2004) 422 bç	Sarabi Shabester pop.	35	0.429	0.400	0.171	-	-	-	0.63	0.37	-	0.466*	#
	Sarabi Sarabi pop.	31	0.193	0.452	0.355	-	-	-	0.42	0.58		0.487*	
	Genel	66	0.31	0.43	0.26+	-	-	-	0.53	0.47	-	0.498*	
Javanmard ve ark. (2005) 422 bç	Sarabi	82	0.561	0.378	0.061	-	-	-	0.750	0.250	-	0.375	#
	Golpayegani	57	0.544	0.351	0.105	-	-	-	0.719	0.281	-	0.404	
	Sistani	38	0.211	0.263	0.526	-	-	-	0.342	0.658	-	0.450	
	Taleshi	70	0.100	0.757	0.143	-	-	-	0.479	0.521	-	0.499	
	Manzadrani	26	0.231	0.308	0.462	-	-	-	0.385	0.615	-	0.473	
	Dashtiyari	8	0.000	0.250	0.750	-	-	-	0.125	0.875	-	0.219	
	Golpayegani x Esmer F_1	13	0.000	0.308	0.692	-	-	-	0.154	0.846	-	0.260	

Çizelge 2.2c. Leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları						Allel frekansları			H_b	Verimle ilişkisi
			AA	AB	BB	CC	AC	BC	A	B	C		
Kulig (2005a) 1820 bç	Siyah Alaca I. sürü	141	-	-	-	-	-	-	0.798	0.128	0.074	0.341*	*Hph*I/*Sau3*AI haplotiplerinden CC/BB haplotipliler süt, protein ve yağ verimleri bakımından yüksek ortalamalara sahip (P≤0.01), protein ve yağ yüzdeleri bakımından herhangi bir ilişki yok
	II. sürü	123	-	-	-	-	-	-	0.825	0.090	0.085	0.304*	
	III. sürü	278	-	-	-	-	-	-	0.806	0.108	0.086	0.331*	
	IV. sürü	117	-	-	-	-	-	-	0.765	0.145	0.090	0.386*	
	V. sürü	201	-	-	-	-	-	-	0.823	0.109	0.068	0.306*	
	Genel	860	-	-	-	-	-	-	0.805	0.114	0.081	0.332*	
Kulig (2005b) 1820 bç	Siyah Alaca	905	0.638	0.189	0.015	0.008	0.137	0.013	0.801*	0.117*	0.083*	0.339*	BB genotipliler süt, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip (P≤0.01)
Ghazanfari ve ark. (2006) 422 bç	İsviçre Esmeri	104	0.64	0.36	0.01	-	-	-	0.82	0.18	-	0.295*	AB genotipliler BB'lere kıyasla ilk 60 ve 100 günlük süt verimleri bakımından daha yüksek ortalamalara sahip (P<0.01), AA genotipliler BB'lere kıyasla laktasyon süresi ve servis periyodu bakımından daha yüksek ortalamalara sahip (P<0.05). A alleli hem yüksek süt verimini hem de laktasyon süresi ile servis periyodunu artırıcı bir etkiye sahip
Heravi Moussavi ve ark. (2006) 422 bç	Siyah Alaca	238	0.78*	0.22*	0.00*	-	-	-	0.89	0.11	-	0.196*	Genotipler ile laktasyonun ilk 60 günlük süt verimleri arasında bir ilişki yok (P=0.21), ancak 305 günlük laktasyon süt verimleri bakımından AB genotipliler AA genotiplilere kıyasla 71 kg daha fazla süt verimine sahip (P = 0.03), genotipler ile ilk damızlıkta kullanma yaşı, ilk servis periyotları ile servis periyotları arasında bir ilişki olmayıp, üreme özelliklerini ters yönde etkilemeden LSV_{305} için B alleli tercih edilmeli

Çizelge 2.2d. Leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları						Allel frekansları			H_b	Verimle ilişkisi
			AA	AB	BB	CC	AC	BC	A	B	C		
Carşai (2009) 422 bç	Bălţată Românească Brună de Maramureş	88 64	0.60 0.62	0.36 0.38	0.04 0.00	- -	- -	- -	0.78 0.81	0.22 0.19	- -	0.343* 0.308*	#
Kulig ve ark. (2009) 1820 bç	Jersey	181	0.30	0.57	0.13	-	-	-	0.59	0.41	-	0.484*	*Sau3*AI polimorfizmi ile süt, yağ ve protein verimi ile yağ ve protein yüzdeleri arasında her hangi bir ilişki yok Ancak, *Hph*I (331 bç) ve *Sau3A*I (1820 bç) polimorfimlerinden oluşan haplotiplerden CT/AA haplotipliler yağ yüzdelerini artırıcı, CC/BB haplotipler ise süt ve protein verimlerini düşürmeden sütün yağ yüzdesi üzerine düşürücü bir etkiye sahip
Kulig ve Kmieć (2009) 1820 bç	Limuzin	129	0.65	0.33	0.02	-	-	-	0.81	0.19	-	0.308*	3., 210. ve 365. gün canlı ağırlığı, 3. günden 210. ve 365 güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı, cidago ve sakrum yüksekliği ile göğüs çevresi gibi özellikler arasında bir ilişki yok *Hph*I/*Sau3*AI haplotiplerden CT/AB haplotipliler 3. günden 210. güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı bakımından CC/AA ve CC/AB haplotiplilerden 73.8 g daha yüksek değerlere sahip (P≤0.05)
Jawasreh ve ark. (2009) 422 bç	Ürdün yerli sığırları Siyah Alaca	36 45	0.629 0.619	0.296 0.309	0.074 0.071	-	-	-	0.777 0.774	0.223 0.226	-	0.346 0.346	#
Öztabak ve ark. (2010) 1820 bç	Güney Anadolu Kırmızısı Doğu Anadolu Kırmızısı Boz ırk	40 40 40	0.48 0.45 0.37	0.32 0.48 0.55	0.03 0.02 0.03	- - -	0.17 0.05 0.05	- - -	0.72 0.71 0.68	0.19 0.26 0.30	0.09 0.03 0.02	0.437* 0.427* 0.447*	# CC ve BC genotipleri populasyonlarda yok

Çizelge 2.2e. Leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları						Allel frekansları			H_b	Verimle ilişkisi
			AA	AB	BB	CC	AC	BC	A	B	C		
Javanmard ve ark. (2010) 422 bç	Siyah Alaca boğası	66	0.90	0.10	0.00	-	-	-	0.95	0.05	-	0.095*	Damızlık değerleri bakımından AB genotipliler AA genotiplilere kıyasla daha yüksek yağ verimine sahip (P≤0.005), ancak süt verimi bakımından genotipler arasında bir ilişki yok
Kulig ve ark. (2010) 1820 bç	Jersey	181	0.298	0.575	0.127	-	-	-	0.586	0.414	-	0.485*	BB genotipi ile B alleli somatik hücre sayısını azaltıcı bir etkiye sahip (P≤0.01) *Kpn*2I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından CC/BB haplotiplerinin somatik hücre sayısını düşürücü bir etkisinin olması bu ilişkileri doğrulamakta (P≤0.01), *Hph*I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından CT/BB haplotipliler ise somatik hücre sayısını azaltmakta (P≤0.05)

H_b beklenen heterozigotluk, # herhangi bir verimle ilişkilendirilmemiş, * allel veya genotip frekanslarından hesaplanmış değerleri temsil etmektedir.

Çizelge 2.3a. Leptin ekzon 3 geni *Hph*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Haegeman ve ark. (2000) 331 bç	Belçika Mavisi	54	-	-	-	0.713	0.287	0.409*	# C allel frekansı mutant allel olan T alleline kıyasla daha yüksek
	Piedmont	36	-	-	-	0.736	0.264	0.389*	
	Blonde d'Aquitaine	47	-	-	-	0.789	0.211	0.333*	
	Şarole	18	-	-	-	0.720	0.280	0.403*	
	Limuzin	53	-	-	-	0.887	0.113	0.200*	
	Kırmızı Alaca (Red Pied)	56	-	-	-	0.616	0.384	0.473*	
	Belçika Mavisi Melezleri	28	-	-	-	0.875	0.125	0.219*	
	Batı Flanders Kırmızısı	27	-	-	-	0.518	0.482	0.499*	
	Kırmızı Alaca (Red Holstein)	53	-	-	-	0.755	0.245	0.370*	
	Siyah Alaca	49	-	-	-	0.704	0.296	0.417*	
Leifers ve ark. (2002) 331 bç	Siyah Alaca	613	0.581	0.329	0.090	0.746*	0.254*	0.379*	*Hph*I-CC genotipi diğer genotiplere göre 5 kg daha düşük canlı ağırlık kazancına (P=0.087) ve en düşük laktoz yüzdesine (P=0.085) sahip ve ayrıca % yağ miktarını etkileyebileceği bildirilmekle birlikte önemli olma eğiliminde olduğu ifade edilmekte Ancak laktasyonun ilk 105 gününe (ilk 15 hafta) kadarki periyodunda canlı ağırlık, yem ve kuru madde tüketimleri, süt, yağ, protein ve laktoz verimleri ile yüzdeleri arasındaki ilişkiler önemsiz (P>0.05)
Leifers ve ark. (2003b) 331 bç	Siyah Alaca	323	0.58	0.34	0.08	0.749*	0.251*	0.376*	TT genotipli hayvanlar CT ve CC'lere kıyasla doğumdan 30 gün öncesine kadarki sürede daha yüksek leptin seviyesine sahip #
Almeida ve ark. (2003) 331 bç bç	5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore	100	-	-	-	0.85	0.15	0.26	*Hph*I*- (C) ve *Hph*I*+(T) alleleri ile buzağılama aralığı ve ilk buzağılamadaki canlı ağırlık arasında bir ilişki yok

Çizelge 2.3b. Leptin ekzon 3 geni *Hph*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Madeja ve ark. (2004) 331 bç	Polonya Siyah Alaca boğası	117	-	-	-	0.66	0.34	0.449*	TT genotipli hayvanlar süt ve protein verimi bakımından diğerlerine nazaran 2 kat daha fazla damızlık değerine ve yağ verimi bakımından da yüksek bir damızlık değerine sahip
Kulig (2005a) 331 bç	Polanya Siyah Alaca I. sürü	141	-	-	-	0.730	0.270	0.394*	*Hem Hph*I polimorfizmi hem de *Sau3*AI polimorfizmi bakımından CC/BB haplotipliler süt, protein ve yağ verimleri bakımından yüksek ortalamalara sahip (P≤0.01), protein ve yağ yüzdeleri bakımından herhangi bir ilişki yok
	II. sürü	123	-	-	-	0.817	0.183	0.299*	
	III. sürü	278	-	-	-	0.745	0.255	0.380*	
	IV. sürü	117	-	-	-	0.786	0.214	0.336*	
	V. sürü	201	-	-	-	0.751	0.249	0.374*	
	Genel	860	-	-	-	0.760	0.240	0.365*	
Kulig (2005b) 331 bç	Siyah Alaca	905	0.582	0.364	0.054	0.764*	0.236*	0.361*	CC genotipliler süt, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip (P≤0.01)
Komisarek ve Dorynek (2005) Ala80Val	Polonya Siyah Alacası	213	0.50	0.41	0.09	0.71	0.29	0.412*	#
Komisarek ve Antkowiak (2007) A59V	Jersey	219	-	-	-	0.67	0.33	0.442*	TT genotipli bireyler CT ve CC genotiplilere kıyasla daha kısa buzağılama aralığı, servis periyodu ve gebelik başına tohumlama sayısına sahip
Kulig ve Kmieć (2009) 331 bç	Limuzin	129	0.54	0.39	0.07	0.74	0.26	0.385*	TT genotipliler CC genotiplilere kıyasla 210. gün canlı ağırlığı ile 3. günden 210. güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı bakımından sırasıyla 19.1 kg (P≤0.05) ve 78.3 g (P≤0.01) daha fazla ortalamaya sahip ve TT genotipli hayvanlar tercih edilmeli, *Hph*I/*Sau3*AI haplotiplerden CT/AB haplotipliler 3. günden 210. güne kadar olan ortalama günlük canlı ağırlık artışı bakımından CC/AA ve CC/AB haplotiplilerden 73.8 g daha yüksek değerlere sahip (P≤0.05)

Çizelge 2.3c. Leptin ekzon 3 geni *Hph*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			CC	CT	TT	C	T		
Kulig ve ark. (2009) 331 bç	Jersey	181	0.52	0.40	0.08	0.72	0.28	0.403*	TT genotipli hayvanlar CC ve CT genotiplilere kıyasla sırasıyla 173 ve 177 kg daha az süt (P≤0.01), 10.6 ve 15.3 kg daha az yağ (P≤0.05), ve 7.6 ve 7.8 kg protein (P≤0.01) verimlerine sahip, ancak süt ve protein yüzdeleri bakımından herhangi bir ilişki yok C alleli (CC ve CT genotipleri) seleksiyonda tercih edilmeli Ayrıca *Sau3*AI (1820 bç) ile birlikte haplotiplerden CT/AA haplotipliler yağ yüzdelerini artırıcı, CC/BB haplotipler ise süt ve protein verimlerini düşürmeden sütün yağ yüzdesi üzerine düşürücü bir etkiye sahip
Öztabak ve ark. (2010) 458 bç	Güney Anadolu Kırmızısı	40	0.83	0.12	0.05	0.89	0.11	0.196*	#
	Doğu Anadolu Kırmızısı	40	0.78	0.17	0.05	0.86	0.14	0.241*	
	Boz ırk	40	0.80	0.17	0.03	0.89	0.11	0.196*	
Dandapat ve ark. (2010) 331 bç	Sahiwal	30	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.000*	#
	Jersey x Siyah Alaca x Sahiwal	70	0.57	0.36	0.07	0.75	0.25	0.375*	
Giblin ve ark. (2010) A80V	Siyah Alaca boğası	848	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	0.412*	T alleli sürüde yaşama gücünü azaltıcı bir etkiye sahip (P<0.05) Somatik hücre sayısı, süt, yağ ve protein verimleri ve ayrıca süt ve protein yüzdeleri ile herhangi bir ilişkisi yok (P>0.05) Kalça dolgunluğu, vücut kondüsyon skoru ve karkas yağlanması ile ilişkisi yok (P>0.05)

Çizelge 2.3d. Leptin ekzon 3 geni *Hph*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk		N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
				CC	CT	TT	C	T		
Yazdani ve ark. (2010) 331 bç	Siyah Alaca	I. sürü	58	0.552	0.141	0.034	0.759	0.241	0.366	CC genotipliler (279.17 gün) hem CT (276.96 gün) hem de TT (274.8 gün) genotiplilerden daha yüksek gebelik süresine sahip (P≤0.05) Buzağılama aralığı ve servis periyodu bakımından herhangi bir ilişki yok
		II. sürü	54	0.648	0.352	0.000	0.824	0.176	0.290	
		III. sürü	40	0.650	0.325	0.025	0.813	0.188	0.304	
		IV. sürü	103	0.553	0.417	0.029	0.762	0.238	0.363	
		Genel	255	0.558	0.388	0.024	0.782	0.218	0.341	
Kulig ve ark. (2010) 331 bç	Jersey		181	0.519	0.403	0.078	0.721	0.279	0.402*	Genotipler ile somatik hücre sayısı arasında herhangi bir ilişki yok *Kpn*2I/*Hph*I haplotipleri bakımından TT/CC haplotipliler somatik hücre sayısını artırmakta (P≤0.05), *Hph*I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından ise CT/BB haplotipliler azaltmakta (P≤0.05)

H_b beklenen heterozigotluk, # herhangi bir verimle ilişkilendirilmemiş, * allel frekanslarından hesaplanmış değerleri temsil etmektedir

Çizelge 2.4. Leptin intron 2 geni *Bsa*AI polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Genotip frekansları			Allel frekansları		H_b	Verimle ilişkisi
			AA	AG	GG	A	G		
Almeida ve ark. (2003) 522 bç	5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore	96	-	-	-	0.42	0.58	0.49	*Bsa*AI*- (A) ve *Bsa*AI *+(G) alleleri ile buzağılama aralığı ve ilk buzağılamadaki canlı ağırlık arasında bir ilişki yok.
Choudhary ve ark. (2005) 522 bç	½ Siyah Alaca x ½ Hariana	205	0.03	0.43	0.54	0.24	0.76	0.365*	#
	Siyah Alaca	17	0.03	0.30	0.67	0.18	0.82	0.295*	
	Jersey	40	0.05	0.38	0.57	0.24	0.76	0.365*	
	Hariana	60	0.07	0.53	0.40	0.34	0.66	0.449*	
	Sahiwal	32	0.03	0.50	0.47	0.28	0.72	0.403*	
	Gir	20	0.05	0.40	0.55	0.25	0.75	0.375*	
	Nimari	29	0.07	0.45	0.48	0.29	0.71	0.412*	
Carşai (2009) 522 bç	Bălţată Românească Brună de	88	Her iki sığır ırkında AA ve AG genotiplilerin gözlendiği belirtilmiş ancak genotip ve allel frekanları ile ilgili herhangi bir bilgi yok						#
	Maramureş	64							
Souza ve ark. (2010) 522 bç	Nelore Kontrol	60	0.26	0.41	0.33	0.46	0.54	0.497*	AA genotipli sığırlar sütten kesim ağırlığı bakımından (180.78 kg) AG (175.89 kg) ve GG (172.62 kg) genotipli sığırlardan daha yüksek ortalamaya sahip (P=0.03)
	Selekte	120	0.23	0.52	0.25	0.49	0.51	0.500*	
	Geleneksel	170	0.28	0.49	0.23	0.53	0.47	0.498*	
	Genel	350	0.26	0.49	0.25	0.50	0.50	0.500*	

H_b beklenen heterozigotluk, # herhangi bir verimle ilişkilendirilmemiş, *allel frekanslarından hesaplanmış değerleri temsil etmektedir.

2.2. Pit-1 Geni Polimorfizmleri

Pit-1 geni POU familyası (Herr, 1988) sınıf 1 hipofiz transkripsiyon faktörü (POU1F1, POU domain class 1 transcription factor 1) olarak isimlendirilmekte ve memelilerde büyüme hormonu (GH), prolaktin (PRL) ve tirotropinin (TSHβ) ekspresyonundan sorumlu olan (Haugen, 1993; Renaville ve ark., 1997a; Kopp ve Jameson, 1998; Miyai ve ark., 2005) 129 amino asitten meydana gelen ve sığırlarda 1. kromozomun sentromerik kısmına (1q21-22) lokalize olan 282315 numaralı (Moody ve ark., 1995) 6 ekzon ve 5 introndan oluşan aday bir gendir. Pit-1 yaklaşık 33 kDa ağırlığında, özellikle hipofizin ön bezinden sentezlenmekle birlikte tirotroplarda, somatotroplarda ve laktotroplarda sınırlı düzeyde sentezlenmektedir (Haugen, 1993; Kopp and Jameson, 1998). Pit-1 proteini transaktivasyonda rol oynayan N-terminal, POU-specific ve POU-domain olmak üzere üç kısımdan meydana gelmektedir (Haugen, 1993; Kopp and Jameson, 1998; Weatherly, 1998).

Pit-1 geni mutasyonunun farelerde bodur fenotiplerden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Camper ve ark., 1990; Li ve ark., 1990). Gende meydana gelen bazı mutasyonlar memelilerde büyüme, prolaktinin ve TSH hormonlarının düzenini bozmakta ve hatta hipofizer gelişmede anormalliklere (hipoplazi) neden olmaktadır (Renaville ve ark., 1997a).

PRL ve GH meme hücrelerinin gelişmesi ve süt verimi için gerekli olmakla birlikte (Oprzadek ve ark., 2003) somatotropik hücrelerin proliferasyonunda etkili olmalarından dolayı (Castrillo ve ark., 1991) büyüme ve gelişmenin düzenlenmesinde sığırlarda ve diğer memelilerde Pit-1 geni aday bir gen olarak kabul edilmektedir (Zhang ve ark., 2009). Bona ve ark. (2004), Pit-1 geninin laktotropik, somatotropik ve tirotropik hücrelerin gelişmesinde gerekli olduğunu ve insanlarda Pit-1 geni mutasyonunun ACTH, LH ve FSH hormonlarının salgılanması normal olmasına karşın GH, PRL ve TSH'ın yetersiz salgılanmasından dolayı kombine hipofiz hormonu eksikliğine (Combined Pituitary Hormone Deficiency) neden olduğunu ve bunun da hipotiroidizme ve ergenliğe geç ulaşmaya sebep olduğunu bildirmişlerdir.

İlk olarak Woollard ve ark. (1994) Pit-1 geninde 451 bç'lik gen bölgesinin *Hinf*I restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu A→G baz değişikliği ile AA genotiplilerde kesim ürünü gözlenmediğini, BB genotiplilerde ise 244 bç ve 207 bç'nde olan 2 kesim bölgesi gözlendiğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte GenBank veri tabanında Pit-1 geninin değişik bölgelerinde bulunan SNP polimorfizmlerine de ulaşılmaktadır.

Renaville ve ark. (1997a), 89 baş İtalya Siyah Alaca boğalarının Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizminin süt verimi ve bileşimi ile konformasyon özelliklerine etkisini ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, söz konusu gen bölgesi bakımından AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla 0.022, 0.315 ve 0.663 olarak, A ve B allel frekanslarını ise sırasıyla 0.188 ve 0.812 olarak bulmuşlardır. Araştırıcılar A allelinin süt verimi ($P<0.10$), protein verimi ($P<0.05$), vücut derinliği ($P<0.10$) ve kalça dolgunluğu (angularity) ($P<0.10$), arka bacak yerleşimi ($P<0.10$) ve düşük yağ yüzdesi ($P<0.10$) üzerine etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Yağ yüzdesi üzerine pozitif yönde önemli bir ilişkinin olmamasını hayvanların yüksek süt verimine sahip olmalarına, yağ verimi üzerine önemli bir ilişkinin olmamasını ise yağ yüzdesinin negatif etkisinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Sonuç olarak süt ve protein veriminin seleksiyonunda Pit-1/*Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen allellerden A allelinin seçilmesinin bir dereceye kadar umut verici olduğunu bildirmişlerdir. Renaville ve ark. (1997b)'nın yaptıkları başka bir çalışma ile ilgili olarak BB alleline sahip olan çift kaslı Belçika Mavisi boğaların 7 aylık yaştaki canlı ağırlıklarının AB ($P<0.01$) ve AA ($P<0.05$) genotiplililere kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. On üç aylık yaştaki omuz yüksekliği bakımından ise AA ve BB genotiplilerin daha yüksek değerlere sahip olduğunu ($P<0.001$) ve özellikle B allelinin erken dönemde canlı ağırlıkla ilişkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Araştırıcılar 350 baş Belçika Mavisi boğada *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.20, 0.445 ve 0.355 olarak, A ve B allel frekanlarını ise sırasıyla 0.53 ile 0.47 olarak bulmuşlardır.

Zwierzchowski ve ark. (2002), Pit-1 geni A allelinin Polonya Siyah Alaca sığırlarda günlük süt verimi ve süt bileşenleri üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Hori-Oshima ve Barreras-Serrano (2003), Meksika'nın Baja Kaliforniya eyaletine bağlı Tijuana şehrindeki 196 baş Siyah Alacada 451 bç'lik *Hinf*I polimorfizminin 305 günlük laktasyon süt verimleri ile ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında AA, AB ve BB genotip frekansları ile A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.026, 0.257 ve 0.717 ile 0.155 ve 0.845 olarak bulmuşlardır. Pit-1 geni A allelinin günlük süt verimine tek başına etkili olmadığını, bununla birlikte DGAT1 (acylCoA: diacylglycerol *O*-acyltransferase) genindeki K (lizin) allelinin etkisiyle Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen AA genotiplilerin (296.28 kg) AB (140.2 kg) ve BB (145.9 kg) genotiplilerden daha yüksek 305 günlük süt verimine sahip olduklarını

bildirmişlerdir (P=0.02). Ayrıca DGAT1 lokusu ile birlikte αs1-casein genindeki BC genotiplilerinde süt verimini artırıcı bir etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Oprzadek ve ark. (2003) 144 baş Siyah Alaca danasının gelişme, yem değerlendirme ve karkas özellikleri ile Pit-1 geni *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Çalışmalarında 7. aydan 8. aya kadar yapılan besi performansları bakımından AB genotiplilerin AA ve BB genotiplilere kıyasla günlük olarak daha fazla kuru madde (AB: 6.6 kg/gün; AB ve BB: 6.3 kg/gün), ham protein (AB: 0.99 kg/gün; AB ve BB: 0.95 kg/gün), yaşama ve verim payı için yem değerlendirme (Feed unit for maintance and meat production; UFV) (AB: 6.8; AA: 6.5 ve BB: 6.6) ve PDI (sindirilebilir protein tüketimi) tüketimlerinin (AB: 0.64; AB ve BB: 0.62) olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca karkas özelliklerinden göğüs çevresi ve derinliği bakımından AA genotiplilerin, uzunluk ve genişlik ölçüleri bakımından ise BB genotiplilerin daha yüksek ortalamalara sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Araştırıcılar *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.25 ve 0.75 olarak tespit etmişlerdir. Ancak, Zhao ve ark. (2004) Angus etçi sığırlarının gelişme ve karkas özellikleri ile Pit-1 geni polimorfizmleri arasındaki ilişkileri belirlemek için yaptıkları çalışmada Pit-1 genindeki intron 3, 4 ve 5'deki yeni polimorfizmler ve ekzon 6 daki (Woollard ve ark.,1994) polimorfizm ile Angus sığırlarının gelişme ve karkas özellikleri arasında önemli bir ilişkinin tespit edilmediğini, ekzon 6 daki *Hinf*I polimorfizminin üzerinde durulan özellikler ile ilişkisinin araştırmalardaki çalışılan ırkların genetik kompozisyonunun faklı olması, farklı sayıda hayvanlar ile çalışılması ve kullanılan istatistik modelin farklı olmasından dolayı çalışmadan çalışmaya değiştiğini bildirmişlerdir.

Dybus ve ark. (2004) beş farklı sürüdeki 900 baş Polonya Siyah Alacasında *Hinf*I (451 bç) polimorfizmiyle süt, yağ ve protein verimleri ile yağ, protein ve yağ & protein yüzdeleri gibi verim özellikleri arasında ilişkileri belirlemek üzere yaptıkları çalışmada, sürülerdeki genotip frekansları bakımından BB'nin en yüksek değerlerde (0.531-0.603) olduğunu, bunları AB genotipli heterozigotların (0.328-0.421) izlediğini ve AA'ların ise en düşük frekanslara (0.043-0.069) sahip olduğunu bildirmişlerdir. Allel frekansları bakımından ise A allelinin 0.233 ile 0.261 değerler arasında frekanslara sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırıcılar verim özellikleri ile Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizm allelleri arasında önemli bir ilişki bulmadıkları ($P > 0.05$) için süt, yağ ve protein verimleri ile yağ, protein ve yağ & protein yüzdeleri gibi verim özelliklerinin ıslahında en iyi allelin seçilmesinin zor olacağını ifade etmişlerdir.

De Mattos ve ark. (2004), 40 baş Gry boğalarının (her bir boğanın en az 5 kızının verim kaydı mevcut) süt verim özellikleri ile Pit-1 geni *Hinf*I (~1355 bç) polimorfizmi sonucu meydana gelen varyantlar arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, AA (*Hinf*I +/+), AB (*Hinf*I +/-) ve AB (*Hinf*I -/-) genotip frekanslarını sırasıyla 0.90, 0.10 ve 0.00 olarak, A ve B allel frekaslarını ise 0.95 ve 0.05 olarak belirlemişlerdir. Araştırıcılar süt verim özelliklerinden sadece yağ verimi ile *Hinf*I varyantlarının ilişkili olduğunu ($P<0.05$) ve AB genotipli boğaların 16.6 kg yağ verimi ile 6.5 kg yağ verim ortalamasına sahip olan AA genotiplilerden üstün olduklarını bildirmişlerdir. Ancak AB genotiplilerin bu üstünlüklerinin B allelinin söz konusu genotiplerdeki etkisinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Pit-1 genindeki buldukları allel frekanslarının literatürden farklı bulunmasını Gry sığırlarının genetik olarak orjinlerinin (*Bos indicus*) farklı olmasına ve Gry sığırlarında söz konusu allelin süt verim özellikleri ile ilişkisinin olmasını Pit-1'le daha sıkı veya gevşek bir bağlantıya sahip olan başka bir fonksiyonel lokusun varlığıyla mümkün olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Vargas ve ark. (2004) 46 baş Siyah Alaca sığırında 443 laktasyon kaydını kullanarak Pit-1 geni *Hinf*I (451 bç) polimorfizminin süt verimi ve üreme özellikleri üzerine etkisini ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.10, 0.35 ve 0.55 olarak bulmuşlardır. Araştırıcılar AA genotipli hayvanların süt verimi için ideal, üreme özellikleri bakımından ise ideal olmadıklarını ifade etmişlerdir.

Javanmard ve ark. (2005), 6 farklı İran sığır ırkı (82 baş Sarabi, 57 baş, Golpayegani, 38 baş Sistani, 70 baş Taleshi, 26 baş Manzadrani ve 8 baş Dashtiyari), Golpayegani x İsviçre Esmeri F_1 melezi (13 baş) ve İran mandaları (30 baş) üzerinde GH ve prolaktinin salgılanmasında etkili olan Pit-1 geninin ekzon 6 bölgesindeki 600 bç'lik gen bölgesinin *Hinf*I enzimi kesimi sonucu allel ve genotip frekansları ile ortalama heterozigotluk değerlerini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada, İran sığır ırkları arasında A alleli bakımından en yüksek alleli Sistani sığırlarında (0.921) en düşük frekansı ise Sarabi (0.622) ve Dashtiyari (0.625) sığırlarında belirlemişlerdir. Golpayegani x İsviçre Esmeri F_1 melezi sığırlarında A alleinin frekansını ise 0.385 olarak bulunmuşlardır. Genotip frekansları bakımından AA genotip frekansının İran sığırlarında yüksek bulunduğunu, AB genotipi bakımından ise en yüksek frekans Golpayegani x İsviçre Esmeri F_1 melezi (0.769) sığırlarında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırıcılar Pit-1 geni *Hinf*I-RFLP polimorfizmi bakımından A allelinin

ideal allel olduğunu ve hayvan yetiştiricilerinin temel amacının yetiştirmede kullanılacak üstün verimli hayvanların belirlenmesi olduğu için marköre dayalı seleksiyonda en ideal aracın DNA seviyesinde gözlenebilen allellerin mevcudiyetinin olduğunu ifade etmektedirler.

Xue ve ark. (2006), 100 baş Nanyang sığırında 451 bç'lik *Hinf*I polimorfizminin vücut ölçüleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.465 ve 0.535 olarak bulmuşlar ve populasyonun söz konusu varyasyon bakımından Hardy–Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar BB genotiplilerin AB genotiplilere kıyasla doğum ağırlığı, sütten kesime kadar ortalama ağırlık artışları, 12 aylık vücut yüksekliği ile 6. ve 12. aylık canlı ağırlık, vücut uzunluğu ve göğüs çevresi bakımından daha yüksek değerlere sahip olduklarını ($P<0.05$), yine BB genotiplilerin 12. aylık canlı ağırlık bakımından AA genotiplilerden daha yüksek olduğunu ($P<0.05$) ve diğer yaş gruplarında canlı ağırlık ve vücut yapısı bakımından A alleline kıyasla eğilimin B allelinde olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, genotipler bakımından BB genotipinin, alleller bakımından ise B allelinin dominant olabileceğini ve Pit-1 genin polimorfizminin büyüme özellikleri üzerine pozitif bir etkisinin muhtemel olabileceğini vurgulamışlardır.

Yan ve ark.'nın (2006) 218 baş Qinchuan ve Çin Siyah Alaca sığırlarında Pit-1/*Hinf*I polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında, A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.232/0.768 ve 0.132/0.868 olarak tespit etmişlerdir. Heterozigotluk değerlerini ise Qinchuan ve Çin Siyah Alaca sığırlarında sırasıyla 0.356 ve 0.229 olarak bulmuşlardır. Qinchuan sığırlarının Hardy–Weinberg dengesinde olduğunu, Çin Siyah Alaca sığırlarının ise Hardy–Weinberg dengesinde olmadığını ifade etmişlerdir.

Curi ve ark. (2006), 79 baş Nellore (*Bos indicus, Zebu*) ile farklı seviyelerde *Bos taurus x Bos indicus* (Zebu) melezleri olan 30 baş Canchim (5/8 Şarole + 3/8 Zebu), 30 baş 1/2 Simmental ve 245 baş 1/2 Angus sığır ırklarında besi süresince canlı ağırlıklar (alıştırma dönemi, besi başlangıcı ve besi sonu), ortalama günlük canlı ağırlık artışları, karkas ağırlığı, karkas randımanı, göz kası alanı ve yağlanma gibi özellikler ile Pit-1 geninin 1301 bç'lik PCR ürününün *Hinf*I polimorfizminin ilişkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, BB genotipini Nellore ve Simmental sığırlarında gözleyemediklerini, AA ve AB genotipleri ile söz konusu özellikler arasında yapılan ilişki analizinde herhangi bir ilişkinin olmadığını ($P>0.13$) bildirmişlerdir. Araştırıcılar AA, AB ve BB genotipleri ile A/B allel frekanslarını Nellore, Canchim, 1/2 Simmental ve 1/2 Angus sığır ırklarında sırasıyla 0.795, 0.205 ve 0.000 ile 0.897/0.103, 0.800,

0.167 ve 0.033 ile 0.883/0.117, 0.733, 0.267 ve 0.000 ile 0.867/0.133, 0.295, 0.693 ve 0.012 ile 0.641/0.359 olarak bulmuşlardır.

Zakizadeh ve ark. (2007), İran'ın 97 baş Manzadrani, 87 baş Sarabi ve 112 baş Golpayegani sığırları ile 110 baş Siyah Alacada Pit-1 geni *Hinf*I (451 bç) polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında sırasıyla A allelinin frekansını 0.37, 0.27, 0.34 ve 0.21, B allelin frekanslarını ise 0.63, 0.73, 0.66 ve 0.79 olarak belirlemişlerdir. AA, AB ve BB genotip frekanslarını Manzadrani sığırlarında 0.167, 0.406 ve 0.427, Sarabi sığırlarında 0.083, 0.381 ve 0.536, Golpayegani sığırlarında 0.109, 0.455 ve 0.436, Siyah Alaca sığırlarında ise 0.059, 0.297 ve 0.644 olarak bulmuşlardır. Genotip frekans farklılıkları bakımından Manzadrani ve Golpayegani sığırları ile Siyah Alaca sığırları arasında önemli ($P<0.05$), Sarabi ile Siyah Alaca sığırları arasında önemsiz ($P>0.05$) farklılıklar belirlemişlerdir. Kırk baş Golpayegani ve seksen yedi baş Siyah Alaca sığırın süt verimleri ile *Hinf*I polimorfizmleri arasında yaptıkları ilişki analizinde süt verimleri ile genotipler arasında herhangi önemli bir ilişki tespit etmemişlerdir ($P>0.05$).

Viorica ve ark. (2007), 76 baş Simenatal sığırında Pit-1 geni ekzon 6 bölgesinin 1350 bç'lik PCR ürününün *Hinf*I enzimi ile meydana gelen polimorfizmini belirlemek için yaptıkları çalışmada AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla 0.118, 0.197 ve 0.685 olarak, A ve B allel frekanslarını ise 0.25 ile 0.75 olarak bulmuşlardır.

Carrijo ve ark. (2008), Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen genotipler ile 509 baş Canchim sığırının doğum ağırlığı, doğumdan sütten kesime kadarki ortalama canlı ağırlık kazançları, sütten kesimden 12 aylık yaşa kadarki ortalama canlı ağırlık kazançları ile sütten kesimden 12 aylık yaşa kadarki canlı ağırlıkları ve 365 günlük yaştaki canlı ağırlıkları arasındaki ilişkileri araştırmışlardır. Çalışmada Canchim sığırlarının grup 1 (GG1) olarak 232 baş 5/8'i Şarole ve 3/8'i Zebu, grup 2 (GG2) olarak 277 baş 21/32'si Şarole ve 11/32'si Nellore populasyonları olmak üzere genetik olarak 2 farklı sığır populasyonundan meydana geldiğini ifade etmişlerdir. *Hinf*I polimorfizmi bakımından A (+) / B (-) allel frekanslarını GG1 ve GG2 için sırasıyla 0.13/0.87 ile 0.27/0.73 olarak belirlemişlerdir. Araştırıcılar GG1 populasyonunda genotipler ile üzerinde durulan özellikler arasında herhangi bir ilişkiyi tespit edememişlerdir. GG2 populasyonunda AA (*Hinf*I +/+), AB (*Hinf*I +/-) ve BB (*Hinf*I -/-) genotiplilerin doğumdan sütten kesime kadar ortalama canlı ağırlık kazançlarını sırasıyla 0.76, 0.76 ve 0.85 kg olarak tespit etmişler ve BB (*Hinf*I -/-) genotiplilerin doğumdan sütten kesime kadarki ortalama canlı ağırlık kazançları

bakımından AA (*Hinf*I +/+) ve AB (*Hinf*I +/-) genotiplilerden üstün olduklarını ifade etmişlerdir (P<0.05). Ayrıca BB (241.83 kg) genotiplilerin sütten kesimden 12 aylık yaşa kadarki canlı ağırlıkları bakımından AA (217.46 kg) ve AB (217.57 kg) genotiplilerden üstün olduklarını ifade etmişlerdir (P<0.05). Araştırıcılar B allelinin seleksiyonda kullanılmasının hayvanların doğum ağırlığını yükseltmeden sütten kesim ağırlığını artırabileceğini ifade etmekle birlikte her iki genetik grupta söz konusu polimorfizmin aynı etkiyi göstermemesinden dolayı seleksiyonda kullanılmadan önce başka populasyonlarda test edilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Mukesh ve ark.'ları (2008) Hindistan'da16 faklı sığır ırkında (*Bos taurus ve Bos indicus*) Pit-1 geninin 1350 bç'lik PCR ürününün *Hinf*I kesim enzimi sonucu meydana gelen polimorfizmi araştırdıkları çalışmalarında genotip ve allel frekansları bakımından en yüksek değerlere BB ve B'lerin sahip olduğunu ve ortalama olarak sırasıyla 0.881 ve 0.937 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bununla birlikte polimorfizm sonucu sığır ırklarında meydana gelen varyant dağılım farklılıklarının sığırların yetiştirildikleri coğrafi ve iklimsel bölgeler ile deri renkleri bakımından önemli olmadığını (P>0.05), verim yönleri bakımından ise önemli olduğunu (P<0.05) ifade etmişlerdir.

Edriss ve ark.'nın (2008) İran'ın İsfahan ilindeki 4 farklı Siyah Alaca süründeki *Hinf*I (451 bç) polimorfizmini belirlemek için yaptıkları çalışmalarında, ortalama olarak A allelinin frekansını 0.256, B allelinin frekansını ise 0.744 olarak bulmuşlardır. AA, AB ve BB genotip frekans ortalamalarını ise 0.031, 0.450 ve 0.519 olarak tespit etmişler ve populasyonların Hardy–Weinberg dengesinde olmadığını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte sürüler bazında (1. – 2. – 3. – 4. sürü) AA/AB/BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.050/0.450/0.500, 0.019/0.449/0.533, 0.018/0.564/0.418 ve 0.050/0.350/0.600 olarak belirlemişlerdir. A/B allel frekanslarını ise yine sürüler bazında sırasıyla 0.275/0.725, 0.243/0.757, 0.300/0.700 ve 0.225/0.775 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmalarında genotip frekanslarından AA'nın, allel frekansları bakımından ise A allelinin düşük olduğu görünmektedir. Araştırıcılar herhangi bir verimle ilişki analizi yapmamış olmakla birlikte süt verimi ve yağ verimi bakımından literatüre dayanarak populasyonun seleksiyonunda AB genotipli hayvanların tercih edilmesinin etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Zhang ve ark. (2009), 67 baş Qinchuan, 47 baş Limuzin x Qinchuan, 42 baş Angus x Qinchuan ve 36 baş Germany Yellow x Qinchuan etçi sığırlarında Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizmi ile vücut ölçüleri arasında ilişkileri araştırmışlardır. Çalışmalarında genotip ve allel frekansları bakımından BB genotipi ve B allelinin dominant olduğunu

(Çizelge 2.5c) ve bütün populasyonların Hardy–Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir. İlişki analizinde ise sadece Germany Yellow x Qinchuan etçi sığırlarında BB genotipli bireylerin AB genotiplilere kıyasla daha yüksek doğum ağırlığı (BB: 137.26 kg, AB: 96.27 kg) ve cidago yüksekliğine (BB: 97.40 cm, AB: 89.67 cm) sahip olduklarını bildirmişlerdir ($P<0.05$). Araştırıcılar çalışmalarında hayvan sayısının az olduğunu ve verim özelliklerine Pit-1 geninin etkisinin daha iyi anlaşılması için daha fazla hayvan sayısı ile çalışılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Jawasreh ve ark. (2009), Ürdün'de yetiştirilen yerli sığırlar (36 baş) ile Siyah Alacalarda (45 baş) *Hinf*I (600 bç) polimorfizmini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, AA, AB ve BB genotip ve A/A allel frekansları ile heterozigotluk değerlerini yerli sığırlarda sırasıyla 0.000, 0.176 ve 0.8235, 0.088/0.912 ile 0.160, Siyah Alaca sığırlarda sırasıyla 0.046, 0.255 ve 0.697, 0.174/0.826 ile 0.288 olarak bulmuşlardır.

Misrianti ve ark. (2010)'nın Endonezya'nın 9 farklı yerinden olmak üzere toplamda 45 baş Siyah Alacada Pit-1 geninin ekzon 6 bölgesindeki Javanmard ve ark. (2005)'nın önerdiği 611 bç'lik gen bölgesinin *Hinf*I enzimi kesimi sonucu allel ve genotip frekanslarını tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla 0.022, 0.444 ve 0.553 olarak, A ve B allel frekanslarını ise 0.25 ve 0.75 olarak bulmuşlardır.

Beigi Nassiri ve ark. (2010), üç farklı bölgeden topladıkları toplamda 84 baş Najdi sığırında *Hinf*I (451 bç) polimorfizmini belirlemek için yaptıkları çalışmalarında, AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla 0.0357, 0.2976 ve 0.6666, A ve B allel frekanslarını ise 0.1845 ve 0.8155 olarak bulmuşlardır. Araştırıcılar Najdi sığırlarında B allel frekansının yüksek olduğu için kültür ırkları ile melezlemeler yapılarak AB genotiplerinin frekanslarının artırılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Pit-1 geni ile ilgili olarak özellikle mevcut çalışmadaki polimorfizmler ile verimler arasındaki ilişkilerin daha iyi anlaşılması için takip eden sayfalarda Çizelge 2.5a,b,c hazırlanmıştır.

Çizelge 2.5a. Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Pit-1					H_b	Verimle ilişkisi
			Genotip frekansları			Allel frekansları			
			AA	AB	BB	A	B		
Renaville ve ark. (1997a) 451 bç	İtalyan Siyah Alaca boğası	89 (1842 kızı)	0.022	0.315	0.553	0.188	0.812	0.305*	A alleli süt verimi, protein verimi, vücut derinliği, kalça dolgunluğu, arka bacak yerleşimi ve düşük yağ yüzdesi üzerine etkili
Renaville ve ark. (1997b) 451 bç	Belçika Mavisi	350	0.200	0.445	0.355	0.53 0.423*	0.47 0.577*	0.488*	BB genotipinde olanların 7. ay canlı ağırlıkları AB (P<0.01) ve AA (P<0.05) genotiplilere kıyasla daha yüksek; AA ve BB genotiplilerin 13 aylık yaştaki omuz yüksekliği daha yüksek (P<0.001); günlük canlı ağırlık artışı ile yem değerlendirmeye genotiplerin etkisi önemsiz B alleli erken dönemde canlı ağırlıkla ilişkili
Hori-Oshima ve Barreras-Serrano (2003) 451 bç	Siyah Alaca	196	0.026	0.257	0.717	0.155	0.845	0.262*	Pit-1 geni A allelinin 305 günlük süt verimine tek başına etkili olmadığı, ancak DGAT1'deki K allelinin etkisiyle AA genotipliler AB ve BB genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip
Oprzadek ve ark. (2003) 451 bç	Siyah Alaca	144	0.063*	0.368*	0.569*	0.247	0.753	0.372*	AA genotipliler göğüs çevresi ve derinliği bakımından, BB genotipliler ise uzunluk ve genişlik ölçüleri bakımından daha yüksek ortalamalara sahip
Zhao ve ark. (2004) 451 bç	Angus	416	0.111	0.440	0.450	0.331*	0.669*	0.443*	Gelişme ve karkas özellikleri ile önemli bir ilişki yok
De Mattos ve ark. (2004) ~1.355 bç	Gry boğası	40	0.900	0.100	0.000	0.95	0.05	0.095*	AB genotipliler AA geotiplilere kıyasla daha yüksek yağ verimine sahip BB genotipli boğalar seleksiyonda seçilmeli
Dybus ve ark. (2004) 451 bç	Polanya Siyah Alaca I. sürü	116	0.069	0.328	0.603	0.233	0.767	0.357*	*Hinf*I allelleri ile süt, yağ ve protein verimleri ile yağ, protein ve yağ & protein yüzdeleri arasında bir ilişki yok
	II. sürü	209	0.043	0.411	0.546	0.248	0.752	0.373*	
	III. sürü	126	0.048	0.373	0.579	0.234	0.766	0.358*	
	IV. Sürü	140	0.048	0.421	0.531	0.261	0.739	0.386*	
	V. Sürü	309	0.055	0.369	0.576	0.239	0.761	0.364*	
	Genel	900	0.052	0.382	0.566	0.243	0.757	0.368*	
Vargas ve ark. (2004) 451 bç	Siyah Alaca	46	0.10	0.35	0.55	0.283*	0.717*	0.405*	AA genotipli hayvanlar süt verimi için ideal, üreme özellikleri bakımından değil

Çizelge 2.5b. Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Pit-1					H_b	Verimle ilişkisi
			Genotip frekansları			Allel frekansları			
			AA	AB	BB	A	B		
Javanmard ve ark. (2005) 600 bç	Sarabi	82	0.451	0.341	0.207	0.622	0.378	0.470	#
	Golpayegani	57	0.614	0.263	0.123	0.746^{+}	0.254	0.379	
	Sistani	38	0.842	0.158	0.000	0.921	0.079^{+}	0.145	
	Taleshi	70	0.614	0.314	0.071	0.771	0.229	0.353	
	Manzadrani	26	0.692	0.269	0.038	0.827	0.173	0.286	
	Dashtiyari	8	0.625	0.000	0.375	0.625	0.375	0.469	
	Golpayegani x İsviçre Esmeri F_1	13	0.000	0.769	0.231	0.385	0.615	0.473	
Xue ve ark. (2006) 451 bç	Nanyang	100	0.210	0510	0.280	0.465	0.535	0.497	BB genotipliler AB genotiplilere kıyasla doğum ağırlığı, sütten kesime kadar ortalama ağırlık artışları, 12. ay vücut yüksekliği ile 6. ve 12. ay canlı ağırlık, vücut uzunluğu ve göğüs çevresi bakımından daha yüksek değerlere sahip (P<0.05), BB genotipliler 12. ay canlı ağırlık bakımından AA'lardan daha yüksek (P<0.05)
Yan ve ark. (2006) (Özet) 451 bç	Qinchuan	218	-	-	-	0.232	0.768	0.356	#
	Çin Siyah Alacası					0.132	0.868	0.229	
Curi ve ark. (2006) 1301 bç	Nellore	79	0.795	0.205	0.000	0.897	0.103	0.185^{*}	Besi süresince canlı ağırlıklar, ortalama günlük canlı ağırlık artışları, karkas ağırlığı, karkas randımanı, göz kası alanı ve yağlanma gibi özellikler ile ilişkisi yok
	Canchim	30	0.800	0.167	0.033	0.883	0.117	0.207^{*}	
	1/2 Simmental	30	0.733	0.267	0.000	0.867	0.133	0.231^{*}	
	1/2 Angus	245	0.295	0.693	0.012	0.641	0.389	0.438^{*}	
Zakizadeh ve ark. (2007) 451 bç	Manzadrani	96	0.167^{*}	0.406^{*}	0.427^{*}	0.370	0.630	0.466^{*}	*Hinf*I allelleri ile Golpayegani ve Siyah Alaca sığırların süt verimleri arasında bir ilişki yok
	Sarabi	84	0.083^{*}	0.381^{*}	0.536^{*}	0.274	0.726	0.398^{*}	
	Golpayegani	110	0.109^{*}	0.455^{*}	0.436^{*}	0.336	0.664	0.446^{*}	
	Siyah Alaca	111	0.059^{*}	0.297^{*}	0.644^{*}	0.208	0.792	0.329^{*}	
Viorica ve ark. (2007) 1350 bç	Simmental	76	0.118	0.197	0.685	0.217	0.783	0.340^{*}	#
Carrijo ve ark. (2008) 1301 bç	5/8 Charolais ve 3/8 of Zebu	232	-	-	-	0.13	0.87	0.226^{*}	BB genotipliler doğumdan sütten kesime kadar ortalama canlı ağırlık kazançları ve sütten kesimden 12 aylık yaşa kadarki canlı ağırlıkları bakımından üstün olmakla birlikte seleksiyonda B allelinin tercih edilmesi
	21/32 Charolais ve 11/32 Nelore	277	-	-	-	0.27	0.73	0.394^{*}	

Çizelge 2.5c. Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri

Kaynak ve PCR ürünü	Irk	N	Pit-1					H_b	Verimle ilişkisi
			Genotip frekansları			Allel frekansları			
			AA	AB	BB	A	B		
Mukesh ve ark. (2008) 1350 bç	Gir	51	0.000	0.040	0.960	0.020	0.980	0.039*	#
	Kankrej	43	0.000	0.060	0.940	0.030	0.970	0.058*	
	Rathi	45	0.000	0.112	0.888	0.056	0.944	0.106*	
	Sahiwal	45	0.000	0.259	0.741	0.130	0.870	0.226*	
	Tharparkar	48	0.000	0.270	0.730	0.135	0.865	0.234*	
	Deoni	48	0.000	0.108	0.892	0.054	0.946	0.102*	
	Gaolao	44	0.000	0.288	0.712	0.144	0.836	0.280*	
	Hariana	42	0.000	0.228	0.772	0.114	0.886	0.202*	
	Mewati	48	0.000	0.124	0.876	0.062	0.938	0.116*	
	Ongole	42	0.000	0.096	0.904	0.048	0.952	0.091*	
	Amritmahal	42	0.000	0.072	0.928	0.036	0.964	0.069*	
	Dangi	37	0.027	0.082	0.891	0.068	0.932	0.127*	
	Kangyam	57	0.000	0.034	0.966	0.017	0.963	0.072*	
	Khillar	40	0.000	0.050	0.950	0.025	0.975	0.049*	
	Nagori	44	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000*	
	Red Kandhari	47	0.000	0.056	0.944	0.028	0.972	0.054*	
	Genel	723	0.002	0.119	0.881	0.063	0.937	0.118*	
Edriss ve ark. (2008) 451 bç	Siyah Alaca I. sürü	40	0.050	0.450	0.500	0.275	0.725	0.399*	#
	Siyah Alaca II. sürü	107	0.019	0.449	0.533	0.243	0.757	0.368*	
	Siyah Alaca III. sürü	55	0.018	0.564	0.418	0.300	0.700	0.420*	
	Siyah Alaca IV. sürü	60	0.050	0.350	0.600	0.225	0.775	0.349*	
	Siyah Alaca Genel	262	0.031	0.450	0.519	0.256	0.744	0.381*	
Zhang ve ark. (2009) 451 bç	Qinchuan	67	0.030	0.403	0.537	0.232	0.768	0.356*	Germany Yellow x Qinchuan sığırlarında AB genotipliler daha yüksek doğum ağırlığı ve cidago yüksekliğine sahip
	Limusin x Qinchuan	47	0.043	0.277	0.681	0.181	0.819	0.296*	
	Angus x Qinchuan	36	0.111	0.444	0.444	0.333	0.667	0.444*	
	Germany Yellow x Qinchuan	42	0.071	0.214	0.714	0.178	0.822	0.293*	
Jawasreh ve ark. (2009) 422 bç	Ürdün yerli sığırları	36	0.000	0.176	0.8235	0.088	0.912	0.160	#
	Siyah Alaca	45	0.046	0.255	0.697	0.174	0.826	0.288	
Misrianti ve ark. (2010) 611 bç	Siyah Alaca	45	0.022	0.444	0.533	0.244+	0756+	0.369*	#
Beigi Nassiri ve ark. (2010) 451 bç	Najdi	84	0.0357	0.2976	0.6666	0.1845	0.8155	0.301*	#

H_b beklenen heterozigotluk, # herhangi bir verimle ilişkilendirilmemiş, *allel frekanslarından hesaplanmış değerler ve +düzeltilmiş değerleri temsil etmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. İşletme

Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM)'ne bağlı Konuklar Tarım İşletmesi Konya'dan 57 km. uzaklıktaki Sarayönü İlçesi sınırları içinde yer almaktadır. İşletmenin kuzeyinde Gözlü ve Kökez köyleri, batısında Yenicekaya köyü ve Beşgöz gölü, doğusunda Sarayönü ilçesi bulunmaktadır. İşletmenin toplam arazi varlığı 42 610 dekar olup, bunun 35 275 dekarında tarla, bahçe ve yem bitkileri yetiştiriciliği yapılmaktadır. Yem bitkileri üretimi (3 854 dekar) hem tohumluk olarak hem de işletmede yetiştirilen damızlık hayvanların kaba yem ihtiyacını (yonca, silajlık mısır ve fiğ) karşılamak için yapılmaktadır. Geriye kalan 7 335 dekarı ise kültür dışı arazidir. İşletmenin sulanan arazi varlığı ise 4 800 dekardır. İklimi tipik karasal iklim olup, kışlar soğuk, yazlar genellikle sıcaktır.

3.1.2. Hayvan materyali

Hayvansal üretim faaliyeti bakımından Konuklar Tarım işletmesinde Esmer ırkı damızlık süt sığırcılığı yapılmaktadır. 2010 yılında yaklaşık olarak 230 sağmal süt sığırında sağımlar gerçekleştirilmiş, 60 inek kuruda olarak tespit edilmiştir. Sağmal inek oranı % 80 dolayındadır. İşletmenin sağım sistemi 2x12 balıkkılçığı şeklinde tasarlanmıştır (Şekil 3.1). Sabah ve akşam olmak üzere 12 saat aralıklarla 2 sağımcı tarafından gerçekleştirilen sağımlarda üretilen süt soğutma tankında depolanmakta ve 1 yıllık ihale usulü ile satılmaktadır. İşletme hayvansal üretim faaliyetinde bulunduğu gibi hem çiftçilerin damızlık hayvan ihtiyacını hem de besi materyali sağlaması açısından üreticilerin önemli kapılarından birisi haline gelmiştir.



Şekil 3.1. Westfalia 2 x 12 balıkkılçığı sağım sistemi

3.1.3. İşletmeden elde edilen veriler

3.1.3.1. Hayvanların bireysel kayıt bilgileri

Konuklar Tarım işletmesinde gerek işgücünden tasarruf gerekse insan hatalarından kaynaklanacak olumsuzlukları gidermek ve daha objektif değerlendirmeler yapabilmek için sürü yönetiminin sağlanması amacıyla bilgisayar destekli Westfalia DairyPlan C21 (Versiyon 5.2) sürü yönetim programı kullanılmaktadır. Bu program sayesinde hayvanlara ait bireysel bilgiler hem kullanıcı tarafından girilebilmekte hem de sistem tarafından kayıt altına alınabilmektedir. Çalışmada kullanılan sığırlara ait kayıtlar bilgisayara dayalı sürü yönetim programından elde edilmiştir.

3.1.3.2. Kan örnekleri

DNA izolasyonunda kullanılacak olan kan örnekleri sağmal ve kurudaki hayvanların boyun toplardamarından (*Vena jugularis*) EDTA (Etilen Diamin Tetra Aset Asidi)'lı vakumlu kan alma tüpleri ve kanül kullanılarak elde edilmiş ve +4^{o}C'deki soğuk zincirde korunarak S.Ü. Ziraat Fakültesi Hayvan Biyoteknolojisi Laboratuarına getirilmiştir. Üç yüz bir baş Esmer inekten alınan kan örnekleri DNA izolasyonu yapılana kadar derin dondurucuda –20 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3.3. Süt örnekleri

Süt bileşenlerinin analizinde kullanılacak süt örneğinin bir sağımda elde edilecek olan sütün tamamını homojen olarak temsil etmesi gerekmektedir. Özellikle süt bileşenlerinden yağ yüzdesi sağım süresince en çok varyasyon gösteren major bileşenlerden bir tanesidir. Günümüze kadar süt örneğinin alınması ya sağım kovaları karıştırılarak yada ön sağımdan sonra yaklaşık 40-50 ml kadar sütün alınması ile gerçekleştirilmektedir. Ancak son zamanlarda süt örnekleme aparatlarının varlığı örneklemenin sağım süresince elde edilen sütten homojen bir şekilde yapılmasına imkan vermektedir. Çalışmada Westfalia DairyPlan sürü yönetim sistemine ait süt örnekleme aparatları kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Westfalia DairyPlan süt örnekleme aparatları ve süt örneklemesi

Süt örneklemesi, iki ay öncesinden laktasyona başlamış olan sağmal inekler dikkate alınarak 2010 yılı Ocak ayında başlamış ve müteakip kontrol zamanına kadar laktasyona başlamış olan inekler süt kontrollerine dahil edilmişlerdir. Çalışma süresince meme problemlerine ve mastitisten kaynaklanan verim düşüklüğüne sahip olan hayvanlar ile reforme olarak sürüden ayrılan inekler değerlendirme dışı bırakılmışlardır. 2010 yılı Aralık ayında son süt örneklemeleri de alındıktan sonra en az 7 süt kontrolüne sahip olan ineklerin sütleri çalışmada kullanılmıştır. Toplamda 126 baş Esmer sığırdan alınan sütlerin analizleri sabah ve akşam olmak üzere sağımların bitiminden hemen sonra iki tekerrürlü olarak Lactoscan MMC-30 sn süt analiz cihazı ile yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Lactoscan MMC-30 sn süt analiz cihazı

Analizde süt bileşenlerinden sabah ve akşam sağımlarından alınan örneklerin yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^{o}C), pH ve iletkenlik (µ*S*/cm) değerleri ölçülmüş ve ortalamaları alınarak kontrol günü süt bileşenleri olarak değerlendirilmiştir.

3.1.4. Yemleme

İşletmedeki sığırlar büyüme ve gelişme çağlarına göre gruplar halinde ayrı barınaklarda yetiştirilmektedir. Laktasyondaki inekler ise günlük süt verim seviyelerine göre 3 ayrı padokta bulundurulmakta ve yem karma makinası ile günlük süt verim seviyelerine göre sağım sonrası yemlemeleri yapılmaktadır (Şekil 3.4).




Şekil 3.4. Ünifit yemlemeden görüntüler

Verim seviyeleri bakımından gruplar I. gruptaki inekler > 20 kg/baş/gün, 20 kg/baş/gün <II. gruptaki inekler > 10 kg/baş/gün, III. gruptaki inekler <10 kg/baş/gün olarak meydana gelmektedir. İşletmenin kendi bünyesinde karma yem hazırlama ünitesi bulunmadığından kullanılan karma yem (Çizelge 3.1) TİGEM'e bağlı Altınova Tarım işletmesinden temin edilmektedir.

Çizelge 3.1. Yem karmasında hammadde bileşenleri ve hesaplanmış bazı besin madde değerleri

Hammaddeler	**%**	**Hesaplanmış Değerler**		
Mısır	14.27	Ham protein	(%)	17.23
Arpa	9.51			
Buğday	22.2	Metabolik Enerji	(ME, kcal/kg)	2709
Kepek	10.31			
ATK	25.37	Ham selüloz	(%)	8.32
SFK	7.61			
Melas	4.8	Nötral Deterjan Selüloz	(NDS, %)	21.24
Bypass yağ	3.17			
M. tozu	1	Asit Deterjan Selüloz	(ADS, %)	2.73
DCP	0.56			
Tuz	0.4	Kalsiyum	(Ca, %)	1.09
Karbonat	0.7			
Vit+Min Kar.	0.1	Fosfor	(P, %)	0.56
Toplam	**100**			

Kaba yem kaynağı olarak yonca, fiğ, mısır silajı ve buğday sapı kullanılmaktadır. Çizelge 3.2'de işletmede sağmal ve kurudaki inekler için kullanılan karma ve kaba yemler ile hayvanlara verilen miktarları (kg/baş/gün) gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. İşletmede kullanılan karma ve kaba yemler ile verilen miktarları (kg/baş)

Yem Kaynağı	Sağmal inekler			Kurudaki inekler
	I. Grup	II Grup	III. Grup	
Karma Yem	12	8	6	4
Yonca	3	3	2	-
Fiğ	-	-	1	3
Mısır Silajı	28	26	22	10
Buğday Sapı	1	1	1	1
Toplam (kg/baş/gün)	44	38	32	18

Günlük süt verim seviyelerine göre 3 ayrı gruba ayrılan sağmal inekler ile kurudaki ineklere verilen yemin kuru madde tüketimi (KMT) bakımından hesaplanmış değerleri ise Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Sağmal ve kurudaki ineklere verilen yemin kuru madde tüketimi bakımından hesaplanmış değerleri (Anonim, 2005; Yavuz, 2001; Bahtiyarca, 2010)

KMT'nin %'si olarak hesaplanmış değerler		Sağmal inekler			Kurudaki inekler
		I. Grup	II. Grup	III. Grup	
Kuru madde tüketimi	(kg)	21.56	17.48	14.65	9.73
Ham protein	(%)	15.04	14.34	14.00	14.29
Metabolik Enerji	(ME, kkal/kg)	2767	2713	2680	2631
Ham selüloz	(%)	19.58	21.47	22.43	23.11
Nötral Deterjan Selüloz	(NDS, %)	39.59	42.36	43.44	42.63
Asit Deterjan Selüloz	(ADS, %)	19.23	22.14	23.35	23.06
Kalsiyum/Fosfor	(Ca/P)	1.84	1.88	1.84	1.78
Kaba yem oranı	(%)	50.46	59.27	63.55	63.41

3.2. Yöntem

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

Üç yüz bir baş Esmer sığırdan alınan kan örneklerinden genomik DNA molekülünün izolasyonunda Miller ve ark. (1988) tarafından bildirilen tuzla çöktürme DNA izolasyon protokolü labaratuvar ortamında optimize edilerek aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

1. -20 ºC'de muhafaza edilen kan örnekleri çözülene kadar oda sıcaklığında (24- 25 ºC) bekletilmiştir.
2. Her bir kan örneğinden 500 µl alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüp içine konulmuştur.
3. Örneklerin üzerine 1000 µl Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.4) ilave edilmiş ve kısa bir süre vorteksle iyice karıştırarak 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir.
4. Bekletme süresinin sonunda örnekler 5000 devir/dk'da 10 dak santrifüj edilmiştir.
5. Ependorf tüplerin üst kısmında toplanan sıvı kısım (süpernatant) dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan peletlerin (hücre kısmı) rengi gözlenerek, peletlerin rengi beyaz olana kadar Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi ile tekrar (en fazla 3 defa) muamele edilmiştir.
6. Peletlerin üzerine 1000 µl Fizyolojik Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.4) eklenmiş ve kısa bir süre karıştırılmıştır.
7. Örnekler 5000 devir/dk'da 7.5 dak santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda sıvı kısım dikkatli bir şekilde tekrar uzaklaştırılmıştır.
8. Peletlerin üzerine 400 µl Lisis TE Tampon Çözeltisi (Çizelge 3.4) eklenmiş ve peletlerin iyice çözünmesi sağlanmıştır.
9. Çözülen peletlerin üzerine 100 µl SDS (Sodyum Dedosil Sülfat, %20 lik) solusyonu ve 5 µl proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek hafifçe karıştırılmış ve 65 ºC'de 1.5 saat su banyosunda tutulmuştur. İnkübasyon süresince her 15 dakikada bir hafifçe karıştırılmıştır.
10. İnkübasyondan çıkarılan örneklerin üzerine 250 µl 6M NaCl Çözeltisi (Çizelge 3.4) eklenmiş ve 15 dk vorteksle iyice karıştırılmıştır.

11. Örnekler 12000 devir/dk'da 10 dk santrifüj edilerek üstte kalan ve DNA moleküllerini içeren sıvı kısım yeni bir ependorf tüp içine koyulmuştur.
12. Örnekler 12000 devir/dk'da 10 dk tekrar santrifüj edilmiş ve yine üstte kalan sıvı kısım (tuz kısmını almadan) yeni bir ependorf tüp içine alınmıştır.
13. Örnekler üzerine örnek hacminin iki katı hacimde % 99.9 luk soğuk etanol (-20 ^{o}C'de saklanan) ilave edilmiştir.
14. Soğuk etanol ilave edildikten sonra ependorf tüpü DNA iplikçikleri kümeleşinceye kadar 4–5 kez hafifçe karıştırılmıştır.
15. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüpün dibine çökmesi için tüp 10000 devir/dk'da 7 dk santrifüj edilmiştir.
16. Santrifüj sonunda etil alkol uzaklaştırılarak tüpün dibine çökmüş olan DNA peletlerinin üzerine 1000 µl % 70'lik etil alkol ilave edilerek 10000 devir/dk'da 5 dk santrifüj edilmiştir.
17. Santrifüj işleminden sonra tüpün üstünde yer alan alkol uzaklaştırılmıştır.
18. Tüp içindeki alkolün tamamen uzaklaşmasını sağlamak amacıyla örnekler, çeker ocak içinde kurumaya bırakılmıştır.
19. Tamamen kuruyan örnekler üzerine 100 µl TE Tampon Çözeltisi ilave edilmiş olup, DNA peletlerinin çözülmesi için kısa bir süre vortekslenmiş ve bir gece buzdolabında (+4 ºC'de) bekletilmiştir.

DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi / miktarı ve içerikleri Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltilerin molaritesi / miktarı ve içerikleri

Tampon Çözeltisi	Molarite/Miktar	İçerik
Eritrosit Lisis Tampon Çözeltisi	0.32 M 10 mM 5 mM	Sukroz EDTA $MgCl_2$
Fizyolojik Tampon Çözeltisi	75 mM 25 mM	NaCl EDTA
Lisis TE Tampon Çözeltisi	500 mM 20 mM 10 mM	Tris-HCI EDTA NaCI
TE Tampon Çözeltisi	10 mM 1 mM	Tris EDTA
6M NaCl Çözeltisi	35.064 g 100 ml'ye tamamlanır	NaCI bdH_2O

3.2.2. Genomik DNA miktarının ve kalitesinin hesaplanması

Çalışmada genomik DNA izolasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleşip gerçekleşmediğinin belirlenmesi amacıyla izole edilen genomik DNA örneklerinin miktar ve saflık kontrollerinin yapılmasında NanoDrop Spektrofotometre (ND 1000)'den yararlanılmıştır (Şekil 3.5). DNA ve RNA örneklerinin saflık dereceleri spektrofotometredeki 260 nm ve 280 nm değerlerinin oranlanması ile (OD_{260}/OD_{280}) belirlenmektedir. Saf DNA ve RNA eldesi için OD_{260}/OD_{280} oranlarının sırasıyla 1.8 ile 2.0'ye yakın olması izole edilen ürünlerin saf olduğuna işaret etmektedir. Bu oranın 1.8'den düşük olması ortamda protein ya da fenol artıklarının varlığına işaret etmektedir (Sambrook ve ark., 1989). Ancak iyi bir PCR optimizasyonu ile arzulanan bu değerlerin altındaki örneklerden başarılı bir şekilde ürün eldesi de sağlanabilmektedir.



Şekil 3.5. NanoDrop Spektrofotometre (ND 1000)

Spektrofotometrede okuma yaparken izole edilen DNA peletlerinin çözülmesi için kullanılan TE Tampon Çözeltisi ile cihazın kalibrasyonu yapılmış ve her bir genomik DNA örneğinden kalibrasyonda kullanılan miktar kadar (1 yada 2 ul) kullanılmıştır. Okuma yaparken 260 nm dalga boyunda nükleik asitler, 280 nm'de protein ve 230 nm'de içeriğe karışan protein ya da fenol gibi diğer bileşiklerin miktarları belirlenmiştir. OD_{260}/OD_{280} oranının yanında OD_{260}/OD_{230} oranı da nükleik asitlerin saflığının ikincil bir ölçüsüdür. Bu oran OD_{260}/OD_{280}'den genellikle biraz yüksek (1.8 - 2.2) olarak tespit edilir (ND-1000 Spectrophotometer V3.5 User's Manual).

3.2.3. Primerlerin seçimi

Çalışmada leptin geninin hedef bölgeleri intron 2 ile ekzon 2 ve ekzon 3 bölgeleridir. Sırasıyla Buchanan ve ark. (2002), Pomp ve ark. (1997), Haegeman ve ark. (2000) ve Lien ve ark. (1997) tarafından bildirilen primerler çalışmada kullanılmış ve PCR ile hedeflenen leptin geni bölgeleri çoğaltılmıştır. Pomp ve ark. (1997) tarafından intron 2 bölgesinde bulunan *Sau3*AI polimorfizminin istenmeyen (artifact bands) bantlar vermesinden dolayı Leifers ve ark. (2002) tarafından bu bölge için tekrar tasarlanan başka bir primer daha çalışmada kullanılmıştır.

Pit-1 geninin hedef bölgesi ise intron 5 - ekzon 6 olup, Woollard ve ark. (1994)'nın bildirdiği primer çifti çalışmada kullanılmıştır.

Çizelge 3.5'de leptin ve Pit-1 genlerinde PCR ile çoğaltılması hedeflenen gen bölgeleri, kullanılan primerler, elde edilen PCR ürünleri ile birlikte genotipler verilmiştir.

Çizelge 3.5. Leptin ve Pit-1 genlerinde PCR ile çoğaltılması hedeflenen gen bölgeleri,kullanılan primerler, elde edilen PCR ürünleri ile birlikte genotipleri

Gen ve Gen Bölgesi	Primer sekansları ve yararlanılan kaynaklar	Kesim Enzimi	PCR Ürünü	Genotipler
Leptin Ekzon 2	**Kaynak:** Buchanan ve ark. (2002) Forward 5' -ATGCGCTGTGGACCCCTGTATC-3' Reverse 5' –TGGTGTCATCCTGGACCTTCC-3'	*Kpn*2I	94 bç	CC: 75+19 CT: 94+75+19 TT: 94
Leptin İntron 2	**Kaynak:** Pomp ve ark. (1997) Forward 5' -GTCACCAGGATCAATGACAT-3' Reverse 5' –AGCCCAGGAATGAAGTCCAA-3'	*Sau3*AI	1820 bç	AA: 730+690+400 AB: 730+690+400+310+90 BB: 730+690+310+90 CC: 730+470+400+220 AC: 730+690+470+400+220 BC:730+690+470+400+310+220+90
Leptin İntron 2	**Kaynak:** Leifers ve ark. (2002) Forward 5' –TGGAGTGGCTTGTTATTTTCTTCT-3' Reverse 5' –GTCCCCGCTTCTGGCTACCTAACT-3'	*Sau3*AI	422 bç	AA: 390+32 AB: 390+303+32+88 BB: 303+88+32
Leptin Ekzon 3	**Kaynak:** Haegeman ve ark. (2000) Forward 5' –GGGAAGGGCAGAAAGATAG-3' Reverse 5' –TGGCAGACTGTTGAGGATC-3'	*Hph*I	331 bç	CC: 331 CT: 331+311+20 TT: 311+20
Leptin İntron 2	**Kaynak:** Lien ve ark. (1997) Forward 5' –GTCTGGAGGCAAAGGGCAGAGT -3' Reverse 5' –CCACCACCTCTGTGGAGTAG -3'	*Bsa*AI	522 bç	AA: 522 AG: 522+441+81 GG: 441+81
Pit-1 İntron 5-Ekzon 6	**Kaynak:** Woollard ve ark. (1997) Forward 5' -AAACCATCATCTCCCTTCTT-3' Reverse 5' –AATGTACAATGTGCCTTCTGAG-3'	*Hinf*I	451 bç	AA: 451 AB: 451+244+207 BB: 244+207

3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), DNA'nın kalıp olarak kullanıldığı ve *DNA* polimeraz enzimi vasıtasıyla istenilen bir genin ya da özgün bir DNA dizisinin primerler tarafından yönlendirilerek 3 aşamalı olan belirli süre ve farklı sıcaklıklarda çok sayıda kopyasının elde edilebilmesi için uygulanan *in vitro* bir yöntemdir. Pratikte ürün verimi biraz daha düşük olmakla birlikte teorik olarak döngü sayısına bağlı olarak 2^n kadar DNA fragmanı çoğaltılmış olur.

PCR programı genel olarak 3 aşaması olan döngülerden meydana gelmektedir. Bu aşamalar;

1. Ayrılma (*denaturation*): DNA iplikçiklerinin yüksek sıcaklıkta (90-95 ^oC) birbirinden ayrılması,
2. Bağlanma/yapışma (*annealing*): Primerin hedef DNA zincirindeki komplementeri olduğu bölgelere yapışması (primer/primerlerin bağlanma sıcaklığı dikkate alınmalı),
3. Sentez/uzama (*extension*): *Taq DNA polimeraz* enzimi yardımıyla uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat ($dNTP_s$) varlığında yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde primerlerin DNA zincirindeki 3' ucundan zincirin 5'-3' yönünde sentezlenmesidir.

Sentez esnasında kullanılan DNA polimeraz enzimi genellikle yüksek sıcaklıklarda yaşayan bir canlı olan *Thermus aquaticus* mikroorganizmasından elde edilmektedir.

Çalışmada uygun amplifikasyon koşullarının saptanması için PCR reaksiyonundaki primerlerin, *Taq* DNA polimerazın, $MgCl_2$ ve $dNTP_s$'nin farklı konsantrasyonları yanında TC-512 Master Gradient Thermal Cycler PCR cihazında (Şekil 3.6) kullanılan primerlere bağlı olarak sıcaklık, zaman dilimleri ve döngü sayılarında bazı optimizasyonlara gidilmiştir. En iyi amplifikasyonun gerçekleştiği koşullar ilgili genin PCR uygulamaları için kullanılmıştır. Şekil 3.6'da TC-512 Master Gradient Thermal Cycler PCR cihazının resmi ile Çizelge 3.6'da amplifikasyonlarda kullanılan reaksiyon koşulları verilmiştir.



Şekil 3.6. TC-512 Gradient Thermal Cycler PCR cihazı

Çizelge 3.6. Leptin ve Pit-1 genleri ile ilgili amplifikasyonlarda kullanılan reaksiyon koşulları

Gen Polimorfizm / Enzim	Başlangıç Ayrılması	Ayrılma	Bağlanma	Uzama	Döngü Sayısı	Son Uzama
Leptin Ekzon 2 / *Kpn*2I (94 bç)	94 °C / 5 dk	94 °C / 45 sn	60.3 °C / 45 sn	72 °C / 1 dk	35	72 °C / 10 dk
Leptin İntron 2 / *Sau3*AI (1820 bç)	94 °C / 5 dk	94 °C / 60 sn	60.3 °C / 30 sn	72 °C / 1 dk	40	72 °C / 10 dk
Leptin İntron 2 / *Sau3*AI (422 bç)	94 °C / 2 dk	94 °C / 60 sn	58.1 °C / 60 sn	72 °C / 1 dk	35	72 °C / 15 dk
Leptin Ekzon 3 / *Hph*I (331 bç)	94 °C / 10 dk	94 °C / 45 sn	53.8 °C / 30 sn	72 °C / 1 dk	30	72 °C / 10 dk
Leptin İntron 2 / *Bsa*AI (522 bç)	94 °C / 5 dk	94 °C / 30 sn	61°C / 30 sn	72 °C / 1 dk	35	72 °C / 5 dk
Pit-1 İntron 5 -Ekzon 6 *Hinf*I (451 bç)	95 °C / 10 dk	95 °C / 30 sn	571.1 °C / 60 sn	72 °C / 2 dk	35	72 °C / 10 dk

PCR ürünlerini elde etmek amacıyla her bir PCR tüpüne (0.2 ml'lik) DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA örneklerinden Çizelge 3.7'de belirtilen miktarlar kadar ilave edilmiştir. Çalışmada DNA konsantrasyonlarının eşitlenmesine gerek duyulmamıştır. PCR reaksiyonunda kullanılan moleküler biyoloji hassasiyetindeki diğer kimyasallar ve konsantrasyonları Çizelge 3.7'de verilmiştir. İlgili gen bölgesinin çoğaltılması amacıyla DNA örneği dışındaki diğer kimyasallar (*Fermentas Life Sciences, Vilnius, Litvanya*) ayrı bir tüp (1.5 ml'lik) içerisinde uygun

konsantrasyonlarda karışımları sağlanmış ve her bir PCR tüpüne toplamda 10 µl olacak şekilde ilave edilmişlerdir.

Çizelge 3.7. PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

	Gen Gen Bölgesi Restriksiyon Enzimi PCR ürünü	***Leptin*** Ekzon 2 *Kpn*2I (94 bç)	***Leptin*** İntron 2 *Sau3*AI (1820 bç)	***Leptin*** İntron 2 *Sau3*AI (422 bç)	***Leptin*** Ekzon 3 *Hph*I (331bç)	***Leptin*** İntron 2 *Bsa*AI (522 bç)	***Pit-1*** İntron 5 - Ekzon 6 *Hinf*I (451 bç)
PCR Reaksiyonu	DNA	1 µl	1 µl	1.5 µl	1 µl	1.5 µl	1 µl
	10x Buffer	1X	1X	1X	1X	1X	1X
	25mM $MgCl_2$	1.5 mM	1.5 mM	1.5 mM	1.25 mM	1.5 mM	1.5 mM
	$dNTP_s$ (2.5 mM)	0.2 mM	0.2 mM	0.2 mM	0.2 mM	0.2 mM	0.2 mM
	F-Primer (10 µM)	0.25 µM	0.2 µM	0.3 µM	0.2 µM	0.3 µM	0.3 µM
	R-Primer (10 µM)	0.25 µM	0.2 µM	0.3 µM	0.2 µM	0.3 µM	0.3 µM
	Taq Polimeraz (5 U/µl)	0.5 U	0.5 U	0.5 U	0.5 U	0.5 U	0.5 U
	Steril bdH_2O	6 µl	6.2 µl	5.4 µl	6.1 µl	5.4 µl	5.9 µl
	Toplam (µl)	10	10	10	10	10	10

3.2.5. PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi ve agaroz jel elektroforez uygulamaları

PCR işleminin hemen sonrasında amplifikasyonlar sonucu elde edilen PCR ürünleri bekletilmeden ilgili restriksiyon enzimi ile kesime tabi tutulmuşlardır. Çizelge 3.8'de amplifikasyonlar sonucu çoğaltılan gen bölgeleri ile bu gen bölgelerini tanıyan restriksiyon enzimleri ve kesim reaksiyonu bileşenleri verilmiştir.

Çizelge 3.8. PCR ürünlerini tanıyan restriksiyon enzimleri ve kesim reaksiyonu bileşenleri

Gen			**Leptin**					**Pit-1**
Gen Bölgesi			Ekzon 2	İntron 2	İntron 2	Ekzon 3	İntron 2	İntron 5 - Ekzon 6
Restriksiyon Enzimi			*Kpn*2I	*Sau3*AI	*Sau3*AI	*Hph*I	*Bsa*AI	*Hinf*I
PCR ürünü (bç)			94	1820	422	331	522	451
Buffer			Tango	Tango	Tango	B	Tango	R
			Alınan Miktar (µl) ve Son Konsantrasyonu					
PCR Ürünü		(µl)	10	10	10	10	10	10
Kesim miksi	Buffer	(10X/µl)	2 (1X)	2 (1X)	2 (1X)	2 (1X)	2 (1X)	2 (1X)
	Restriksiyon Enzimi	(10 U/µl)	0.5 (5U)	0.5 (5U)	0.5 (5U)	0.6 (6U)	0.6 (6U)	0.6 (6U)
	bdH_2O	(µl)	7.5	7.5	7.5	7.4	7.4	7.4
Toplam		(µl)	20	20	20	20	20	20

İlgili gen bölgesinin kesilmesi amacıyla amplifikasyonlar sonucu çoğaltılan PCR ürünlerinin tamamı olan 10 µl alınmıştır. Kesim miksi ise Çizelge 3.8'de verilen reaksiyon tamponu (Buffer), ilgili restriksiyon enzimi ve bdH_2O'un uygun miktar ve konsantrasyonları ayarlanarak 10 µl'de hazırlanmış ve her bir PCR tüpüne toplamda 20 µl olacak şekilde ilave edilmişlerdir.

Literatürde ilgili gen bölgesi için kullanılan restriksiyon enzimleri daha kısa sürelerde kesim işlemini gerçekleştirmiş olmalarına rağmen mevcut çalışmada uygulama kolaylığı olması bakımından enzim ile PCR ürünlerinin muamele süresi gece boyu yapılmıştır (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9. Amplifikasyonlar sonucu elde edilen PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesim sıcaklıkları ve agaroz jel konsantrasyonları ile jelde yürütme voltaj ve süreleri

Gen			***Leptin***			***Pit-1***
Gen Bölgesi	Ekzon 2	İntron 2	İntron 2	Ekzon 3	İntron 2	İntron 5 - Ekzon 6
Restriksiyon Enzimi	*Kpn*2I	*Sau3*AI	*Sau3*AI	*Hph*I	*Bsa*AI	*Hinf*I
PCR ürünü (bç)	94	1820	422	331	522	451
Enzim Kesim Sıcaklığı	55 ^oC	37 ^oC	37 ^oC	37 ^oC	35 ^oC	37 ^oC
Enzim Kesim Süresi	Gece boyu					
Jel Konsantrasyonu (%)	3	3	2	2	2.5	2
Volt	80	80	80	85	80	80
Süre (dk)	90	90	120	120	120	90

Kesim işlemlerinin tamamlanmasından sonra RFLP yöntemi ile çoğaltılan ve ilgili restriksiyon enzimleri ile kesilen DNA örneklerinin elektroforetik ayrımı için agaroz jel (Prona Agaroz; Basica Le, Burgos, İspanya) kullanılmıştır. Kesim ürünleri Çizelge 3.9'da belirtilen jel konsantrasyonlarında hazırlanan agaroz jellerde yürütülmüşlerdir.

Jeli hazırlamak için, jel tankının kapasitesi kadar 1X TBE tampon çözeltisi (10.8 g Tris, 5.5 g borik asit ve 4 ml 0.5 M EDTA (Etilendiamintetraasetikasit pH:8)) alındıktan sonra arzu edilen jel konsantrasyonu kadar (% 2-2.5 veya 3) agaroz tartılıp erlen mayer içerisinde yüksek sıcaklıkta (300–305 ^oC'de) bir mikrodalga fırın içinde 2–3 dk ısıtılarak agaroz tampon çözelti içerisinde eritilmiştir. Kaynama esnasında mikrodalga fırınının sıcaklığı biraz düşürülerek yaklaşık 10–20 sn'de bir çözelti sallamak suretiyle şeffaf bir görünüm kazanıncaya kadar karıştırılmıştır. Karışım yaklaşık 50-60 ^oC'ye kadar soğutulduktan sonra kesim ürünlerinin UV ışık altında görünmesini sağlamak amacıyla 100 ml'de 1.5 µl etidyum bromür olacak şekilde

etidyum bromür çözeltiye eklenmiş ve homojenlik sağlanmak amacıyla çözelti hafifçe sallanmıştır.

İşlem sonunda kesim ürünlerinin jele yükleneceği kuyuların meydana gelmesini sağlamak amacıyla jele taraklar yerleştirilmiş ve çözelti hava kabarcığı oluşturmadan jel tankına dökülerek oda sıcaklığında katılaşması beklenmiştir (Şekil 3.7). Katılaşan jel, tankla birlikte elektroforez cihazına yerleştirilmiştir. Agaroz jelin hazırlanmasında kullanılan 1X TBE elektrolit tampon çözeltisi jelin üst kısmını kapatacak şekilde elektroforez tankına ilave edilmiş ve taraklar jelin içerisinden çıkarılmıştır.



Şekil 3.7. Jel tankına agaroz jelin dökülmesi

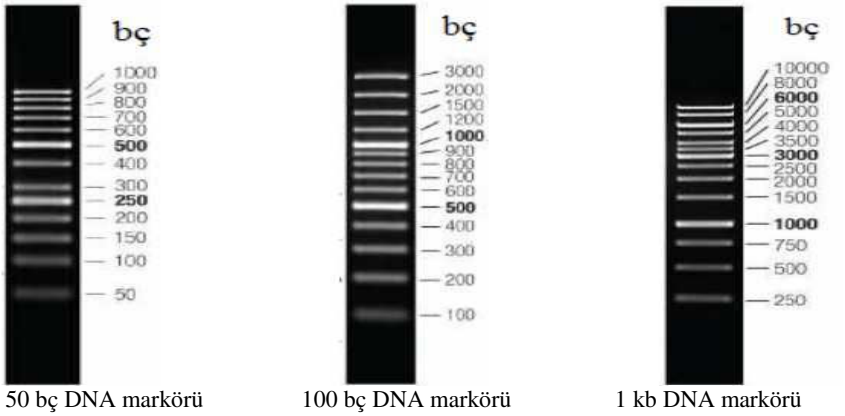
3.2.6. Kesim ürünlerinin jel kuyularına yüklenmesi

Kesim ürünlerinin elektroforez içindeki 1X TBE çözeltisine karışmasını önlemek ve yürütülmesi esnasında kolay takibi amacıyla yoğunluğu yüksek 6X yükleme boyası ((10 mM Tris-HCl (pH 7.6), % 0.03 bromophenolblue, % 0.03 xylene cyanol FF, % 60 gliserol 60 mM EDTA)) kesim ürünlerine ilave edilmiştir. Otomatik pipet (Thermo) yardımıyla 6X yükleme boyasından her bir tüpe 3 µl ilave edildikten sonra her biri toplamda 23 µl'lik olan karışımlar jeldeki yuvalara yüklenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Kesim ürünlerinin jel kuyularına yüklenmesi

Çalışmada hem uygun amplifikasyon koşullarının belirlenmesindeki PCR optimizasyonu sonuçlarını görmek hem de DNA kesim ürünlerinin (bantlarının) moleküler büyüklüklerinin elektroforez sonrası belirlenmesi amacıyla jeldeki yuvalardan bir tanesine standart olarak 1 birim Loading Dye + 2 birim DNA markörü + 3 birim bdH_2O olacak şekilde hazırlanan markörlerden 2.5 µl kadar kullanılmıştır. Standart markör olarak çalışmada 50 bç, 100 bç veya 1 kb'lık DNA markörleri (Fermentas Life Sciences) kullanılmıştır (Şekil 3.9).



50 bç DNA markörü 100 bç DNA markörü 1 kb DNA markörü

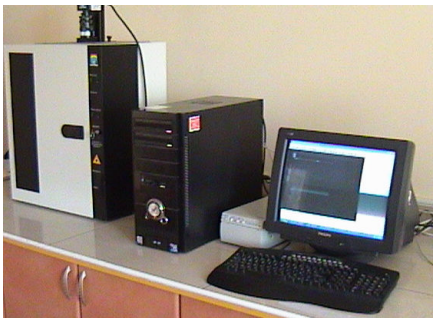
Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan DNA markörleri

3.2.7. Kesim ürünlerinin jelde yürütülmesi ve bant profillerinin elde edilmesi

Elektroforez işlemi sonucunda jel kuyucuklarına yüklenen kesim ürünlerini elektrik akımı olan ortamda birbirlerinden ayırmak için yatay elektroforez cihazı (Şekil 3.10) kullanılmıştır. Çizelge 3.9'da belirtilen voltaj ve sürelerde ara sıra kontrol edilerek elektroforezde yürütülen kesim ürünleri daha sonra UV ışığı altında gözlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.10. Yatay elektroforez cihazı

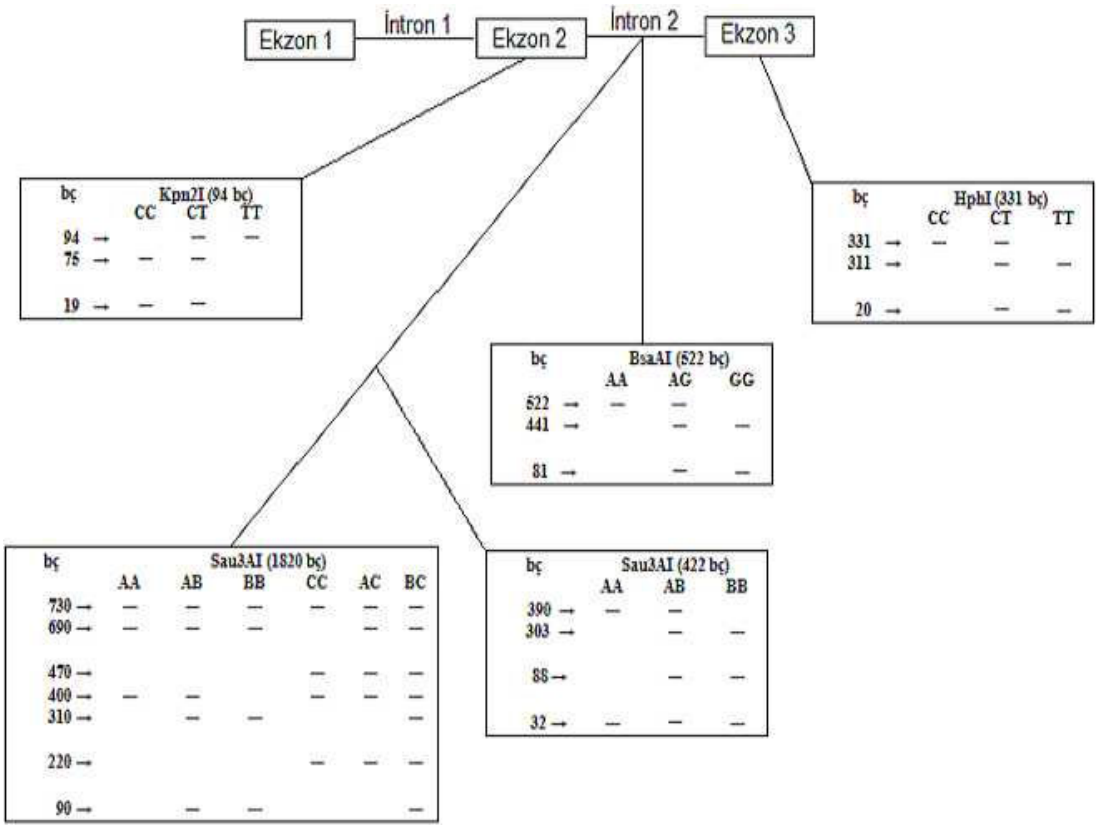


Şekil 3.11. Kesim ürünlerinin UV ışığı altında gözlenmesi

3.2.8. Bant profillerinin değerlendirilmesi, genetik ve istatistik analizler

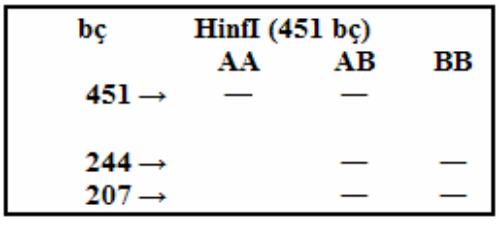
3.2.8.1. Bant profillerinin değerlendirilmesi

Genotiplere ait bant profillerinin değerlendirilmesinde jel dokümantasyon sisteminde elde edilen görüntüler kullanılmıştır. Leptin geni polimorfizmleri için Şekil 3.12'de gösterilen veri matrisine göre bireylerin genotiplendirmesi yapılmıştır.



Şekil 3.12. Leptin geni polimorfizmlerinin şematik gösterimi

Pit-1 geni polimorfizmi için ise Şekil 3.13'de gösterilen veri matrisine göre bireylerin genotiplendirmesi yapılmıştır.



Şekil 3.13. Pit-1 geni polimorfizminin şematik gösterimi

3.2.8.1. Genetik analizler

Bant skorlamalarından elde edilen veri matrisi ile leptin ve Pit-1 geni polimorfizmleri sonucu bireylerin genotiplendirmesi tamamlandıktan sonra allel ve genotip frekasları ile ilgili gen bölgelerinin heterozigotluk (H; Nei, 1973) değerlerinin analizinde PopGene Version 1.32 (Yeh ve ark., 1997) istatistik paket programı kullanılmıştır. Elde edilen değerler bakımından Esmer sığır populasyonunun Hardy – Weinberg dengesinde olup olmadığının belirlenmesinde χ^2 testi yapılmıştır. Populasyonda ele alınan genler bakımından belirlenen genotiplerden herhangi birisinin beklenen frekansının 5'ten küçük olmaması ve örnek büyüklüğünün 50'den büyük olmasından dolayı χ^2 testinde Yates düzeltmesi yapılmamıştır (Düzgüneş ve ark., 1983).

3.2.8.1. Süt verimi ve kompozisyonunun istatistik analizleri

Esmer sığırların süt verimi ve bileşenleri ile ilgili olarak ayda bir olmak üzere işletmeden aşağıdaki özellikler tespit edilerek bu araştırmada incelenmiştir.

- Kontrol günü süt verimi (KSV)
- Yağ (%)
- Protein (%)
- Laktoz (%)
- Yoğunluk (kg/m^3)
- Yağsız kuru madde (%)
- Kül (%)
- Donma noktası (^oC)
- pH ve iletkenlik (μS/cm)

Kontrol sağımları işletmenin süt sağım düzenine uygun olarak sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa yapılmış ve sağımların bitiminden hemen sonra kontrol günü süt verimleri (KSV) ile hayvanlara ait bilgiler bilgisayar destekli Westfalia DairyPlan C21 (Versiyon 5.2) sürü yönetim programından elde edilmiştir. Sabah ve akşam süt kontrollerinde alınan süt örneklerinin analizi sağım bittikten hemen sonra gerçekleştirilmiş ve süt bileşenlerinin sonuçları elde edilmiştir. Sabah ve akşam

değerlerinin ortalamaları alınarak süt verimi ve bileşenleri ile ilgili günlük değerler tespit edilmiştir.

İşletmede yetiştirilen hayvanların laktasyon süt verimlerinin hesaplanmasında kolaylığı ve çabuk anlaşılması sebebiyle Hollanda metodu tercih edilmiştir. Hollanda metodu ile laktasyon süt veriminin hesaplanmasındaki yaklaşım, günlük ortalama süt verimi (GOSV) ile laktasyon süresinin çarpılmasıdır (Eşitlik 3.1).

$$LSV = GOSV \times LS \qquad \textbf{(3.1)}$$

Hesaplamada kullanılan GOSV, her kontrolde elde edilen süt verim miktarları toplamının kontrol günleri sayısına bölünmesi ile belirlenmektedir (Eşitlik 3.2).

$$GOSV = (\Sigma ki / \Sigma n) \qquad \textbf{(3.2)}$$

ki = i. kontrol süt verimi (kg)

n = kontrol sayısı

Laktasyon süresi ise LS = n.ka – (ka / 2 - A) eşitliğinden hesaplanmaktadır. Formülde n; kontrol sayısını, ka; kontrol aralığı (gün) ve A; doğumla ilk kontrol arası geçen süredir (gün).

Tamamlanmamış ve 305 günden uzun süren laktasyonlara sahip hayvanların 305 günlük laktasyon süt verimlerinin (LSV_{305}) hesaplanmasında düzeltme faktörleri kullanılmıştır (Akman ve Eliçin, 1984).

Çalışmada LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri gibi üzerinde durulan özelliklere etkili olabilecek çevre faktörlerinin etkilerinin belirlenmesinde en küçük kareler metodu kullanılmış ve analizler SAS istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir (SAS, 2002, Ver. 9). Etkisi incelenen faktörler arasında faktör seviyelerinin bütün halleri diğer faktörün bütün hallerinde bulunmadığından interaksiyona bakılmamıştır. Üzerinde durulan özellikler bakımından modeldeki çevre faktörleri dikkate alınarak standardizasyonlar gerçekleştirilmiş ve genotipin etkisini belirlemek amacıyla istatistik analizlerde kabul edilen matematik modeller sırasıyla takip eden sayfalarda verilmiştir.

- 126 baş Esmer sığıra ait 305 günlük laktasyon süt veriminin (LSV_{305}, kg/laktasyon) analizinde 377 laktasyon veri kaydından yararlanılmıştır. Analizde genel doğrusal model (GLM), SAS Proc GLM metodu kullanılmış olup;

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + S_k + G_l + \varepsilon_{ijklm} \qquad \textbf{(3.3)}$$

Modelde (Eşitlik 3.3);

Y_{ijkml}: *i.* yılında, *j*. laktasyona başlama ayında, *k.* laktasyon sırasında, *l.* genotipteki , *m.* hayvanın LSV_{305}'ne ait değeri,

μ: LSV_{305}'ye ait populasyon ortalaması,

α_i: *i*. yılının etki miktarı, *i* = 2004, 2005,……..., 2010

β_j: *j*. laktasyona başlama ayının (LBA) etki miktarı, *j*=1, 2,……,12 (Ocak, Şubat,……..,Aralık)

S_k: *k*. laktasyon sırasının (LS) etki miktarı, *k* = 1, 2,……, 6

G_l: *m*. genotipin etki miktarı, leptin (Ekzon 2_*Kpn*2I, İntron 2_*Sau3*AI, Ekzon 3_*Hph*I, İntron 2_*Bsa*AI, İntron 2_*Sau3*AI) ve pit-1 (İntron 5 - Ekzon 6_*Hinf*I) genotipleri

ε_{ijkl}: Hata etkisini ifade etmektedir.

- KSV (kg/gün), süt bileşenleri (yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC)) ve sütün pH ve iletkenlik (u*S*/cm) değerlerine ait istatistik analizlerde tekrarlanan ölçümler için karışık modeller (MM) SAS Proc Mixed metodu kullanılmıştır (Eşitlik 3.4). Ayda bir yapılan kontrol kayıtları ile ilgili olarak analizde hayvanların 2004 ile 2010 yılları arasında elde edilen KSV'de ilk 10 kontrol verim kayıtları, süt bileşenleri ile ilgili olarak yalnız 2010 yılındaki belirlenen en az 7 en fazla 10 kontrol süt bileşen kayıtları değerlendirmeye alınmıştır. KSV (kg/gün) bakımından 126 baş hayvanın toplamda 3529 kontrol günü süt verim değerinden, süt bileşenlerine ait analizde ise 1051 adet kontrol süt bileşen değerinden yararlanılmıştır. İstatistik analizde kullanılan modeller (Çizelge 3.10) takip eden sayfalarda izah edilmiştir.

$$Y_{ijklmn} = \mu + \alpha_i + \beta_j + S_k + G_l + \gamma_{ijklm} + p_{ijklmn} + bx_{ijklm} + \varepsilon_{ijklmno} \quad \textbf{(3.4)}$$

Modelde (Eşitlik 3.4);

$Y_{ijklmno}$: *i.* yılında, *j*. laktasyona başlama ayında, *k.* laktasyon sırasında, *l.* genotipteki*, m.* kontroldek*i n.* hayvanın ilgili özelliğine [KSV (kg/kontrol), yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC), pH ve iletkenlik (u*S*/cm)] ait değeri,

μ : ilgili özelliğe ait populasyon ortalaması,

α_i : *i*. yılının etki miktarı, *i* = 2004, 2005,……..., 2010

β_j : *j*. laktasyona başlama ayının (LBA) etki miktarı, *j*=1, 2,……,12 (Ocak, Şubat,……..,Aralık)

S_k : *k*. laktasyon sırasının (LS) etki miktarı, *k* = 1, 2,……, 6

G_l : *m*. genotipin etki miktarı, leptin (Ekzon 2_*Kpn*2I, İntron 2_*Sau3*AI, Ekzon 3_*Hph*I, İntron 2_*Bsa*AI, İntron 2_*Sau3*AI) ve pit-1 (İntron 5 - Ekzon 6_*Hinf*I) genotipleri

γ_{ijklm} : *i.* yılında, *j*. laktasyona başlama ayında, *k.* laktasyon sırasında, *l.* genotipteki*, m.* kontrolün etki miktarı, (*m* = 1, 2, ……..,7-10)

p_{ijklmn} : *i.* yılında, *j*. laktasyona başlama ayında, *k.* laktasyon sırasında, *l.* genotipteki*, m.* kontroldek*i n.* hayvanın etkisi (subject effect),

bx_{ijklm} : üzerinde durulan özellikler üzerine KSV için sağımda geçen günün (SGG); yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), kül (%) ve donma noktası (^oC) için KSV ve iletkenliğin; yağsız kuru madde (%) için KSV, yağ ve iletkenliğin; pH ve iletkenlik için KSV'nin kısmi regresyon katsayısı,

$\varepsilon_{ijklmno}$: Hata etkisini ifade etmektedir.

Süt bileşenlerinin istatistik analizinde sadece 2010 yılında veriler elde edildiğinden yılın etkisi (α_i) modellerden çıkarılarak diğer faktörlere göre standardizasyon gerçekleştirilmiştir.

İstatistik analizler sonucu elde edilen hangi iki ortalama arasındaki farkın istatistik olarak önemli olup olmadığının kontrolünde asgari önemli fark testi yapılmış olup, LSV_{305} için MSTAT-C (1989) istatistik programı, KSV ve süt bileşenleri içinse PDMIX800 programı (Saxton, 1998) kullanılmıştır.

Tekrarlanan ölçümler bir deneme ünitesindeki bireylerden belirli bir zaman süresince belirli aralıklarla elde edilen değerlerden sağlanmaktadır. Bu ölçümlerde aynı

hayvanlardan birbirlerine yakın zamanlarda alınan değerler hem diğer zamanlara hem de diğer hayvanların verilerine kıyasla daha ilişkili olup genellikle homojen bir yapıda değildirler. Son yıllarda tekrarlanan ölçümlü denemelerde elde edilen verilerin analizinde ölçümler arası ilişkili olma durumu da göz ardı edilmeden modele katılmasını sağlayan farklı varyans-kovaryans yapılarının kullanımı mümkün hale gelmiştir (Wolfinger ve Chang 1995; Littell ve ark., 1998; Wang ve Goonewardene, 2004; Moser, 2004; Littell ve ark., 2005). Bu araştırmada kontrollerden elde edilen ölçümlerden veriler elde edildiğinden varyans analizine kıyasla daha esnek olarak modellemeye imkan tanıyan homojen ve heterojen farklı varyans-kovaryans yapıları karşılaştırılarak en iyi uyum sağlayan model, üzerinde durulan özelliğin istatistik analizinde kullanılmıştır. Varyans-kovaryans matris yapısının modellenmesi amacıyla homojen varyans-kovaryans modellerinden bileşik simetri (Compound Symmetry, CS), birinci dereceden otoregresif [First-Order Autoregressive, AR(1)] ve Toeplitz (TOEP) ile heterojen varyans-kovaryans modellerinden yapılandırılmamış (Unstructured, UN), heterojen bileşik simetri (Heterogeneous Compound Symmetry, CSH), Huynh-Feldt (HF) ve birinci dereceden anti-bağımlı [First-Order Ante-dependence, ANTE(1)] modelleri araştırmada bilgi kriterlerine göre karşılaştırılmış ve ilgili özelliğe en iyi uyum gösteren model analizde tercih edilmiştir. Kovaryans parametre tahmin yöntemi olarak REML (restricted maximum likelihood**,** kısıtlandırılmış en çok olabilirlik) metodu kullanılmıştır. Araştırmada 10 kontrolde elde edilen veriler olmasına karşın kullanılan varyans-kovaryans yapılarının kolay anlaşılabilmesi için dört tekrarlanan ölçümlü durumda ölçümler arası kovaryans matris yapıları (Wolfinger ve Chang 1995; Wang ve Goonewardene, 2004; Kincaid, 2005; İyit, 2008) Çizelge 4.10'da verilmiş olup, köşegenlerindeki varyans değerleri sabit olanlar homojen varyans-kovaryans modellerini (*), değişken olanlar ise heterojen varyans-kovaryans modellerini (**) temsil etmektedir.

Çizelge 3.10. Tekrarlanan ölçümler arası varyans-kovaryans model yapıları

Model Adı	Model Yazımı[+]
Yapılandırılmamış[**] Unstructure (UN)	$\begin{vmatrix} \sigma_1^2 & \sigma_{12} & \sigma_{13} & \sigma_{14} \\ & \sigma_2^2 & \sigma_{23} & \sigma_{24} \\ & & \sigma_3^2 & \sigma_{34} \\ & & & \sigma_4^2 \end{vmatrix}$
Bileşik simetri[*] (Compound Symmetry, CS),	$\begin{vmatrix} \sigma^2+\sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 \\ & \sigma^2+\sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 \\ & & \sigma^2+\sigma_1 & \sigma_1 \\ & & & \sigma^2+\sigma_1 \end{vmatrix}$
Heterojen Bileşik Simetri[**] (Heterogeneous Compound Symmetry, CSH)	$\begin{vmatrix} \sigma_1^2 & \sigma_1\sigma_2\rho & \sigma_1\sigma_3\rho & \sigma_1\sigma_4\rho \\ & \sigma_2^2 & \sigma_2\sigma_3\rho & \sigma_2\sigma_4\rho \\ & & \sigma_3^2 & \sigma_3\sigma_4\rho \\ & & & \sigma_4^2 \end{vmatrix}$
Birinci dereceden otoregresif[*] [First-Order Autoregressive, AR(1)]	$\begin{vmatrix} 1 & \rho & \rho^2 & \rho^3 \\ & 1 & \rho & \rho^2 \\ & & 1 & \rho \\ & & & 1 \end{vmatrix}$
Huynh-Feldt (HF)[**]	$\begin{vmatrix} \sigma_1^2 & \frac{\sigma_1^2+\sigma_2^2}{2}-\lambda & \frac{\sigma_1^2+\sigma_3^2}{2}-\lambda & \frac{\sigma_1^2+\sigma_4^2}{2}-\lambda \\ & \sigma_2^2 & \frac{\sigma_2^2+\sigma_3^2}{2}-\lambda & \frac{\sigma_2^2+\sigma_4^2}{2}-\lambda \\ & & \sigma_3^2 & \frac{\sigma_3^2+\sigma_4^2}{2}-\lambda \\ & & & \sigma_4^2 \end{vmatrix}$
Birinci dereceden anti-bağımlı[**] [First-Order Ante-dependence, ANTE(1)]	$\begin{vmatrix} \sigma_1^2 & \sigma_1\sigma_2\rho_1 & \sigma_1\sigma_3\rho_1\rho_2 & \sigma_1\sigma_4\rho_1\rho_2\rho_3 \\ & \sigma_2^2 & \sigma_2\sigma_3\rho_2 & \sigma_2\sigma_4\rho_2\rho_3 \\ & & \sigma_3^2 & \sigma_3\sigma_4\rho_3 \\ & & & \sigma_4^2 \end{vmatrix}$
Toeplitz (TOEP)[*]	$\begin{vmatrix} \sigma^2 & \sigma_1 & \sigma_2 & \sigma_3 \\ & \sigma^2 & \sigma_1 & \sigma_2 \\ & & \sigma^2 & \sigma_1 \\ & & & \sigma^2 \end{vmatrix}$

[+]Matrislerin köşegen altı değerleri köşegen üstlerinin simetrileri olduğu için yazılmamıştır.

Üzerinde durulan özelliğin istatistik analizinde karışık modellerden en iyi uyum sağlayan modelin tercihinde -2 Res Log Likehood, AIC (Akaike Bilgi Kriteri), AICC (Düzeltilmiş Akaike Bilgi Kriteri) ve BIC (Bayesian Bilgi Kriteri) gibi bilgi kriterleri dikkate alınmıştır. Bu kriterler bakımından en küçük değere sahip olan model en iyi model olarak değerlendirilmektedir. Diğer bir ifadeyle bilgi kriteri değerleri bakımından sıfıra en yakın olan model analiz için en uygun model olmaktadır. Söz konusu bilgi kriterleri bakımından ilgili özellikte en iyi uyumu sağlayan modelin tercihi yapılırken AIC, AICC ve BIC bilgi kriterlerinin tercih edilecek modelde genellikle paralellik göstermesi beklenir. Ancak büyük örneklerde AICC'nin AIC'e tercih edildiğini ve BIC'in de modelde hata oranını yüksek bularak AIC'den daha basit model yapısını seçme eğiliminde olduğu bildirilmektedir (Wang ve Goonewardene, 2004). Bununla birlikte AIC ve BIC bilgi kriterlerinin model seçimindeki başarı oranı değişkenlik göstermekle birlikte bazı araştırıcılar AIC değerinin daha başarılı olduğunu ifade etmektedirler (Keselman ve ark., 1998; Kincaid, 2005; İyit ve ark., 2006). Mevcut çalışmadaki model tercihlerinde üzerinde durulan özelliklerin çoğunda AIC ve BIC bilgi kriterlerinin paralellik göstermemesinden dolayı -2 Res Log Olabilirlik, AIC ve AICC değerleri BIC değerine kıyasla model seçiminde öncelikli olarak kabul edilmişlerdir.

Çizelge 3.11. Kontrol süt verimi ile bileşenlerinin karışık modeller bakımından kıyaslanmasında kullanılan bilgi kriterleri

Özellikler	Modeller	-2 Res Log Olabilirlik	Akaike Bilgi Kriteri (AIC)	Düzeltilmiş Akaike Bilgi Kriteri (AICC)	Bayesian Bilgi Kriteri (BIC)	H_o Olabilirlik Oran Testi SD	H_o Olabilirlik Oran Testi Kikare	H_o Olabilirlik Oran Testi P değeri
KSV (kg)	**UN**	**18617.1**	**18727.1**	**18728.9**	**18943.3**	54	3087.48	<0.0001
	CS	20271.1	20275.1	20275.1	20283.0	1	1433.41	<0.0001
	CSH	20015.9	20037.9	20038.0	20081.2	10	1688.59	<0.0001
	AR(1)	18911.3	18915.3	18915.3	18923.2	1	2793.20	<0.0001
	HF	20259.0	20281.0	20281.1	20324.3	10	1445.49	<0.0001
	ANTE(1)	**18708.5**	**18746.5**	**18746.8**	**18821.2**	18	2996.00	<0.0001
	TOEP	18859.3	18879.3	18879.4	18918.6	9	2845.21	<0.0001
Yağ (%)	**UN**	**1725.0**	**1835**	**1841.4**	**1991.0**	54	280.70	<0.0001
	CS	1956.0	1960	1960	1965.7	1	49.71	<0.0001
	CSH	1840.1	1862.1	1862.4	1893.3	10	165.6	<0.0001
	AR(1)	1953.1	1957.1	1957.1	1962.8	1	52.62	<0.0001
	HF	1948.1	1970.1	1970.4	2001.3	10	57.60	<0.0001
	ANTE(1)	**1835.2**	**1873.2**	**1873.9**	**1927.1**	18	170.56	<0.0001
	TOEP	1911.6	1931.6	1931.9	1960.0	9	94.08	<0.0001
Protein (%)	UN	-1568.7	-1458.7	-1452.4	**-1302.7**	54	323.48	<0.0001
	CS	**-1360.4**	**-1356.4**	**-1356.4**	**-1350.7**	1	115.17	<0.0001
	CSH	-1448.9	-1426.9	-1426.7	-1395.7	10	203.72	<0.0001
	AR(1)	-1385.2	-1381.2	-1381.1	-1375.5	1	139.95	<0.0001
	HF	**-1379.3**	**-1357.3**	**-1357.1**	**-1326.1**	10	134.11	<0.0001
	ANTE(1)	-1487.9	-1449.9	-1449.2	-1396.0	18	242.70	<0.0001
	TOEP	-1410.6	-1390.6	-1390.4	-1362.3	9	165.42	<0.0001
Laktoz (%)	UN	-662.4	-552.4	-546.1	**-396.5**	54	298.41	<0.0001
	CS	**-441.7**	**-437.7**	**-437.7**	**-432.0**	1	77.62	<0.0001
	CSH	-508.0	-486.0	-485.7	-454.8	10	143.96	<0.0001
	AR(1)	-516.7	-512.7	-512.6	-507.0	1	152.61	<0.0001
	HF	**-449.1**	**-427.1**	**-426.9**	**-395.9**	10	85.1	<0.0001
	ANTE(1)	-591.8	-553.8	-553.0	-499.9	18	277.76	<0.0001
	TOEP	-538.3	-518.3	-518.0	-489.9	9	174.21	<0.0001
Yoğunluk (kg/m^3)	**UN**	**3273.4**	**3383.4**	**3389.8**	**3530.4**	54	277.56	<0.0001
	CS	3427.9	3431.9	3432.0	3437.6	1	123.03	<0.0001
	CSH	**3375.5**	**3397.5**	**3397.8**	**3428.7**	10	175.45	<0.0001
	AR(1)	3434.3	3438.3	3438.3	3444.0	1	116.65	<0.0001
	HF	3422.7	3444.7	3444.9	3475.9	10	128.29	<0.0001
	ANTE(1)	**3361.4**	**3399.4**	**3400.2**	**3453.3**	18	189.53	<0.0001
	TOEP	3397.5	3417.5	5417.7	3445.9	9	153.46	<0.0001
Yağsız Kuru Madde (%)	UN	**381.7**	**491.7**	**498.1**	**647.7**	54	316.76	<0.0001
	CS	576.9	580.9	581.0	586.6	1	121.56	<0.0001
	CSH	519.0	541.4	541.7	572.6	10	179.08	<0.0001
	AR(1)	531.8	535.8	535.8	541.5	1	166.68	<0.0001
	HF	570.8	592.8	593.1	524.0	10	127.70	<0.0001
	ANTE(1)	**459.7**	**497.7**	**498.4**	**551.6**	18	238.82	<0.0001
	TOEP	509.7	529.1	529.3	557.5	9	189.41	<0.0001
Kül (%)	UN	-4069.7	-3959.6	-3953.2	-3803.6	54	406.99	<0.0001
	CS	**-3708.7**	**-3704.7**	**-3704.7**	**-3699.0**	1	46.07	<0.0001
	CSH	-3778.4	-3756.4	-3756.2	-3725.2	10	115.83	<0.0001
	AR(1)	-3844.5	-3840.5	-3840.5	-3834.9	1	181.95	<0.0001
	HF	**-3734.6**	**-3712.6**	**-3712.3**	**-3681.4**	10	71.98	<0.0001
	ANTE(1)	-3986.6	-3948.6	-3947.9	-3894.9	18	324.02	<0.0001
	TOEP	-3884.6	-3864.6	-3864.3	-3836.2	9	221.97	<0.0001
Donma Noktası (°C)	UN	-5032.0	-4922.0	-4915.6	-4766.0	54	346.42	<0.0001
	CS	**-4801.2**	**-4797.2**	**-4797.2**	**-4791.5**	1	115.67	<0.0001
	CSH	-4862.0	-4840.0	-4839.7	-4808.8	10	176.43	<0.0001
	AR(1)	-4880.1	-4876.1	-4876.1	-4870.4	1	194.53	<0.0001
	HF	**-4819.4**	**-4797.4**	**-4797.2**	**-4766.2**	10	133.88	<0.0001
	ANTE(1)	-4949.0	4911.0	-4910.3	-4857.1	18	263.47	<0.0001
	TOEP	-4899.7	-4879.7	-4879.5	-4851.3	9	214.13	<0.0001
pH	UN	**-1688.0**	**-1578.3**	**-1572.0**	**-1422.3**	54	165.76	<0.0001
	CS	-1529.0	-1525.7	-1525.7	-1520.0	1	7.14	<0.0001
	CSH	-1599.0	-1577.0	-1576.7	-1545.8	10	76.42	<0.0001
	AR(1)	-1522.6	-1518.6	-1518.6	-1512.9	1	0.01	<0.0001
	HF	-1545.7	-1523.7	-1523.5	-1492.5	10	23.12	<0.0001
	ANTE(1)	**-1602.1**	**-1564.1**	**-1563.4**	**-1510.2**	18	79.55	<0.0001
	TOEP	-1553.1	-1533.1	-1532.9	-1504.7	9	30.50	<0.0001
İletkenlik (uS/cm)	UN	-231.6	-121.6	-115.3	**34.3**	54	411.27	<0.0001
	CS	76.5	80.5	80.5	86.2	1	103.10	<0.0001
	CSH	**-75.1**	**-53.1**	**-52.9**	**-21.9**	10	254.76	<0.0001
	AR(1)	107.3	111.3	111.3	116.9	1	72.37	<0.0001
	HF	72.8	94.8	95.0	126	10	106.85	<0.0001
	ANTE(1)	-125.4	**-87.4**	**-86.6**	**-33.5**	18	304.98	<0.0001
	TOEP	57.3	**77.3**	**77.5**	105.6	9	122.36	<0.0001

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Konuklar Tarım işletmesinde yetiştirilen Esmer sığırlarında leptin ve Pit-1 geni polimorfizmleri ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkilerin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen veriler aşağıda başlıklar halinde sunulmuştur.

4.1. Moleküler Genetik Çalışmaları

4.1.1. Genomik DNA örneklerinin spektrofotometre sonuçları

Üç yüz bir baş Esmer sığırdan alınan kan örneklerinin tuzla çöktürme DNA izolasyon metodu ile izole edilen genomik DNA örnekleri ikişer kez NanoDrop Spektrofotometre (ND 1000)'de okunmuş, genomik DNA'nın miktar ve saflık kontrolleri belirlenmiştir. Çizelge 4.1'de kan örneklerinden izole edilen genomik DNA'nın miktar ve saflık değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kan örneklerinden izole edilen genomik DNA'nın miktar ve saflık değerleri

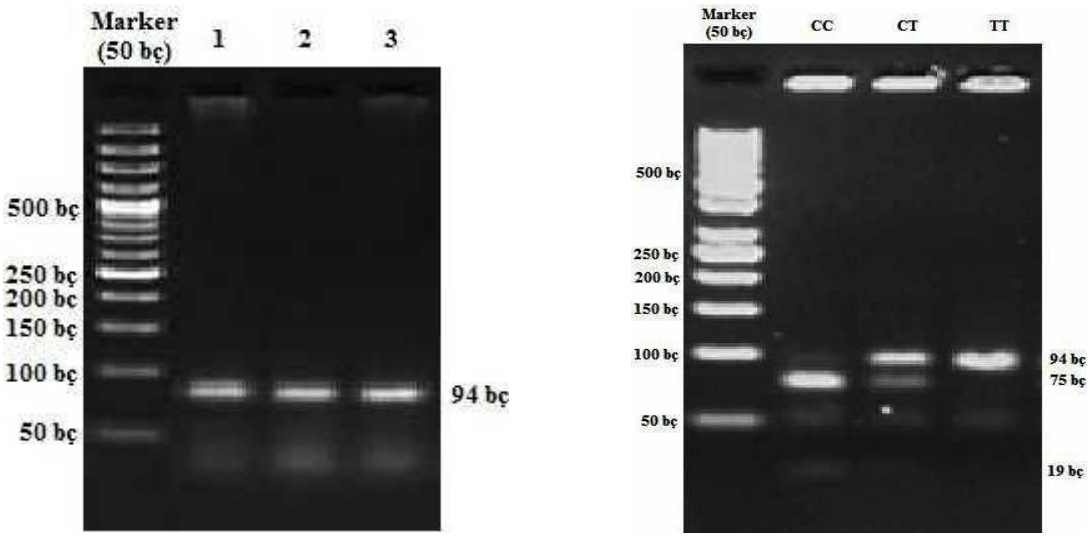
Değerler	N	$\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$	Minumum	Maksimum
ng/µl	301	133.37 ± 3.34	22.61	392.50
A260	301	2.76 ± 0.11	0.45	29.48
A280	301	1.53 ± 0.04	0.27	4.37
260/280	301	1.74 ± 0.01	1.43	1.90
260/230	301	1.11 ± 0.02	0.46	1.97

Araştırmada 301 baş Esmer sığırdan izole edilen genomik DNA miktarları 22.61 ng/µl ile 392.50 ng/µl değerleri arasında olmak üzere ortalama 133.37 ± 3.34 ng/ul olarak belirlenmiştir. Dalga boylarındaki absorbans değerleri bakımından 260 nm'de nükleik asit ve 280 nm'de protein miktarları sırasıyla 2.76 ± 0.11 ve 1.53 ± 0.04 olarak tespit edilmişlerdir. Nükleik asitlerin saflığının ölçütleri olan OD_{260}/OD_{280} ve OD_{260}/OD_{230} oranları ise sırasıyla 1.74 ± 0.01 (1.43-1.90) ve 1.11 ± 0.02 (0.46-1.97) olarak elde edilmişlerdir. OD_{260}/OD_{230} oranı istenilen değerin altında tespit edilmesine rağmen Esmer sığırlardan alınan kan örneklerinden izole edilen genomik DNA'nın miktar ve saflık değerleri dikkate alındığında PCR çalışmaları için arzu edilen bir DNA izolasyonu yapıldığı görülebilir.

4.1.2. Leptin ve Pit-1 genlerindeki restriksiyon enzimlerinin kesim bölgelerine göre allel ve genotip frekansları ile χ^2 testi sonuçları

4.1.2.1. Leptin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi

PCR ile leptin geni ekzon 2 bölgesinin 94 bç'lik çoğaltılan gen bölgesinin *Kpn*2I restriksiyon enzim kesimi ile % 3'lük agaroz jelde yürütülmesi sonucu Şekil 4.1'deki gibi CC genotipli hayvanlar 75 bç ve 19 bç'nde olan 2 kesim ürününe, CT genotipliler 94 bç, 75 bç ve 19 bç'nde 3 kesim ürününe ve TT genotipliler ise hiçbir kesim ürünü olmayarak sadece 94 bç'nde bant vermiştir. Söz konusu gen bölgesi bakımından kesim noktaları temelinde populasyonun genotiplendirilmesi Şekil 4.1'deki gibi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1. Leptin ekzon 2 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile *Kpn*2I kesim bölgesi (sağ) jel görüntüsü

*Kpn2*I enzim kesim noktası ile tespit edilen genotipik varyasyon bakımından populasyonun dengede olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan χ^2 testi ile heterozigotluk değeri (H_b) Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Leptin ekzon 2 *Kpn*2I kesim bölgesine göre allel ve genotip frekansları, χ^2 testi ve H_b değeri

Leptin Ekzon 2 *Kpn*2I	N	Genotipler			Genotip Frekansları			Allel Frekansları		$(\chi^2)^1$
		CC	CT	TT	CC	CT	TT	C	T	
Gözlenen	301	92	149	60	0.31	0.49	0.20	0.553	0.447	$0.000003^{ÖD}$
Beklenen	301	91.9767	149.0466	59.9767	0.31	0.49	0.20			H_b^2
$^1\chi^2$ testi, ^{2}Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P > 0.05), $TD_{1:0.05}$ (1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesindeki tablo değeri) = 3.841										0.494

Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere 301 baş Esmer sığırlardan 92 tanesi CC, 149 tanesi CT ve 60 tanesi de TT genotipli olarak belirlenmiştir. Populasyonda söz konusu gen bölgesi bakımından genotip frekansları CC, CT ve TT genotipleri için sırasıyla 0.31, 0.49 ve 0.20 olarak bulunmuştur. Allel frekansları bakımından ise C allelinin frekansı 0.553, T allelinin frekansı ise 0.447 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan χ^2 testi sonucundan elde edilen değer (0.000003) χ^2 dağılım tablosundaki 1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinden ($TD_{1:0.05}$= 3.841) düşük olduğundan populasyon ilgili gen bölgesi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olarak tespit edilmiştir. Leptin geni ekzon 3 bölgesinin *Kpn2*I kesim enzimi ile muamelesi sonucu populasyonda meydana gelen genotipik farklılık neticesinde hesaplanan heterozigotluk değeri (H_b) ise 0.494 olarak tespit edilmiştir.

Herhangi bir populasyonda herhangi bir gen bölgesinin ilgili varyant frekanslarının karşılaştırılması mümkünse öncelikle aynı türde, aynı tür içindeki aynı ırkta ve hatta o ırkı temsil edebilecek sayıda hayvanlarda çalışma yapan literatür ile yapılmalıdır. Ancak günümüze kadar *Kpn*2I polimorfizmi ile ilgili literatürde bildirilen çalışmalar dikkate alındığında, Esmer sığırlarda az sayıda çalışmanın yapıldığı (Buchanan ve ark., 2003; Nassiry ve ark., 2008; Kaygısız ve ark., 2011) ve hatta söz konusu araştırmalardaki hayvan sayılarının (sırasıyla 21, 104 ve 16) mevcut çalışmadakinden daha az olduğu görülebilir (Çizelge 2.1a,b,c,d). Dolayısıyla bulunan genotip ve allel frekanları ile heterozigotluk değerlerinin litaratürdeki diğer çalışmalar ile kıyaslanması zorunlu hale gelmektedir. *Kpn2*I polimorfizmi sonucu Esmer sığırlarda gözlenen allel ve genotip frekansları ile leptin geni ekzon 2 bölgesi *Kpn2*I polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri (Çizelge 2.1a,b,c,d) kıyaslandığında, çalışmada bulunan 0.553 ile C alleli frekansının Buchanan ve ark.'nın (2002) Angus ve Herefordlarda 0.42 ve 0.45, Buchanan ve ark.'nın (2003) Ayrshire ve Jersey sığırlarındaki 0.38 ve 0.47, Choudhary ve ark.'nın (2005) Jersey sığırlarında 0.44, Öztabak ve ark.'nın (2010) Güney Anadolu Kırmızısı ve Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarındaki 0.42 ve 0.49 ile Kaygısız ve ark.'nın (2011) Doğu Anadolu Kırmızısı ve Esmer sığırlarındaki 0.46 ve 0.47 olarak buldukları değerlerden yüksek, Buchanan ve ark.'nın (2002) Şarole ve Simmental sığırlarındaki 0.66 ve 0.68, Buchanan ve ark.'nın (2003) Canadienne ve Guernsey sığırlarındaki 0.89 ve 0.94, Leifers ve ark.'nın (2003b) Siyah Alacalarda 0.67, Choudhary ve ark.'nın (2005) 1/2 Siyah Alaca x 1/2 Hariana ve Siyah Alaca sığırlarındaki 0.82 ve 0.60, Nassiry ve ark.'nın (2007) Golpayani sığırlarındaki 0.71, Komisarek ve Antkowiak'ın (2007) Jerseylerde 0.80, Nassiry ve

ark.'nın (2008) Sarabi, Sistani ve Golpayegani sığırlarındaki 0.68, 0.69 ve 0.71, Brickell ve ark.'nın (2010) Siyah Alacalarda 0.59, Giblin ve ark.'nın (2010) Siyah Alaca boğalarında 0.63 ile Kulig ve ark.'nın (2010) Jerseylerde 0.732 olarak buldukları değerlerden düşük bulunmuştur. Ancak Buchanan ve ark.'nın (2002) Angus, Şarole, Hereford ve Simmental sığırlarının genelinde buldukları 0.54, Buchanan ve ark.'nın (2003) Siyah Alaca ve İsviçre Esmerlerindeki 0.54 ve 0.55, Madeja ve ark. (2004) ile Komisarek ve Dorynek'in (2005) Polonya Siyah Alaca boğalarındaki 0.54, Kong ve ark.'nın (2006) Hanwoo sığırlarında 0.50, Nassiry ve ark.'nın (2007) Taleshi sığırlarında 0.55, Chebel ve ark.'nın (2008) Siyah Alacalarda 0.587, Sadeghi ve ark.'nın (2008) Siyah Alaca boğalarında 0.575, Nassiry ve ark.'nın (2008) Talashi, Siyah Alaca ve Esmer sığırlarındaki 0.55, 0.57 ve 0.55, Öztabak ve ark.'nın (2010) Boz ırk sığırlarda 0.55 ile Kaygısız ve ark.'nın (2011) Yerli Kara sığırlarda 0.52 olarak buldukları değerlere benzer bir sonuç olduğu görülebilir. Söz konusu C allel frekansını Choudhary ve ark.'ları (2005) saf olarak yetiştirilen Hariana, Sahiwal, Gir ve Nimari sığırlarında (*Bos indicus*) kesim bölgesi olmadığı için 0.00 olarak belirlemişlerdir.

Mevcut çalışmada bulunan genotip frekansları ile litaratürdeki genotip frekansları (Çizelge 2.1a,b,c,d) arasında bir değerlendirme yapılacak olursa, TT genotip frekansının CT genotip frekanslarından daha düşük değerlerde bulundukları, özellikle CT genotip frekansının Leifers ve ark.'nın (2003b) Siyah Alacalarda, Choudhary ve ark.'nın (2005) 1/2 Siyah Alaca x 1/2 Hariana melezleri ile Kulig ve ark.'nın (2010) Jersey sığırlarında yaptıkları çalışmalar hariç diğerlerinde en yüksek frekans değerlerinde bulundukları görülebilir. Bununla birlikte literatürdeki Choudhary ve ark.'nın (2005) Jersey sığırlarında, Öztabak ve ark.'nın (2010) Güney Anadolu Kırmızısı ile Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarda, Kaygısız ve ark.'nın (2011) Doğu Anadolu Kırmızısı ile Esmer sığırlarda yaptıkları çalışmalarının dışında kalan çalışmaların genelinde TT genotip frekansının yine CC genotip frekansından daha düşük bulunduğu görülmektedir. Mevcut çalışmadaki CC (0.31), CT (0.49) ve TT (0.20) allel frekanslarının literatür (Çizelge 2.1a,b,c,d) ile oldukça uyum içerisinde oldukları görülebilir. Ayrıca Esmer sığırlarda yapılan genotiplendirme çalışmaları dikkate alındığında, Buchanan ve ark. (2003) ile Nassiry ve ark.'nın (2008) buldukları C/T allel frekans değerleri (0.55/0.45) ile aynı olduğu, Kaygısız ve ark.'nın (2011) buldukları (0.47/0.53) değerler ile ters bir durumda olduğu görülmektedir.

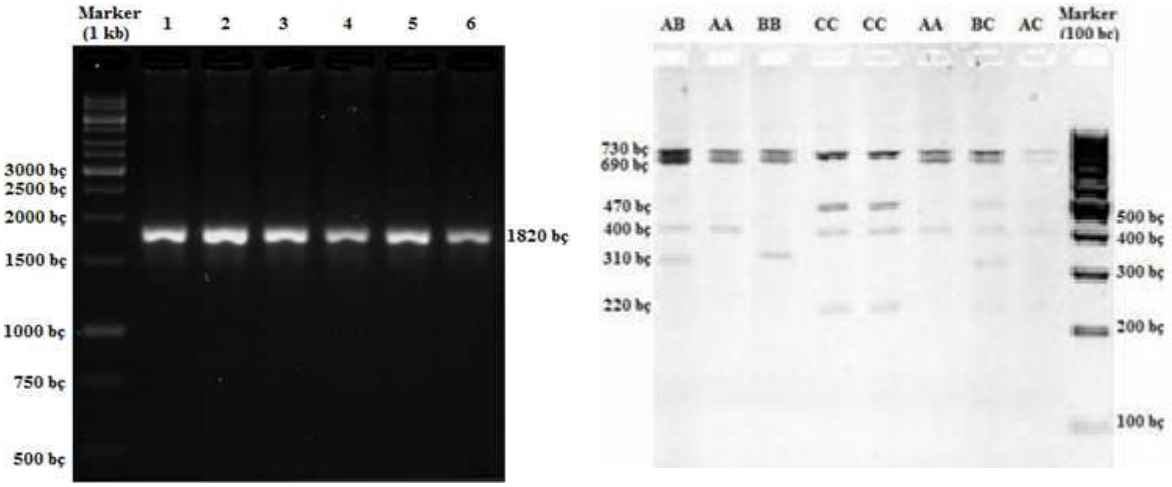
Esmer sığır populasyonunda *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi sonucu hesaplanan 0.494 heterozigotluk değeri dikkate alındığında, literatürdeki Canadienne ile Guernsey

sığırlarındaki 0.113 ve 0.196 (Buchanan ve ark., 2003), 1/2 Siyah Alaca x 1/2 Hariana sığırlarındaki 0.295 (Choudhary ve ark., 2005), Golpayani sığırlarında 0.41 (Nassiry ve ark., 2007), Jersey sığırlarındaki 0.320 (Komisarek ve Antkowiak, 2007), Sistani ve Golpayegani sığırlarındaki 0.429 ve 0.414 (Nassiry ve ark., 2008) ile Jersey sığırlarında hesaplanan 0.392 (Kulig ve ark., 2010) değerlerinden yüksek olduğu, Çizelge 2.1a,b,c,d'deki diğer çalışmalarda hesaplanan heterozigotluk değerleri bakımından ise benzer bir sonuç belirlenmiştir.

4.1.2.2. Leptin intron 2 bölgesi *Sau3A*I (1820 bç ve 422 bç) polimorfizmleri

Leptin geni intron 2 bölgesindeki 1820 bç'lik *Sau3*AI polimorfizmi ilk kez Pomp ve ark. (1997) tarafından bildirilmiş olmakla birlikte söz konusu 1820 bç'lik gen bölgesinde ilave bir kesim bölgesi olarak tanımlanan C allelinin sadece Simmental, Gelbvieh ve Angus sığırlarında gözlenmekte olduğunu bildirmişlerdir. Ancak çalışmalarında C alleline yönelik başka bir bilgi verilmemiştir. Mevcut çalışmada leptin geni intron 2 bölgesi 1820 bç'lik gen bölgesinin *Sau3A*I restriksiyon enzimi muamelesi ile kesim ürünlerinin % 3'lük agaroz jelde yürütülmesi sonucu Şekil 4.2'deki gibi genotipler elde edilmiştir. Elde edilen kesim ürünleri bakımından hayvanların genotiplendirmesinde AA genotipliler 730 bç, 690 bç ve 400 bç'nde, AB genotipliler 730 bç, 690 bç, 400 bç, 310 bç ve 90bç'nde, BB genotipliler 730 bç, 690 bç, 310 bç ve 90 bç'nde olmak üzere bant fragmentleri vermişlerdir.

1820 bç'lik gen bölgesinin *Sau3*AI ile kesimi sonucu A ve B allellerinin dışında üçüncü bir allel olan C alleli de belirlenmiştir. CC genotipli hayvanlar 730 bç, 470 bç, 400 bç ve 220 bç'nde görüntü vermekle birlikte, AC genotipliler 730 bç, 690 bç, 470 bç, 400 bç ve 220bç'nde ve BC genotipliler ise 730 bç, 690 bç, 470 bç, 400 bç, 310 bç, 220bç ve 90 bç'nde kesim ürünleri vermektedirler. Bununla birlikte 220 bç ve 90 bç'lik kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenip görüntülenmemesi söz konusu alleller bakımından genotiplendirmeyi etkilememektedir. Diğer bir ifadeyle 220 bç ve 90 bç'lik kesim ürünleri dikkate alınmadan diğer kesim ürünlerinin jeldeki mevcudiyetine göre genotiplendirme rahatlıkla yapılabilmektedir. Şekil 4.2'de leptin intron 2 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile *Sau3*AI kesim bölgesinin (sağ) jel görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.2. Leptin intron 2 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile Sau3AI kesim bölgesi (sağ) jel görüntüleri

*Sau3*AI enzim kesim noktası ile tespit edilen genotipik varyasyon bakımından populasyonun dengede olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan χ^2 testi ile heterozigotluk değeri (H_b) Çizelge 4.3'de verilmiştir.

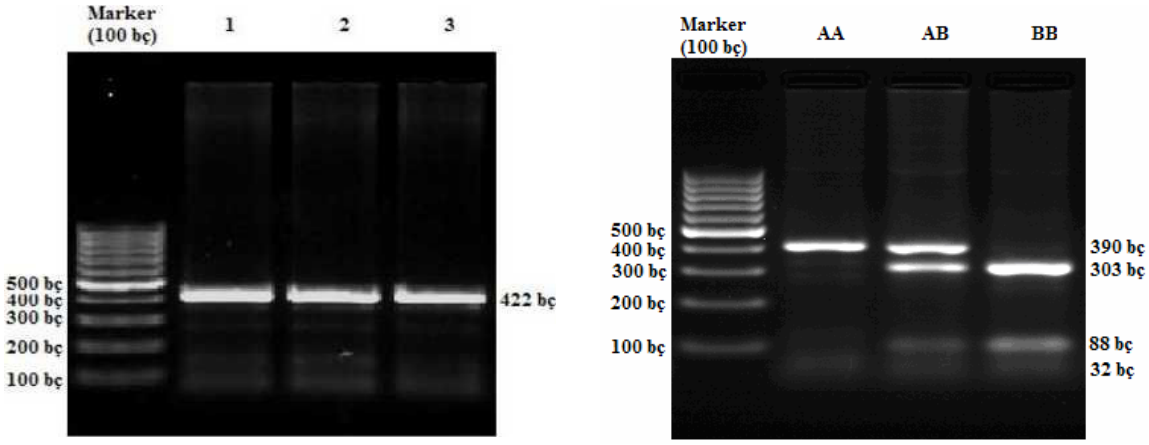
Çizelge 4.3. Leptin intron 2 *Sau3A*I kesim bölgesine göre allel ve genotip frekansları, χ^2 testi ve H_b değeri

Leptin İntron 2 / *Sau3A*I_1820 bç		Gözlenen	Beklenen	[1]χ^2 testi
N		301	301	
Genotipler	AA	126	130.1331	[2]Heterozigotluk
	AB	86	78.4093	
	BB	7	11.6822	
	CC	5	6.2246	
	AC	58	57.3245	
	BC	19	17.2263	
Genotip Frekansları	AA	0.42	0.43	ÖD (Önemli değil, P > 0.05)
	AB	0.29	0.26	
	BB	0.02	0.04	
	CC	0.02	0.02	
	AC	0.19	0.19	
	BC	0.06	0.06	
Allel Frekansları	A	0.658		$TD_{3:0.05}$= 7.814
	B	0.198		
	C	0.144		
$(\chi^2)^1$ = 3.174^{OD}			H_b^2 = 0.507	

*Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi bakımından toplamda 301 baş Esmer sığırda genotip sayıları AA, AB, BB, CC, AC ve BC olmak üzere sırasıyla 126, 86, 7, 5, 58 ve 19 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Sayısal olarak AA genotipli hayvanlar populasyonda en yüksek, CC ve BB genotipliler ise en düşük frekanslarda bulunmuşlardır. Dolayısıyla populasyonda genotip frekansları bakımından en yüksek frekansa AA genotipliler en düşük frekanslara da CC ve BB genotipliler sahip olmuşlardır. Söz konusu gen bölgesi bakımından AA, AB, BB, CC, AC ve BC genotip frekansları sırasıyla 0.42, 0.29, 0.02, 0.02, 0.19 ve 0.06 olarak hesaplanmıştır.

Allel frekansları bakımından A allelinin frekansı yaklaşık 0.66 olarak belirlenirken, B ve C allellerinin frekansları ise sırasıyla 0.20 ve 0.14 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan χ^2 testi sonucundan elde edilen değer (3.174) kikare dağılım tablosundaki 3 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinden ($TD_{3:0.05}$= 7.814) düşük olup, populasyonun ilgili gen bölgesi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu sonucu çıkmıştır. Ayrıca leptin geni intron 2 bölgesi *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi bakımından populasyondaki heterozigotluğun üç allelin varlığı göz önüne alındığında 0.507 gibi yükseğe yakın bir heterozigotluk değerine sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Pomp ve ark. (1997) tarafından leptin geni intron 2 bölgesinde bulunan 1820 bç'lik bölgedeki *Sau3*AI polimorfizminin artifact bantlar yani C allelini vermesinden dolayı Leifers ve ark. (2002) tarafından bu bölge için tekrar tasarlanan primerler ile çoğaltılan 422 bç'lik gen bölgesinin *Sau3*AI restriksiyon enzim kesimi ile % 2'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucu Şekil 4.3'deki gibi kesim ürünleri elde edilmiştir. Elde edilen kesim ürünleri bakımından AA genotipli hayvanlar 390 bç ve 32 bç'nde olan 2 kesim ürününe, AB genotipliler 390 bç, 303 bç, 88 bç ve 32 bç'nde 4 kesim ürününe ve BB genotipliler ise 303 bç, 88 bç ve 32 bç'nde olan 3 kesim ürünü vermiş ve 422 bç'lik gen bölgesi bakımından kesim noktaları temelinde populasyonun genotiplendirilmesi yapılmıştır.



Şekil 4.3. Leptin intron 2 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile Sau3AI kesim bölgesi (sağ) jel görüntüleri

*Sau3*AI enzimi kesim noktası ile tespit edilen genotipik varyasyon bakımından populasyonun dengede olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan χ^2 testi ile heterozigotluk değeri (H_b) Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Leptin intron 2 *Sau3*AI kesim bölgesine göre allel/genotip frekansları ile χ^2 testi ve H_b değeri

Leptin İntron 2 *Sau3*AI_422 bç	N	Genotipler			Genotip Frekansları			Allel Frekansları		$(\chi^2)^1$
		AA	AB	BB	AA	AB	BB	A	B	
Gözlenen	301	180	108	13	0.60	0.36	0.04	0.777	0.223	$0.371^{ÖD}$
Beklenen	301	181.8270	104.3461	14.8270	0.60	0.35	0.05			H_b^2
$^1\chi^2$ testi, ^{2}Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P > 0.05), $TD_{1:0.05}$= 3.841										0.346

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere 301 baş Esmer sığırdan 180 tanesi AA, 108 tanesi AB ve 13 tanesi de BB genotipli olarak belirlenmiştir. Genotip frekansları bakımından yine en yüksek frekansa AA genotipliler sahip olurken, en düşük genotip frekansı BB genotiplilerde tespit edilmiştir. Populasyonda 422 bç'lik gen bölgesi bakımından AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla 0.60, 0.36 ve 0.04 olarak bulunmuştur. Allel frekansları bakımından A allelinin frekansı yaklaşık 0.78 olarak belirlenirken, B allelinin frekansı ise 0.22 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan χ^2 testi sonucundan elde edilen değer (0.371) χ^2 dağılım tablosundaki 1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinden ($TD_{1:0.05}$= 3.841) düşük olup, populasyon ilgili gen bölgesi bakımından Hardy-Weinberg dengesindedir. Diğer bir ifadeyle populasyonda ilgili gen bakımından gözlenen ve beklenen genotipler arasındaki fark istatistik olarak önemsiz olup (P>0.05) populasyonun genotipik yapısı generasyondan generasyona değişmeden kalmıştır. İlgili gen bölgesinin *Sau3*AI kesim enzimi ile muamelesi sonucu

populasyonda meydana gelen genotipik farklılık neticesinde hesaplanan heterozigotluk değeri ise 0.346 olarak tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada hem 1820 bç hem de 422 bç'lik bölgelerdeki *Sau3*AI polimorfizminin tespitine yönelik hesaplanan allel frekansları birlikte ele alındığında en yüksek frekansa A allelinin, C allelinin varlığı durumunda ise en düşük frekansa da C allelinin sahip olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4). Literatürdeki *Sau3*AI polimorfizmlerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalar (Çizelge 2.2a,b,c,d,e) dikkate alındığında, *Bos taurus* olan Hereford (0.50) ve *Bos primigenius indicus* olan Brahman (0.00) (Pomp ve ark, 1997), *Bos taurus* olan Criolla (1.00) ile *Bos indicus* x *Bos taurus* melezi olan Afrikan Mashona (1.00) sığırlarında (Rasor ve ark., 2002), Sarabi işletmesindeki *Bos taurus* olan Sarabi (0.42) sığırlarında (Javanmard ve ark., 2004), Sistani (0.342), Taleshi (0.479), Manzadrani (0.385), Dashtiyari (0.125) ile Golpayegani x Esmer F_1 (0.154) sığırlarında (Javanmard ve ark., 2005) bulunan allel frekanslarının haricindeki Pomp ve ark. (1997), Leifers ve ark. (2002), Leifers ve ark. (2003b), Almeida ve ark. (2003), Oprzadek ve ark. (2003), Rasor ve ark. (2002), Madeja ve ark. (2004), Klauzińska ve ark. (2004), Javanmard ve ark. (2004), Javanmard ve ark. (2005), Kulig (2005a), Ghazanfari ve ark. (2006), Heravi Moussavi ve ark. (2006), Carşai (2009), Kulig ve ark. (2009), Kulig ve Kmieć (2009), Jawasreh ve ark. (2009), Öztabak ve ark. (2010), Javanmard ve ark. (2010), Kulig ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmalarda bildirilen diğer allel frekansları (Çizelge 2.2a,b,c,d,e) ile mevcut çalışmadaki 1820 bç ve 422 bç'lik bölgeler için bulunan allel frekanslarının uyumlu olduğu anlaşılmaktadır.

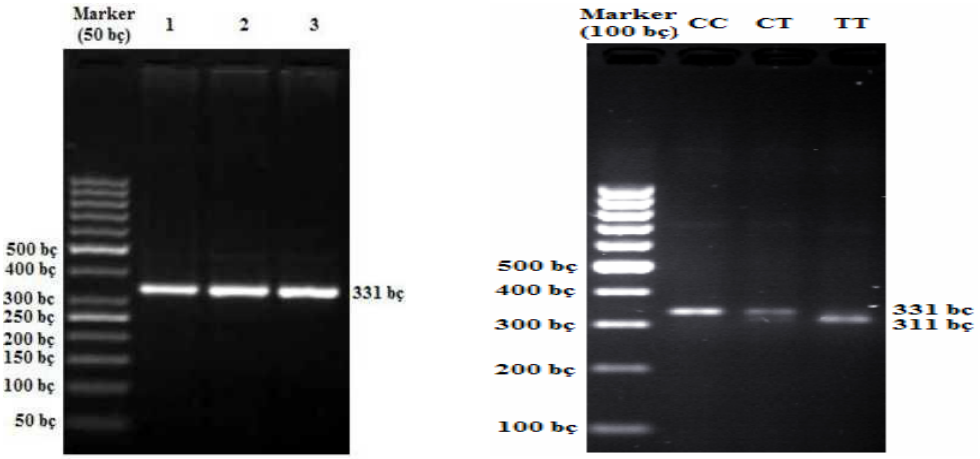
Söz konusu çalışmalarda populayonun genetik yapısına bağlı olarak Sarabi işetmesindeki Sarabi populasyonundaki 0.452 (Javanmard ve ark., 2004), Taleshi sığırlarında 0.757 (Javanmard ve ark., 2005), Jersey sığırlarında 0.57 (Kulig ve ark., 2009) ile Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarındaki 0.48 ve Boz ırk sığırlardaki 0.55 (Öztabak ve ark., 2010) değerler ile bazen AB genotipliler, bazen de *Bos indicus*'dan köken alan Sistani (0.526), Manzadrani (0.462), Dashtiyari (0.750) ile Golpayegani x Esmer F_1 (0.692) sığırlarındaki (Javanmard ve ark., 2005) değerler ile BB genotipliler en yüksek genotip frekanslarına sahip olmakla birlikte genel olarak allel frekanslarında olduğu gibi en yüksek frekans değerine AA genotipliler sahip olmaktadır (Çizelge 2.2a,b,c,d,e). *Sau3*AI polimorfizminin belirlenmesinde ele alınan 1820 bç ve 422 bç'lik bölgelerdeki allel frekanslarındaki literatürle uyum, genotip frekanslarında da elde

dilmiştir. Literatürde 104 baş İsviçre Esmerinde Ghazanfari ve ark. (2006) tarafından yapılan sadece bir kaynağa rastlanılmış olup, 422 bç'lik bölge bakımından AA, AB ve BB genotipleri için bildirilen 0.64, 0.36 ve 0.01 frekans değerleri ile mevcut çalışmadaki frekans değerleri oldukça benzerlik göstermektedir.

Hem üç allelin (1820 bç) hem de iki allelin (422 bç) varlığı durumunda populasyonda *Sau3*AI polimorfizmi bakımından hesaplanan heterozigotluk değerleri (0.507 ve 0.346) ile literatürde 1820 bç'lik bölge için Hereford F_1 x Brahman sığırlarında 0.058 (Rasor ve ark., 2002) ile Hereford sığırlarda 0.500 (Pomp ve ark., 1997) hesaplanan değerler ve 422 bç'lik bölge için bildirilen Siyah Alaca boğalarında hesaplanan 0.095 (Javanmard ve ark., 2010) ile Taleshi (*Bos indicus*) sığırlarında hesaplanan 0.499 (Javanmard ve ark., 2005) değerleri bakımından bir değerlendirme yapılacak olursa, allel frekanslarına göre hesaplanan heterozigotluk değerlerinin (Çizelge 2.2a,b,c,d,e) oldukça geniş bir aralıkta değerler aldığı ortaya çıkmıştır.

4.1.2.3. Leptin ekzon 3 bölgesi *Hph*I (331 bç) polimorfizmi

Leptin ekzon 3 bölgesinin ilgili primerler ile elde edilen 331 bç'lik fragmentindeki C→T baz değişikliğini tanıyan *Hph*I restriksiyon enzimi kullanarak kesim sonucu oluşan kesim ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülmüş ve Şekil 4.4'deki gibi kesim ürünleri elde edilmiştir. C mutant allel olmadığından CC genotipli olanlar *Hph*I enzim kesimi ile herhangi bir ilave fragment vermemekte ve PCR ürünü gibi yalnız 331 bç'nde bant görüntüsü vermektedir. Mutant tipi T alleli olan ve TT genotipli hayvanlar ise 311 bç ve 20 bç'nde olan 2 kesim ürününe sahip olmaları gerekirken agaroz jelden kaynaklı olarak 20 bç'lik bölge mevcut çalışmada gözlenememiştir. Benzer olarak CT genotipli heterozigot hayvanlar da 331 bç, 311 bç ve 20 bç'nde olan 3 kesim ürünü vermeleri gerekirken yine 20 bç'lik bölge gözlenememiştir. Ancak söz konusu gen bölgesi bakımından genotip varyantları rahatlıkla tespit edilebilmiştir.



Şekil 4.4. Leptin ekzon 3 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile *Hph*I kesim bölgesi (sağ) jel görüntüsü

HphI enzimi kesim noktası sonucu gözlenenen varyantlar bakımından populasyonun dengede olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan χ^2 testi ile heterozigotluk değeri (H_b) Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Leptin ekzon 3 *Hph*I kesim bölgesine göre allel ve genotip frekansları ile χ^2 testi ve H_b değeri

Leptin Ekzon 3 *Hph*I	N	Genotipler			Genotip Frekansları			Allel Frekansları		$(\chi^2)^1$
		CC	CT	TT	CC	CT	TT	C	T	
Gözlenen	301	214	83	4	0.71	0.28	0.01	0.849	0.151	$1.608^{ÖD}$
Beklenen	301	216.8136	77.3727	6.8136	0.72	0.26	0.02			H_b^2
$^1\chi^2$ testi, ^{2}Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P > 0.05), $TD_{1:0.05}$= 3.841										0.257

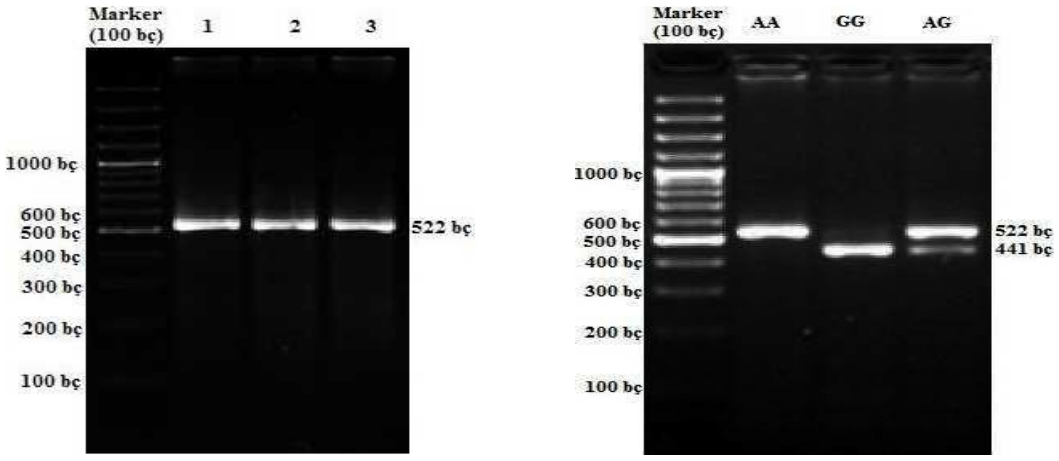
301 baş Esmer sığırın *Hph*I polimorfizmi sonucu 214 tanesi CC, 83 tanesi CT ve mutant allelin varlığı sonucu meydana gelen TT genotipli hayvan sayısı da 4 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). TT genotipli hayvanların populasyonda en az olmasınının sonucu olarak genotip frekansları bakımından en düşük frekansa (0.01) TT genotipli hayvanlar sahip olmuşlardır. CC genotipliler ise 0.72 ile en yüksek genotip frekansına sahip olmuşlardır. CT genotipli hayvanların genotip frekansı ise 0.26 olarak belirlenmiştir. Allel frekansları bakımından C allelinin frekansı yaklaşık 0.85 olarak belirlenirken, T allelinin frekansı ise 0.15 olarak belirlenmiştir. Populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının belirlenmesinde hesaplanan χ^2 testi sonucundan elde edilen değer (1.608) χ^2 dağılım tablosundaki 1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinden ($TD_{1:0.05}$= 3.841) düşük olduğundan populasyonun ilgili gen bölgesi bakımından dengede olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Diğer bir ifadeyle populasyonda

ilgili gen bakımından gözlenen ve beklenen genotipler arasındaki fark istatistik olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05). İlk olarak Haegeman ve ark. (2000), en az 18 en fazla 56 baş olmak üzere 10 sığır ırkında *Hph*I polimorfizmi bakımından C allelinin frekansının 0.518 ile 0.887 değerleri arasında belirlemişler ve mutant allel olan T'nin frekasını ise C'ye kıyasla daha düşük bulmuşlardır. Leptin geni ekzon 3 bölgesi *Hph*I (331 bç) polimorfizmlerine ilişkin diğer literatür bildirişleri (Çizelge 2.3a,b,c,d) dikkate alındığında çalışmaların tümünde C allel frekansının T alleline kıyasla daha yüksek değerlerde tespit edildiği ve frekansının 0.616 ile 1.00 değerleri arasında bulunduğu görülebilir. Allel frekanslarının yanında populasyondaki genotip frekanslarının dağılımları ile literatür bildirişleri kıyaslandığında, Dandanpat ve ark.'nın (2010) Sahiwal sığırlarında (*Bos indicus*) *Hph*I polimorfizmini bulamadıkları çalışma göz ardı edildiğinde literatürdeki diğer çalışmalarda CC genotip frekansının Siyah Alaca boğalarında bulunan 0.49 (Giblin ve ark., 2010) ile Güney Anadolu Kırmızılarında bulunan 0.83 (Öztabak ve ark., 2010) değerleri arasında, CT genotipinin Güney Anadolu Kırmızılarında bulunan 0.12 (Öztabak ve ark., 2010) ile Polonya Siyah Alacalarında bulunan 0.41 (Komisarek ve Dorynek, 2005) değerleri arasında ve TT genotipinin Siyah Alacalarda bulunan 0.00 (Yazdani ve ark., 2010) ile yine Siyah Alaca sığırlarda bulunan 0.09 (Leifers ve ark., 2002; Komisarek ve Dorynek, 2005) değerleri arasında bulunmuş ve en yüksek frekans değerine CC genotipliler, daha sonra CT ve en az frekansa da TT genotiplilerin sahip oldukları görülebilir. Allel ve genotip frekanslarındaki genel eğilimle mevcut çalışma bulunan değerler oldukça benzerlik göstermektedir.

Bir populasyonda ele alınan allel sayıları ile allellerin frekans değerleri heterozigotluk değerini belirler. *Hph*I polimorfizmi sonucu populasyonda meydana gelen genotipik farklılık neticesinde hesaplanan heterozigotluk değeri ise iki allelin varlığı göz önüne alındığında 0.257 gibi orta bir düzeyde belirlenmiştir. Çizelge 2.3a,b,c,d incelendiğinde çalışmada bulunan heterozigotluk değerinin *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi olan 5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore sığırlarındaki 0.26 (Almeida ve ark., 2003) değeri ile oldukça benzer, Belçika Mavisi melezlerindeki 0.219 (Haegeman ve ark., 2000), Güney Anadolu Kırmızılarındaki 0.196, Doğu Anadolu Kırmızılarındaki 0.241 ve Boz ırk sığırlardaki 0.196 (Öztabak ve ark., 2010) ile mutant allel olan T'nin hiç bulunamadığı Sahiwal (*Bos indicus*) sığırlarındaki 0.00 (Dandapat ve ark., 2010) değerlerinden yüksek bulunmuş olup, literatürdeki diğer çalışmalardaki değerlerden ise düşük olarak bulunmuştur.

4.1.2.4. Leptin intron 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi

Leptin geni intron 2 bölgesinin PCR ile çoğaltılan 522 bç'lik fragmentin *Bsa*AI enzim kesimi ile % 2.5'luk agaroz jelde yürütülmesi sonucu aşağıda verilen Şekil 4.5'deki gibi genotipler belirlenmiştir. Çalışmada agaroz jelden kaynaklı olarak 81 bç'lik bölge silik olarak gözlenebilmiş ise de 81 bç'lik kesim ürünü değerlendirmeye alınmadan rahatlıkla populasyonun ilgili kesim bölgesi temelinde genotiplendirmesi yapılabilmiştir. PCR ile çoğaltılan 522 bç'lik bölgenin *Bsa*AI enzimi ile kesime tabi tutulduktan sonra AA genotipliler hiçbir kesim ürününe sahip olmadan sadece 522 bç'nde, GG genotipliler 441 bç ve 81 bç'nde ve AG genotipliler ise 522 bç, 441 bç ve 81 bç'nde görüntü vermişlerdir.



Şekil 4.5.Leptin intron 2 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile *Bsa*AI kesim bölgesi (sağ) jel görüntüleri

*Bsa*AI enzim kesim noktası ile tespit edilen genotipik varyasyon bakımından populasyonun dengede olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan χ^2 testi ile heterozigotluk değeri (H_b) Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Leptin intron 2 *Bsa*AI kesim bölgesine göre allel/genotip frekansları ile χ^2 testi ve H_b değeri

Leptin İntron 2 *Bsa*AI	N	Genotipler			Genotip Frekansları			Allel Frekansları		$(\chi^2)^1$
		AA	AG	GG	AA	AG	GG	A	G	
Gözlenen	301	14	109	178	0.05	0.36	0.59	0.228	0.772	0.243 ÖD
Beklenen	301	15.5008	105.9983	179.5008	0.05	0.35	0.60			H_b^2
$^1\chi^2$ testi, ^{2}Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P > 0.05), $TD_{1:0.05}$= 3.841										0.352

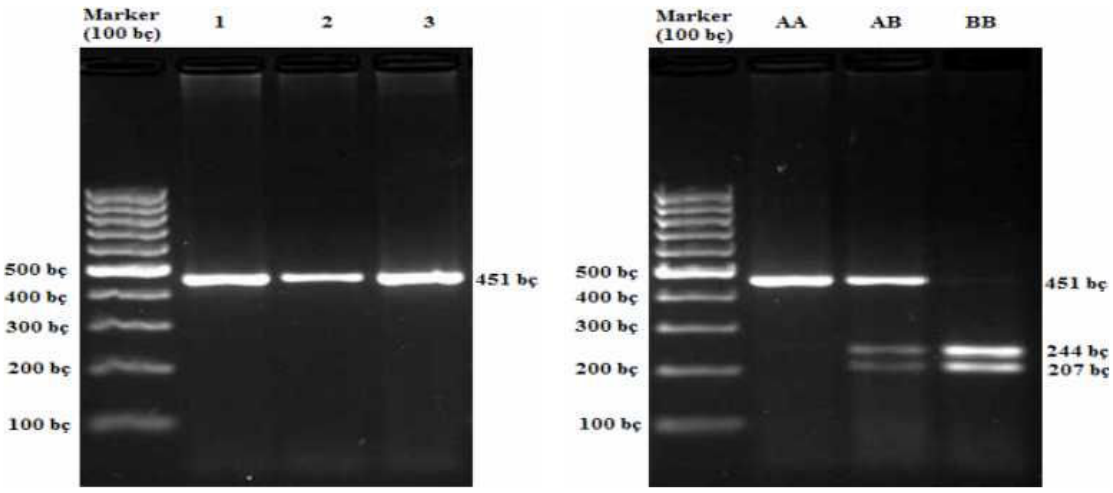
Populasyonunda leptin geni intron 2 *Bsa*AI polimorfizmine göre AA, AG ve GG genotip sayıları sırasıyla 14, 109 ve 178 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Sayısal olarak GG genotipli hayvanlar en fazla, AA genotipliler ise en az olarak tespit edilmişlerdir. Populasyonda genotip frekansları arasında GG genotipli homozigotların frekansı 0.59 olarak en yüksek bulunurken, AG genotipliler 0.36 ve AA genotipliler de 0.05 gibi düşük bir frekansa sahip olmuşlardır. Allel frekansları bakımından A allelinin frekansı yaklaşık 0.23, G allelinin frekansı ise 0.77 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan χ^2 testi sonucundan elde edilen değer (0.243) χ^2 dağılım tablosundaki 1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinden ($TD_{1:0.05}$= 3.841) düşük olduğu için populasyonun *Bsa*AI polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu ortaya çıkmıştır. *Bsa*AI polimorfizmi sonucu populasyonda hesaplanan heterozigotluk 0.352 olarak tespit edilmiştir.

Günümüze kadar leptin geni intron 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri göz önüne alındığında, G allelinin frekansı *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi 5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore sığırlarında 0.58 (Almeida ve ark., 2003), Hariana, Sahiwal, Gir ve Nimari sığırlarında (*Bos indicus*) sırasıyla 0.66, 0.72, 0.75 ve 0.71, Siyah Alaca ve Jersey sığırlarında (*Bos taurus*) 0.82 ve 0.76 ile *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi ½ Siyah Alaca x ½ Hariana sığırlarında ise 0.76 (Choudhary ve ark., 2005) ve Nelore sığırlarında (*Bos indicus*) ise 0.50 (Souza ve ark., 2010) olarak belirlendiği görülmektedir (Çizelge 2.4). Mevcut çalışmadaki G allelinin 0.772 frekans değeri literatürde Choudhary ve ark.'nın (2005) Siyah Alacalarda bildirdikleri değer (0.82) dışındaki bütün değerlerden yüksek olmakla birlikte özellikle Choudhary ve ark.'nın (2005) bildirdiği allel frekansları ile oldukça benzer bir eğilim içerisinde olduğu ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra literatürde genotip frekansları bakımından farklılıkların olduğu anlaşılmaktadır. Çizelge 2.4'teki çalışmalar dikkate alındığında Choudhary ve ark.'nın (2005) yaptığı çalışmada AA genotiplilerin frekansı en düşük seviyede bulunurken, Souza ve ark.'nın (2010) yaptığı diğer bir çalışmada en yüksek frekans değerini AG genotipliler almakta ve AA ile GG genotip frekansları eşit düzeylerde seyretmektedir. Bununla birlikte Carşai'nin (2009) Romanya'da Bălţată Românească ile Brună de Maramureş sığırlarında yaptığı diğer bir çalışmada, her iki sığır ırkında AA ve AG genotiplilerin gözlendiği belirtilmiştir. Mevcut çalışmada ise en yüksek genotip frekanslarına GG genotipliler (0.59), daha sonra AG genotipliler (0.36) ve en düşük frekansa ise AA genotipliler (0.05) sahip olmuştur.

*Bsa*AI polimorfizmine yönelik literatürde bildirilen veya allel sayılarından hesaplanan heterozigotluk değerleri göz önüne alındığında, mevcut heterozigotluk değeri Almeida ve ark. (2003) ile Souza ve ark.'nın (2010) bildirdikleri heterozigotluk değerleri (~0.500) ile Choudhary ve ark.'nın (2005) Siyah Alaca (0.295) dışında bildirdikleri diğer ırkların heterozigotluk değerlerinden (0.365-0.412) düşük bulunmuştur.

4.1.2.5. Pit-1 intron 5- ekzon 6 bölgesi *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi

Pit-1 geni intron 5- ekzon 6 bölgesi bakımından PCR ile çoğaltılan 451 bç'lik gen bölgesinin *Hinf*I restriksiyon enzim kesimi ve % 2'lik agaroz jelde yürütülmesi sonucu Şekil 4.6'daki gibi kesim ürünleri gözlenmiştir. Elde edilen bantların moleküler büyüklükleri Woollard ve ark. (1994) bildirdiği gibi, standart olarak kullanılan 100 bç DNA ladder da kullanılarak AA genotiplilerde kesim ürünü gözlenmeyerek sadece 451 bç bölgede, AB genotipliler 451 bç, 244 bç ve 207 bç bölgede ve BB genotipliler ise 244 bç ve 207 bç'nde olan 2 kesim ürünü tespit edilmiş ve söz konusu gen bölgesi bakımından kesim noktaları temelinde populasyonun genotiplendirilmesi tamamlanmıştır.



Şekil 4.6. Pit-1 intron 5- ekzon 6 bölgesinin PCR ürünü (sol) ile *Hinf*I kesim bölgesi (sağ) jel görüntüleri

*Hinf*I kesim noktası ile tespit edilen genotipik varyasyon bakımından populasyonun dengede olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan χ^2 testi ile heterozigotluk değeri (H_b) Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Pit-1 *Hinf*I kesim bölgesine göre allel ve genotip frekansları ile χ^2 testi ve H_b değeri

Pit-1 İntron 5-Ekzon 6 *Hinf*I	N	Genotipler			Genotip Frekansları			Allel Frekansları		$(\chi^2)^1$
		AA	AB	BB	AA	AB	BB	A	B	
Gözlenen	301	35	155	111	0.12	0.51	0.37	0.374	0.626	$2.914^{ÖD}$
Beklenen	301	41.9301	141.1398	117.9301	0.14	0.47	0.39			H_b[3]
[1]χ^2 testi, [2]Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P > 0.05), $TD_{1:0.05}$= 3.841										0.468

Çizelge 4.7'den de görülebileceği gibi 301 baş Esmer sığırlardan 35 tanesi AA, 155 tanesi AB ve 111 tanesi de BB genotipli olarak belirlenmiştir. Populasyonda söz konusu gen bölgesi bakımından genotip frekansları ise AA genotipi için 0.12, AB genotipi için 0.51 ve BB genotipi için 0.37 olarak bulunmuştur. Allel frekansları bakımından A allelinin frekansı yaklaşık olarak 0.37, B allelinin frekansı ise 0.63 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan χ^2 testi sonucundan elde edilen değer (2.914) χ^2 dağılım tablosundaki 1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinden ($TD_{1:0.05}$= 3.841) düşük olup, populasyon ilgili gen bölgesi bakımından Hardy-Weinberg dengesindedir (P>0.05). Araştırmada *Hinf*I polimorfizmi sonucu Esmer sığırlarda gözlenen allel ve genotip frekanları ile *Hinf*I (451 bç) polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri (Çizelge 2.5a,b,c,d) ile bir kıyaslama yapılacak olursa, çalışmada bulunan 0.374 değeri ile A alleli frekansının literatürdeki İtalyan Siyah Alaca boğalarında 0.188 (Renaville ve ark., 1997a), Siyah Alacalarda 0.155 (Hori-Oshima ve Barreras-Serrano, 2003), Siyah Alacalarda 0.247 (Oprzadek ve ark., 2003), Anguslarda 0.331 (Zhao ve ark., 2004), Siyah Alacalarda 0.283 (Vargas ve ark., 2004), Polonya Siyah Alaca populasyonlarındaki 0.243 (Dybus ve ark., 2004), Qinchuan ve Çin Siyah Alacalarında 0.232 ve 0.132 (Yan ve ark., 2006), Manzadrani, Sarabi, Golpayegani ve Siyah Alacalardaki 0.370, 0.274, 0.336 ve 0.208 (Zakizadeh ve ark., 2007), Siyah Alaca populasyonlarındaki 0.256 (Edriss ve ark., 2008), Qinchuan, Limuzin x Qinchuan, Angus x Qinchuan ve Germany Yellow x Qinchuan sığırlarındaki sırasıyla 0.232, 0.181, 0.333 ve 0.178 (Zhang ve ark., 2009) ile Najdi sığırlarında 0.185 (Beigi Nassiri ve ark., 2010) olarak bulunan frekans değerlerinden yüksek, Belçika Mavisi danalarında bulunan 0.53 (Renaville ve ark., 1997b) ile Nanyang sığırlarında bulunan 0.465 (Xue ve ark., 2006) frekans değerlerinden düşük olduğu görülmektedir. Literatürdeki 451 bç'lik gen bölgesinin *Hinf*I polimorfizmi bakımından bulunan A ve B allelinin değerlerine

bakıldığında A allelinin B allelinden daha düşük frekans değerlerine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum mevcut çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Literatürde (Çizelge 2.5a,b,c) AA genotiplilerin en düşük frekans değerlerine sahip oldukları, BB genotiplilerin frekans değerlerinin genel olarak AB genotiplilerin frekanslarından yüksek bulunmalarının yanında bazen farklı ırklarda veya aynı ırk içindeki farklı populasyonlarda ya düşük (Renaville ve ark., 1997b; Xue ve ark., 2006; Edriss ve ark., 2008) ya da yakın (Zhao ve ark., 2004; Zakizadeh ve ark., 2007; Edriss ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2009) değerlere sahip olduğu görülmektedir. Çalışmadaki AA genotiplilerin frekansı literatürle aynı eğilimde olmakla birlikte, AB genotip frekansının yüksek bulunması Renaville ve ark. (1997b), Xue ve ark. (2006) ile Edriss ve ark.'nın (2008) bildirdiği değerlerle uyum içindedir.

Esmer sığır populasyonunda 451 bç'lik gen bölgesinin *Hinf*I polimorfizmi sonucu hesaplanan 0.468 heterozigotluk değeri dikkate alındığında, literatürdeki Belçika Mavisi danalarından hesaplanan 0.488 (Renaville ve ark., 1997b) ile Nanyang sığırlarında bulunan 0.497 (Xue ve ark., 2006) değerlerinden düşük, Anguslarda hesaplanan 0.433 (Zhao ve ark., 2004), Manzadrani ve Golpayegani sığırlarında hesaplanan 0.466 (Zakizadeh ve ark., 2007), Siyah Alaca populasyonlarının III. sürüsünden hesaplanan 0.420 (Edriss ve ark., 2008) ile Angus x Qinchuan melezlerinde hesaplanan 0.444 (Zhang ve ark., 2009) heterozigotluk değerlerine benzer bir sonuç elde edilmiştir. Çizelge 2.5a,b,c'deki 451 bç'lik literatürde bildirilen diğer değerlerinden ise mevcut çalışmadaki heterozigotluk değeri yüksek bulunmuştur.

Populasyonun sahip olduğu herhangi bir lokustaki alleller ile belirlenen varyasyonun seviyesi bir tür içindeki ırkların farklılığı üzerine doğrudan etkiye sahip olabileceği (Arora ve Bhatia, 2004) gibi fenotipleri bakımından da bir takım varyasyonlar meydana getirebilir. Leptin (*Sau3A*I_422 bç hariç) ve pit-1 polimorfizmleri bakımından Esmer sığırlarda genetik varyasyona sebep olan allel farklılığı sonucu populasyonda hesaplanan ortalama heterozigotluk değeri 0.383 olarak tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik ölçüsünün, yani heterozigotluk değerinin yüksek olması ilgili gen bölgesi bakımından ebeveyn seçiminin heterozigotların frekansını artırıcı bir damızlık seçiminden kaynaklanmaktadır. Özellikle suni tohumlamada kullanılan boğaların süt verimi ve bileşenleri gibi ekonomik öneme sahip özelliklerle ilişkisi bulunan genler bakımından henüz ön testlere tabi tutulmamaları şansa bağlı olarak populayonun genetik yapısını değiştirebileceği gibi dengeden uzaklaşmasına da

yol açabilir. Arora ve Bhatia (2004), bir populasyonda yüksek heterozigotluk değerini akrabalı yetiştirme seviyesi ve seleksiyon baskının düşük olması ile çok sayıda allelden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte bazı gen veya allel kayıplarının türler veya ırklar arasında veya içinde önlenmesi genetik çeşitliliğin bir sigortası olduğundan, araştırmada ele alınan gen bölgelerindeki varyasyon seviyesinin tespiti son derece önemlidir.

4.2. Süt Verimi ve Bileşenleri ile Gen Bölgelerindeki Polimorfizmler Arasındaki İlişkiler

Çizelge 4.8-4.13'lerde 305 günlük süt verimi (LSV_{305}), kontrol süt verimi (KSV) ile yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC) gibi süt bileşenlerininin yanında sütün pH ve iletkenlik (μ*S*/cm) değerleri ile leptin ve pit-1 genlerindeki polimorfizmler arasındaki ilişkiler verilmekle birlikte, söz konusu özelliklere genotip haricinde etkili olabilecek çevre faktörlerinin önem seviyeleri verilmiştir. Leptin ve Pit-1 genlerindeki polimorfizmler ile süt verimi ve bileşenleri arasındaki ilişkiler aşağıda ayrı ayrı başlıklar halinde ele alınmıştır.

4.2.1. Leptin ekzon 2 bölgesi *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi

Çizelge 4.8'de LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler verilmiştir.

Çizelge 4.8. LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Kpn*2I (94 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler

Özellikler	*Kpn*2I (94 bç) CC (n=39)	CT (n=59)	TT (n=28)	P	Model ve Tipi	Modeldeki Çevre Faktörleri
LSV_{305} (kg)	6309 ± 140	6274 ± 125	6200 ± 160	0.83	GLM	Yıl * LBA** LS**
KSV (kg)	20.94 ± 0.54	20.87 ± 0.50	20.61 ± 0.60	0.84	Mixed UN	Yıl * LBA* LS** $SGG^{ÖD}$ Kontrol**
Yağ (%)	4.54 ± 0.06	4.49 ± 0.05	4.52 ± 0.07	0.77	Mixed UN	LBA^{OD} LS^{OD} Kontrol* KSV** İletkenlik**
Protein (%)	3.32 ± 0.01	3.29 ± 0.01	3.30 ± 0.02	0.44	Mixed HF	LBA** LS^{OD} Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Laktoz (%)	4.83 ± 0.02	4.80 ± 0.02	4.80 ± 0.02	0.27	Mixed HF	LBA** LS^{OD} Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Yoğunluk (kg/m^3)	1030.51 ± 0.14	1030.31 ± 0.11	1030.35 ± 0.16	0.52	Mixed UN	LBA* LS^{OD} Kontrol ** KSV** İletkenlik**
Yağsız Kuru Madde (%)	8.95 ± 0.03	8.89 ± 0.03	8.91 ± 0.04	0.34	Mixed ANTE(1)	LBA** LS^{OD} Kontrol ** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik** Yağ (%)**
Kül (%)	0.791 ± 0.003	0.788 ± 0.003	0.790 ± 0.004	0.75	Mixed CS	LBA** LS^{OD} Kontrol** KSV* İletkenlik**
Donma Noktası (^oC)	-0.577 ± 0.002	-0.572 ± 0.002	-0.574 ± 0.003	0.27	Mixed CS	LBA** LS^{OD} Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
pH	6.58 ± 0.01	6.60 ± 0.01	6.58 ± 0.01	0.12	Mixed ANTE(1)	$LBA^{ÖD}$ LS** Kontrol** $KSV^{ÖD}$
İletkenlik (μS/cm)	4.01 ± 0.03	3.98 ± 0.02	3.97 ± 0.03	0.51	Mixed CSH	LBA** LS** $Kontrol^{ÖD}$ KSV*

*: P<0.05; **: P<0.01; ÖD: Önemli Değil.

LSV_{305} ve KSV'leri bakımından CC (6309 kg - 20.94 kg) genotipliler hem CT (6274 kg - 20.82 kg) hem de TT (6200 kg - 20.61 kg) genotiplilerden daha yüksek değerlere sahip olmuşlardır. Süt bileşenleri dikkate alındığında LSV_{305} ve KSV'ndeki gibi yine CC genotipliler CT ve TT genotiplilerden daha yüksek en küçük kareler ortalamalarına sahip olmuşlardır (Çizelge 4.8). LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile pH ve iletkenlik değerleri bakımından genotip ortalamaları arasındaki farklılıklar dikkate alındığında (Çizelge 4.14), söz konusu bütün özelliklerde istatistik olarak önemsiz bir ilişkinin olduğu görülmektedir (P>0.05). Populasyonda *Kpn*2I polimorfizmi sonucu meydana gelen genotiplerin süt verimi ve bileşenleri üzerine etkilerinin istatistik olarak önemsiz olmasından dolayı, yapılacak bir seleksiyonda *Kpn*2I polimorfizmi bakımından tercih edilebilir genotip veya allellerin önerilmesi oldukça zordur.

Buchanan ve ark. (2003), Siyah Alaca süt sığırlarında *Kpn*2I polimorfizmi ile süt verimi ve protein verimleri arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla kontrol günü verilerini kullandıkları çalışmalarında, sığır leptin geninin T alleline sahip homozigot genotiplerin C alleline sahip olanlara kıyasla günde ortalama olarak 1.5 kg (P=0.04), TC genotiplilerin CC genotiplere kıyasla günlük 0.91 kg (P=0.12) daha fazla süt verimine sahip olduklarını, protein verimi bakımından ise TT genotiplilerin CC genotiplilere göre 43 g/gün daha fazla protein verimine sahip olduğunu ifade etmişlerdir (P=0.06). Ancak yağ verimindeki azalmanın önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Analizlerinde süt somatik hücre skorlaması üzerine leptin genindeki genotipik farklılıkların etkisinin de önemli olduğunu ifade etmişler ve TT genotiplilerin hem yüksek süt verimine hem de yüksek somatik hücre skoruna sahip olduklarını, bunun da süt verimlerinin yüksek olduğu için mastitis vakalarının muhtemel olabileceğini ya da bağışıklık sistemlerinin düşük olduğundan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar leptin ile somatik hücre skoru arasındaki ilişkilerin çözülebilmesi için ileride daha fazla araştırmaların olması gerektiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak leptin geni bakımından TT genotipli ineklerin yağ veriminde değişme olmaksızın süt verimi ve protein verimi üstünlüğünün sığır yetiştiricileri için büyük bir avantaj olduğunu bildirmişlerdir.

Chebel ve ark. (2008), ilk laktasyonunda olan 356 baş ve birden fazla laktasyona sahip 458 baş olmak üzere toplamda 814 baş Siyah Alaca ineğe ait tekrarlanan ölçümlerle kontrol günlerinde tespit edilmiş olan 305 günlük laktasyon süt verimi, %3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein yüzdeleri ve somatik hücre

skoru ile leptin geni ekzon 2 bölgesi R4C (*Kpn*2I) polimorfizmi arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, hayvanların kontrol günü süt verimleri, yağ ve protein yüzdeleri ile genotipler arasında istatistik olarak herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir (P>0.05). Kontrol günü protein yüzdeleri ile genotipler arasında istatistik olarak herhangi bir ilişki olmamasına (P=0.28) rağmen, birden fazla laktasyona sahip olan CC ve TT genotipli hayvanların protein yüzdeleri bakımından tek laktasyona sahip olanlardan daha yüksek değerler aldıklarını ve önem seviyelerinin P=0.04 gibi seviyelerde değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte % 3.5 yağa göre düzeltilmiş kontrol günü süt verimleri ile genotipler arasında bir ilişki söz konusu olup (P=0.02), CC genotiplilerin (39.2 kg/gün), CT (40.8 kg/gün, P=0.01) ve TT (40.9 kg/gün, P=0.04) genotiplilerden daha düşük değerlere sahip olduklarını bildirmişlerdir. Kontrol günü yağ verimleri ile genotipler arasında olan ilişkide (P=0.02), CC genotipliler (1.37 kg/gün) diğer iki genotipe sahip hayvanlardan (1.43 kg/gün) düşük değerlere sahip olmuşlardır. Kontrol günü protein verimleri ile genotipler arasındaki ilişki (P<0.04) bakımından ise yine CC genotiplilerin (1.15 kg/gün), CT (1.19 kg/gün) ve TT (1.18 kg/gün) genotiplilerden daha düşük değerlere sahip oldukları bildirilmiştir. Üç yüz beş günlük laktasyon süt verimi, % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein yüzdeleri bakımından CC genotipli homozigot hayvanların CT ve TT genotiplilerden daha düşük değerler aldığını, özellikle CT genotiplilerin CC genotiplilere kıyasla söz konusu özellikler bakımından sırasıyla 282 kg (P=0.07), 258 kg (P=0.04), 12 kg (P=0.05) ve 10.7 kg (P=0.01) daha yüksek ortalamalara sahip olduklarını bildirmişlerdir. Kısaca CT genotipine sahip ineklerin CC ve TT'lere kıyasla % 3.5 yağa göre düzeltilmiş kontrol süt verimi, kontrol yağ ve kontrol protein verimleri ile % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip oldukları bildirilmektedir. Ayrıca TT genotipli hayvanların CT genotipliler gibi % 3.5 yağa göre düzeltilmiş laktasyon süt verimi bakımından benzer bir ortalamaya sahip olduklarını, fakat CT genotiplilerin vücut kondüsyon skorlarının daha yüksek olması yem tüketimleri, enerji tüketimleri ve depolamalarının daha yüksek olacağına işaret ettiğinden dolayı çiftleştirme programlarında heterozigotların (CT) verim ve bazı sağlık özelliklerindeki üstünlüklerinden dolayı populasyonda frekanslarının artırılmasını önermişlerdir. Sadeghi ve ark. (2008), 134 baş Siyah Alaca boğanın süt, yağ ve protein verimlerinin yanı sıra yağ ve protein yüzdeleri bakımından hesaplanan damızlık değerlerinde yaptıkları ilişki analizinde, TT genotipli boğaların CT ve CC genotiplilere kıyasla süt,

yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek damızlık değerlerine sahip olduklarını ($P<0.05$) bildirmekle birlikte CC genotipli boğaların TT genotiplilerden daha yüksek protein yüzdesine ($P<0.05$) sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca C→T baz değişikliği ile süt veriminde 139.5 kg, yağ veriminde 2.1 kg ve protein veriminde 1.83 kg'lık bir artışın meydana geldiğini, fakat yağ ve protein yüzdelerinde ise -0.024 ile -0.019'luk bir azalışın meydana geldiğini bildirmişlerdir. Alashawkany ve ark. (2008), Siyah Alaca sığırlarda yaptığı bir çalışmada, TT genotipli hayvanların CC genotiplilerden 60 ve 100 günlük süt verimleri bakımından sırasıyla 1.7 kg/gün ve 1.5 kg/gün daha fazla süt verdiklerini ($P<0.028$), ancak 305 günlük süt verimleri bakımından herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte Giblin ve ark. (2010), İrlanda'da uluslar arası döl kontrolüne tabi olan 848 baş Siyah Alaca boğanın 43117 kızının laktasyon kayıtlarını kullanarak performans özellikleri ile *Kpn*2I polimorfizmi arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, T allelinin somatik hücre sayısı, süt, yağ ve protein verimleri ile herhangi bir ilişkisi tespit edilememiş ($P>0.05$), ancak yağ ve protein yüzdesini artırıcı bir etkisinin olduğu bildirilmiştir ($P<0.05$). Kulig ve ark. (2010), Jersey sığırlarında CC genotipi ile C allelinin somatik hücre sayısını azaltıcı bir etkiye sahip ($P\leq0.01$) olduğunu bildirmekle birlikte, *Kpn*2I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından CC/BB haplotiplerinin somatik hücre sayısını düşürücü bir etkisinin olmasının bu ilişkileri doğruladığını ($P\leq0.01$) bildirmişlerdir. Madeja ve ark. (2004), süt, yağ ve protein verimleri ile yağ ve protein yüzdeleri üzerine *Kpn*2I polimorfizminin etkisini doğrulamak için 117 baş Polonya Siyah Alaca boğasını damızlık değerleri üzerinde yaptıkları çalışmada herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmiş olup, söz konusu ilişkinin olmamasını araştırmada kullanılan boğa sayıları ile kızlarının kayıt sayısının azlığına, populasyon farklılığı veya ırk kompozisyonuna, genotip frekanslarına, istatistik analizde süt verimi ve bileşenlerine etkili olabilecek bazı çevre faktörlerinin yer almamasına bağlamışlardır. Süt verimi ve bileşenleri ile *Kpn*2I polimorfizmi arasındaki ilişkileri değerlendiren çalışmalara bakıldığında, özellikle T allelinin süt verimini yükseltici bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Ayrıca yağ ve protein yüzdeleri bakımından T allelinin artırıcı bir etkisi göze çarpmamakla birlikte, bazı çalışmalarda süt verimindeki artışa bağlı olarak yağ ve protein verimleri bakımından da etkili bulunduğu anlaşılmaktadır.

Süt verimi ve bileşenleri bakımından ilişki analizi yapan literatür dikkate alındığında, Kulig ve ark.'nın (2010) Jersey sığırlarında buldukları değerler haricinde genotip ve allel frekanlarının mevcut çalışmadakiler ile benzer oldukları görülebilir

(Çizelge 2.1a,b,c, d.). Dolayısıyla literatürdeki genotip ve alleller ile özellikler arasında bulunan çelişkili sonuçlar dikkate alındığında, mevcut çalışmada istatistik olarak önemsiz bulunan ilişki, söz konusu özelliklerin ilişkili olma durumunun populayonlardan populasyona değişebileceğini göstermektedir. Mevcut çalışmada söz konusu bir ilişkinin belirlenememesi üzerinde durulan özelliklerin varyasyonunda *Kpn*2I polimorfizminden daha çok paya sahip olabilen başka genlerin varlığını düşündürmekle birlikte söz konusu özelliklere etkili olabilecek ve henüz bilinmeyen diğer genetik faktörler ile çevre faktörlerinin mevcudiyetinden kaynaklanmış olabilir. Herhangi bir populasyonda önemsiz olarak belirlenen bir polimorfizm zaman içerisinde yukarıda ifade edilen özelliklerin mevcudiyeti ile o populasyonda dikkate değer bir değişim gösterebilir. Seleksiyonda bu türlü polimorfizmleri göz ardı etmek yerine generasyondan generasyona takiplerinin yapılması ve özellikle diğer genlerle birlikte meydana gelen haplotipler bakımından verimler üzerine etkilerinin araştırılması daha faydalı olabilir.

4.2.2. Leptin intron 2 bölgesi *Sau3*AI (1820/422 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi

*Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi ile LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri arasındaki ilişkiler dikkate alındığında (Çizelge 4.9), LSV_{305} (P=0.11) ile KSV'lerine (P=0.12) etkisi incelenen söz konusu genotiplerin en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıkların P=0.10 istatistik önem seviyesine eğilimli olduğu, ancak yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC) gibi süt bileşenlerininin yanında sütün pH ve iletkenlik (µ*S*/cm) değerlerine ise genotiplerin etkisinin önemsiz olduğu (P>0.10) görülmektedir (Çizelge 4.9). Yüz yirmi altı baş hayvandan yalnız 2 tanesi CC genotipli olduğundan LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile sütün pH ve iletkenlik değerlerinin ilişki analizlerinde CC genotipli hayvanlar değerlendirme dışı bırakılmışlardır.

Çalışmada LSV_{305} için AA, AB, BB, AC ve BC genotiplerine ait en küçük kareler ortalamaları sırasıyla 6313 kg, 6244 kg, 6455 kg, 5948 kg ve 5785 kg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.9). Genotip ortalamaları arasındaki farklılıkların 0.05 önem seviyesinde önemsiz bulunmuş olmalarının yanında (Çizelge 4.9), genotiplere ait en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıklar (Çizelge 4.14) dikkate alındığında BC genotiplilerden AA genotipliler 528 kg (P=0.03), AB genotipliler 459 kg (P=0.073), BB

genotipliler ise 671 kg (P=0.056) daha fazla süt verimine sahip olmakla birlikte AA genotipliler AC genotiplilerden 635 kg (P=0.064) daha fazla süt verimine sahiptirler. Çalışmada diğer genotipler arasında önemlilik seviyesine eğilimli bir ilişki dahi tespit edilememiştir (P>0.10). Genotipler arasındaki ilişkilerden yola çıkarak, populasyonda C allelinin varlığıyla A ve B allelleri ile meydana gelebilecek AC ve BC genotiplilerin verim seviyeleri üzerine düşürücü bir etkisinin olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.9. LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler

Özellikler	Sau3AI (1820 bç) AA (n= 52)	AB (n= 27)	BB (n=5)	CC [x] (n=2)	AC (n=29)	BC (n=11)	P	Model	Modeldeki Çevre Faktörleri
LSV_{305} (kg)	6313 ± 134	6244 ± 138	6455 ± 267	[x]Modelde analiz dışı bırakılmıştır.	5948 ± 214	5785 ± 250	0.11	GLM	Yıl * LBA** LS**
KSV (kg)	21.05±0.53	20.65±0.52	21.32±0.96		19.85±0.79	19.22±0.88	0.12	Mixed UN	Yıl* LBA* LS** $SGG^{ÖD}$ Kontrol**
Yağ (%)	4.54±0.05	4.45±0.07	4.60±0.16		4.51±0.08	4.44±0.11	0.74	Mixed UN	LBA^{OD} $LS^{ÖD}$ Kontrol* KSV** İletkenlik**
Protein (%)	3.29±0.01	3.30±0.02	3.34±0.04		3.29±0.02	3.31±0.03	0.85	Mixed HF	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Laktoz (%)	4.81±0.02	4.82±0.02	4.87±0.06		4.79±0.03	4.82±0.04	0.74	Mixed HF	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Yoğunluk (kg/m^3)	1030.33±0.12	1030.45±0.16	1030.81±0.38		1030.26±0.18	1030.58±0.26	0.61	Mixed UN	LBA* $LS^{ÖD}$ Kontrol** KSV** İletkenlik**
Yağsız Kuru Madde (%)	8.91±0.03	8.91±0.04	9.00±0.08		8.90±0.04	8.91±0.06	0.86	Mixed ANTE (1)	LBA** LS* Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik** Yağ (%)**
Kül (%)	0.788±0.003	0.790±0.004	0.794±0.009		0.788±0.004	0.795±0.006	0.80	Mixed CS	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** KSV* İletkenlik**
Donma Noktası (°C)	-0.574 ± 0.002	-0.574 ± 0.003	-0.582 ± 0.007		-0.572 ± 0.003	-0.574 ± 0.004	0.76	Mixed CS	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
pH	6.59±0.01	6.59±0.01	6.58±0.02		6.60±0.01	6.58±0.01	0.31	Mixed ANTE (1)	LBA^{OD} LS** Kontrol** $KSV^{ÖD}$
İletkenlik (uS/cm)	3.99±0.02	3.95±0.03	4.10±0.07		4.01±0.03	4.04±0.05	0.16	Mixed CSH	LBA** LS** $Kontrol^{ÖD}$ $KSV^{ÖD}$

*: P<0.05; **: P<0.01; ÖD: Önemli Değil

LSV_{305}'teki benzer bir durum KSV'lerinde de ortaya çıkmış (P>0.10) ve genotiplere ait en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıklar (Çizelge 4.14) dikkate alındığında, en düşük KSV ortalamasına sahip olan BC (19.22 kg) genotipliler AA (21.05 kg) genotiplilerinden 1.83 kg (P<0.05), AB (20.65 kg) genotiplilerden 1.43 kg (P<0.10) ve BB (21.32 kg) genotiplilerden 2.10 kg (P<0.10) daha düşük ortalamaya sahip olduğu görülebilir. Ayrıca genotip ortalamaları arasındaki farklılıklar bakımından AA (21.05 kg) genotipliler ile AC (19.85 kg) genotipliler arasındaki farklılık P=0.072 seviyesinde bulunmakla birlikte, diğer genotipler arasında önemlilik seviyesine eğilimli bir ilişki dahi tespit edilememiştir (P>0.10). LSV_{305}'nin düşmesine neden olan C allelinin etkisi KSV bakımından da belirlenmekle birlikte, özellikle BB genotipine sahip hayvan sayısının (5 baş) az olması A ve B allelleri bakımından mevcut veriler ile yapılan ilişki analizinde seleksiyonda tercih edilecek allelin belirlenmesinde güçlük çıkarmaktadır.

1820 bç'lik *Sau3*AI polimorfizmindeki C allelini göz ardı etmek amacıyla Leifers ve ark. (2002) tarafından 422 bç'lik gen bölgesinin *Sau3*AI enzim kesimi ile belirlenen genotipler ile üzerine etkisi incelenen özellikler göz önüne alındığında, yine LSV_{305} (P=0.13) ile KSV'lerine (P=0.08) etkisi incelenen söz konusu genotiplerin en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıkların istatistik önem seviyesine doğru eğilimli olduğu, ancak yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC) gibi süt bileşenlerininin yanında sütün pH ve iletkenlik (μ*S*/cm) değerlerine ise genotiplerin etkisinin önemsiz olduğu (P>0.10) görülmektedir (Çizelge 4.10).

AA, AB ve BB genotiplerine ait en küçük kareler ortalamaları sırasıyla LSV_{305} için 6307 kg, 6144 kg ve 6652 kg olarak (P>0.10), KSV için 21.16 kg, 20.44 kg ve 22.24 kg olarak (P<0.10) bulunmuştur (Çizelge 4.10). Genotiplerine ait en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıklar dikkate alındığında (Çizelge 4.14), LSV_{305}'de BB genotipli hayvanlar AA ve AB genotiplilerden sırasıyla 345 kg (P>0.10) ve 508 kg (P=0.06) daha fazla süt verim ortalamasına sahip olmaktadır. Ayrıca AA genotipli hayvanlarda AB genotiplilerden 163 kg daha fazla süt verim ortalamasına sahip olmuşladır (P>0.10) KSV'de ise yine benzer bir durum ortaya çıkmış olup (Çizelge 4.10), BB genotipli hayvanlar AA ve AB genotiplilerden sırasıyla 1.07 kg (P>0.10) ve 1.80 kg (P=0.046) daha fazla kontrol süt verim ortalamasına sahip olmuşlardır.

Çizelge 4.10. LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Sau3*AI (422 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler

Özellikler	Sau3AI (422 bç) AA (n=80)	AB (n=40)	BB (n=6)	P	Model ve Tipi	Modeldeki Çevre Faktörleri
LSV_{305} (kg)	6307 ± 132	6144 ± 126	6652 ± 250	0.13	GLM	Yıl * LBA** LS**
KSV (kg)	21.16 ± 0.52	20.44 ± 0.48	22.24 ± 0.90	0.08	Mixed UN	Yıl * LBA* LS** $SGG^{ÖD}$ Kontrol**
Yağ (%)	4.54 ± 0.05	4.43 ± 0.06	4.59 ± 0.15	0.24	Mixed UN	$LBA^{ÖD}$ $LS^{ÖD}$ Kontrol* $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Protein (%)	3.29±0.01	3.30±0.01	3.34±0.03	0.43	Mixed HF	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Laktoz (%)	4.80±0.02	4.81±0.03	4.88±0.05	0.34	Mixed HF	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Yoğunluk (kg/m^3)	1030.30±0.10	1030.49±0.14	1030.84±0.35	0.24	Mixed UN	LBA * $LS^{ÖD}$ Kontrol** KSV** İletkenlik**
Yağsız Kuru Madde (%)	8.91±0.02	8.90±0.03	9.02±0.08	0.32	Mixed ANTE (1)	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik** Yağ (%)**
Kül (%)	0.787±0.003	0.792±0.004	0.796±0.009	0.37	Mixed CS	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** KSV** İletkenlik**
Donma Noktası (^oC)	-0.574±0.002	-0.574±0.002	-0.583±0.006	0.31	Mixed CS	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
pH	6.59±0.01	6.58±0.01	6.58±0.02	0.66	Mixed ANTE (1)	$LBA^{ÖD}$ LS** Kontrol** $KSV^{ÖD}$
İletkenlik (uS/cm)	3.99±0.02	3.97±0.03	4.04±0.06	0.48	Mixed CSH	LBA** LS** $Kontrol^{ÖD}$ $KSV^{ÖD}$

*: P<0.05; **: P<0.01; ÖD: Önemli Değil

Hem 1820 bç'lik hem de 422 bç'lik leptin gen bölgelerindeki *Sau3*AI polimorfizmi ile süt verimi ve bileşenlerinin incelendiği literatür dikkate alındığında, Leifers ve ark.'ı (2002) Siyah Alaca süt sığırlarında *Hph*I ve BM1500 polimorfizmlerini de modele dahil ederek yaptıktıkları analizde S*au3*AI (422 bç)-AB genotiplilerin S*au3*AI-AA genotiplilere kıyasla günlük 0.73 kg daha fazla yem (P<0.05) ve 0.39 kg daha fazla kuru madde (P=0.087) tüketmekte, laktasyonun 15. haftasında 9.1 kg daha fazla ortalama canlı ağırlığa (P=0.097) sahip olduklarını bildirmişlerdir. Araştırıcılar istatistik modelde hem sadece *Sau3*AI hem de diğer polimorfizmlerin *Sau3*AI polimorfizmine regresyonu alınarak yapılan analizlerde AB genotiplilerin günlük olarak daha fazla süt verdiği (1.23 ile 1.32 kg; P<0.05) ve ayrıca daha fazla protein (37.4 ile 40.3 g; P<0.05) ve laktoz (58.9 ile 64.7 g; P<0.05) verimlerine sahip oldukları bildirmişlerdir. Ancak sütün yağ, protein ve laktoz yüzdeleri bakımından herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir. Sonuç olarak S*au3*AI polimorfizminin süt üretimiyle ilişkili

olmakla birlikte yem tüketimi ve canlı ağırlığı da etkileyebileceğini, ileride yapılacak yetiştirme programları için S*au3*AI-B allelinin enerji dengesini ve döl verimi üzerine negatif etki yapmaksızın daha fazla süt verimi için en ideal allel olduğunu bildirmişlerdir. Fakat Madeja ve ark. (2004), Siyah Alaca boğalarında süt, yağ ve protein verimi ile sütün yağ ve protein yüzdeleri gibi özellikler bakımından hayvanların damızlık değerleri ile *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir. Siyah Alaca süt sığırlarında Kulig (2005a) tarafından 1820 bç'lik bölgede yapılan başka bir çalışmada ise *Hph*I/*Sau3*AI haplotiplerinden CC/BB haplotiplilerin süt, protein ve yağ verimleri bakımından yüksek ortalamalara sahip olduğunu ($P \leq 0.01$), protein ve yağ yüzdeleri bakımından ise herhangi bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir. Yine Kulig (2005b) tarafından Siyah Alaca süt sığırlarında 1820 bç'lik bölgede yapılan başka bir çalışmada BB genotiplilerin süt, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip oldukları bildirilmiştir ($P \leq 0.01$). Ancak Ghazanfari ve ark.'nın (2006) İsviçre Esmeri süt sığırlarında 422 bç'lik bölgede yaptıkları çalışmalarında ise AA ve özellikle AB genotiplilerin BB'lere kıyasla ilk 60 ve 100 günlük süt verimleri bakımından daha yüksek ortalamalara sahip olduğu ($P<0.01$), A allelinin hem yüksek süt verimini hem de laktasyon süresi ile servis periyodunu artırıcı bir etkiye sahip olduğu ifade etmişlerdir. Siyah Alaca süt sığırlarında Heravi Moussavi ve ark. (2006) tarafından 422 bç'lik bölgede yapılan başka bir çalışmada ise genotipler ile laktasyonun ilk 60 günlük süt verimleri arasında bir ilişkinin olmadığını ($P=0.21$), ancak 305 günlük laktasyon süt verimleri bakımından AB genotiplilerin AA genotiplilere kıyasla 71 kg daha fazla süt verimine sahip oldukları ($P=0.03$) ve üreme özelliklerini ters yönde etkilemeden 305 günlük LSV için B allelinin tercih edilmesi gerektiği öne sürülmüştür. Jersey sığırlarında Kulig ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi ile süt, yağ ve protein verimi ile yağ ve protein yüzdeleri arasında her hangi bir ilişkinin olmadığı bildirilmekle birlikte *Hph*I (331 bç) ve *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmlerinden oluşan haplotiplerden CT/AA haplotiplilerin yağ yüzdelerini artırıcı, CC/BB haplotiplerinin ise süt ve protein verimlerini düşürmeden sütün yağ yüzdesi üzerine düşürücü bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Javanmard ve ark. (2010), Siyah Alaca boğaların süt ve yağ verim özellikleri bakımından hesaplanan damızlık değeri ile *Sau3*AI (422 bç) genotipleri arasında süt verimi ile istatistik olarak herhangi bir ilişki tespit edememişler, ancak AB genotipli boğaların AA genotiplilere kıyasla daha yüksek yağ verimine (43.41 kg) sahip oldukları ifade etmişlerdir ($P \leq 0.005$). Sütün iletkenlik değeri gibi

mastitis teşhisinde ve meme sağlığının kontrolünde bir kriter olarak değerlendirilen somatik hücre sayısı ile *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler ile ilgili olarak Kulig ve ark.'ı (2010), BB genotipi ile B allelinin somatik hücre sayısını azaltıcı bir etkiye sahip olduğunu ($P \leq 0.01$) *Kpn*2I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından CC/BB haplotiplerinin somatik hücre sayısını düşürücü bir etkisinin olmasının bu ilişkileri doğruladığını ($P \leq 0.01$) ve *Hph*I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından ise CT/BB genotiplerinin somatik hücre sayısını azalttığını ($P \leq 0.05$) bildirmişlerdir. Mevcut çalışmadaki *Sau3*AI (1820 bç ve 422 bç) polimorfizmindeki B allelinin özellikle LSV_{305} ve KSV özelliklerindeki önemlilik seviyesine olan eğilimi Ghazanfari ve ark.'nın (2006) çalışması dışındaki literatür bildirişleri ile oldukça uyumlu olduğu anlaşılmaktadır. İlişki analizlerinde *Sau3*AI polimorfizmi ile Leifers ve ark.'ı (2002) yağ, protein ve laktoz yüzdeleri, Madeja ve ark.'ı (2004) yağ ve protein yüzdeleri, Kulig (2005a) yağ ve protein yüzdeleri ile Kulig ve ark.'ı (2009) yağ ve protein yüzdeleri arasında önemli bir ilişki tespit edememişler ve bu durum mevcut çalışma ile de benzerlik göstermektedir.

Mevcut çalışmada *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizminin sütün iletkenlik değeri üzerine etkisi bakımından süt veriminde olduğu gibi yine en yüksek ortalamaya BB genotiplilerin sahip olduğu ($P > 0.10$), ancak BB genotiplilerin (4.10 μ*S*/cm) AA (3.99 μ*S*/cm) genotipliler ile $P = 0.099$ ve AB (3.95 μ*S*/cm) genotipliler ile $P = 0.027$ seviyesinde, AB genotiplilerinde BC (21.32 kg) genotipliler ile $P = 0.082$ seviyesinde farklılıklar olduğu anlaşılmıştır.

Kısaca mevcut çalışmada *Sau3*AI (1820 bç ve 422 bç) polimorfizmindeki genotipler ile üzerinde durulan özellikler arasında istastistiki olarak önemli bir ilişki tespit edilememiş olmakla birlikte ($P > 0.05$), LSV_{305}'e ($P = 0.11$, $P = 0.13$) ve KSV'ye ($P = 0.12$, $P = 0.08$) genotiplerin önem seviyelerindeki eğilimlerinden dolayı seleksiyonda mastitis vakalarını artırmayacak bir şekilde iletkenlik değeri de dikkate alınarak B alleli tercih edilebilir. Ayrıca *Sau3*AI polimorfizminde 1820 bç'lik bölge için AC ve BC heterozigotların, 422 bç'lik bölge için de AB heterozigotların en düşük LSV_{305} ve KSV ortalamalarına sahip olması, C allelinin A ve B allelleri üzerinde düşürücü bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.

4.2.3. Leptin ekzon 3 bölgesi *Hph*I (331 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi

Çizelge 4.11'de LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Hph*I (331 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler verilmiştir. *Hph*I (331 bç) polimorfizmi ile LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri arasındaki ilişkiler dikkate alındığında, LSV_{305} ($P<0.05$) ile KSV'lerine ($P<0.01$) etkisi incelenen söz konusu genotiplerin en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıkların önemli olduğu, ancak yağ (%), protein (%), laktoz (%), yoğunluk (kg/m^3), yağsız kuru madde (%), kül (%), donma noktası (^oC) gibi süt bileşenlerininin yanında sütün pH ve iletkenlik (µS/cm) değerlerine ise etkisinin önemsiz olduğu ($P>0.05$) görülmektedir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Hph*I (331 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler

Özellikler	*Hph*I (331 bç) CC (n=91)	CT (n=34)	TT(n=1)[X]	P	Model	Modeldeki Çevre Faktörleri
LSV_{305} (kg)	6191 ± 110[B]	6526 ± 151[A]	[X]Modelde analiz dışı bırakılmıştır.	0.018	GLM	Yıl * LBA** LS**
KSV (kg)	20.45 ± 0.45[b]	21.76 ± 0.56[a]		0.006	Mixed UN	Yıl * LBA** LS** SGG[ÖD] Kontrol**
Yağ (%)	4.50 ± 0.05	4.52 ± 0.06		0.737	Mixed UN	LBA[OD] LS[OD] Kontrol ** KSV** İletkenlik**
Protein (%)	3.30 ± 0.01	3.30 ± 0.01		0.86	Mixed HF	LBA** LS[OD] Kontrol ** KSV[ÖD] İletkenlik**
Laktoz (%)	4.81 ± 0.02	4.81 ± 0.03		0.94	Mixed HF	LBA** LS[ÖD] Kontrol ** KSV[ÖD] İletkenlik**
Yoğunluk (kg/m^3)	1030.42 ± 0.10	1030.28 ± 0.14		0.41	Mixed UN	LBA ** LS[OD] Kontrol** KSV[**] İletkenlik**
Yağsız Kuru Madde (%)	8.92 ± 0.02	8.90 ± 0.03		0.74	Mixed ANTE (1)	LBA** LS[ÖD] Kontrol ** KSV[ÖD] İletkenlik** Yağ (%)*
Kül (%)	0.790 ± 0.003	0.786 ± 0.004		0.33	Mixed CS	LBA** LS[OD] Kontrol** KSV** İletkenlik**
Donma Noktası (^oC)	-0.574 ± 0.002	-0.574 ± 0.003		0.81	Mixed CS	LBA ** LS[ÖD] Kontrol** KSV[ÖD] İletkenlik**
pH	6.58 ± 0.01	6.59 ± 0.01		0.52	Mixed ANTE (1)	LBA[ÖD] LS** Kontrol ** KSV[ÖD]
İletkenlik (µS/cm)	3.99 ± 0.02	3.99 ± 0.02		0.96	Mixed CSH	LBA** LS** Kontrol [ÖD] KSV*

[*]: $P<0.05$; [**]: $P<0.01$; ÖD: Önemli Değil, a, b: Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar çok önemlidir ($P<0.01$). A, B: Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P<0.05$)

LSV_{305} için 3 laktasyon ve KSV için 24 kontrol süt verim kaydı bulunan TT genotipli hayvanın LSV_{305} ve KSV bakımından en küçük kareler ortalamaları sırasıyla 6707 ± 713 kg ve 22.30 ± 2.44 kg olarak bulunmuş, ancak TT genotipli hayvan sayısının (1 baş) çok düşük olmasından dolayı istatistik analizlerde TT genotipi veri

dosyasından çıkarılmıştır. Çalışmada LSV_{305} ve KSV bakımından sırasıyla CT genotipliler 6526 kg ve 21.76 kg, CC genotipliler ise 6191 kg ve 20.45 kg ortalamaya sahip olmuşlardır. Genotiplere ait en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıklar (Çizelge 4.14) dikkate alındığında, CT genotipli hayvanlar C alleline sahip homozigotlardan LSV_{305} ve LSV bakımından 335 kg (P=0.018) ve 1.31 kg (P=0.006) daha yüksek verim ortalamalarına sahip olmuşlardır.

Süt verimi ve bileşimi ile *Hph*I (331 bç) polimorfizmi arasında ilişkilerin belirlenmesine yönelik literatür bildirişleri göz önüne alındığında, Siyah Alaca sığırlarda Leifers ve ark. (2002), CC genotipinin en düşük laktoz yüzdesine (P=0.085) sahip genotip olduğunu bildirilmekle birlikte önemli olma eğiliminde olduğu ve *Hph*I polimorfizminin % yağ miktarını etkileyebileceği ifade etmişlerdir. Ancak araştırıcılar laktasyonun ilk 105 gününe (ilk 15 hafta) kadarki periyodunda süt, yağ, protein ve laktoz verimleri ile yüzdeleri arasındaki ilişkilerin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir (P>0.05). Ancak Madeja ve ark.'nın (2004) Polonya Siyah Alaca boğalarında süt, yağ ve protein verimi ile sütün yağ ve protein yüzdeleri gibi özellikler bakımından hayvanların damızlık değerleri üzerinde yaptıkları çalışmada TT genotipli hayvanların süt ve protein verimi bakımından diğerlerine nazaran 2 kat daha fazla damızlık değerine (P<0.01) ve yağ verimi bakımından da yüksek bir damızlık değerine (P<0.10) sahip oldukları bildirilmiştir. Fakat Polonya Siyah Alaca sığırlarında Kulig (2005a), hem *Hph*I polimorfizmi hem de *Sau3*AI polimorfizmi bakımından CC/BB haplotiplilerin süt, protein ve yağ verimleri bakımından yüksek ortalamalara sahip oldukları (P≤0.01), ancak protein ve yağ yüzdeleri bakımından herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade etmiştir. Yine Kulig (2005b) tarafından Siyah Alaca süt sığırlarında yapılan başka bir çalışmada CC genotiplilerin süt, yağ ve protein verimleri bakımından daha yüksek değerlere sahip oldukları bildirilmiştir (P≤0.01). Jersey sığırlarında Kulig ve ark. (2009) tarafından yapılan diğer bir çalışmada TT genotipli hayvanların CC ve CT genotiplilere kıyasla sırasıyla 173 ve 177 kg daha az süt (P≤0.01), 10.6 ve 15.3 kg daha az yağ (P≤0.05), ve 7.6 ve 7.8 kg protein (P≤0.01) verimlerine sahip oldukları, ancak süt ve protein yüzdeleri bakımından yine herhangi bir ilişkinin olmadığı ifade edilmiştir. Araştırıcılar özellikle C allelinin (CC ve CT genotipleri) seleksiyonda tercih edilmesi gerektiğini bildirmiş olmakla birlikte *Sau3*AI (1820 bç) polimorfizmi ile birlikte meydana gelen haplotiplerden CT/AA haplotipliler yağ yüzdelerini artırıcı, CC/BB haplotipler ise süt ve protein verimlerini düşürmeden sütün yağ yüzdesi üzerinde düşürücü bir etkiye sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Giblin ve ark.'nın (2010) Siyah

Alaca boğalarında yaptığı bir çalışmada sütün iletkenlik değeri gibi mastitisin tanısında bir indikatör olan somatik hücre sayısı, süt, yağ ve protein verimleri ve ayrıca süt ve protein yüzdeleri ile *Hph*I polimorfizmi arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir (P>0.05). Kulig ve ark.'nın (2010) Jersey sığırlarında 2009 yılında yaptığı çalışmanın devamı olarak *Hph*I polimorfizmi ile somatik hücre sayısı arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı belirtilmekle birlikte, *Kpn*2I/*Hph*I haplotipleri bakımından TT/CC genotiplerinin somatik hücre sayısını artırdığı (P≤0.05), *Hph*I/*Sau*3AI haplotipleri bakımından ise CT/BB genotiplerinin azalttığı (P≤0.05) ifade edilmiştir. Söz konusu polimorfizm göz önüne alındığında literatürde çelişkili sonuçların olmasına karşın Esmer sığır populasyonunda süt veriminin artırılması için seleksiyonla CT genotiplilerin ve özellikle T alleline sahip olanların populasyonda nispi frekanslarının artırılması gerekmektedir. Süt bileşenlerine ait herhangi bir önemli ilişkinin olmaması bileşenlere ait verilerin sadece 2010 yılında elde edilmiş olmalarından kaynaklanmış olabilir.

4.2.4. Leptin ekzon 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi

Çizelge 4.12'de LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler verilmiştir.

*Bsa*AI polimorfizmi bakımından LSV_{305} ve KSV için genotip ortalamaları arasında farkların P=0.04 seviyesinde, yağ yüzdesi bakımından ise P=0.09 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada ilişkisi incelenen diğer özellikler ile *Bsa*AI polimorfizmi bakımından meydana gelen genotipler arasında istatistik olarak herhangi bir fark tespit edilememiştir (P>0.10). LSV_{305}, KSV ve yağ (%) değerleri sırasıyla AA genotiplilerde 6729 kg, 22.27 kg ve % 4.67, AG genotiplilerde 6104 kg, 20.37 kg ve % 4.41 ve GG genotiplerde 6280 kg, 21.11 kg ve % 4.53 olarak bulunmuştur. Genotiplere ait en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıklar (Çizelge 4.14) dikkate alındığında, AA genotipliler AG genotiplilere kıyasla LSV_{305} ve KSV bakımından sırasıyla 625 kg (P=0.01) ve 1.90 kg (P=0.02) daha fazla süt verimine sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte GG genotipliler AG genotiplilerden sırasıyla 176 kg ve 0.74 kg daha fazla süt verimlerine sahip olup, bu farklılık istatistik bakımından önemsiz bulunmuştur (P>0.10). AA genotipliler ile GG genotipliler arasındaki farklılıklar dikkate alındığında, AA genotipliler LSV_{305} için 449 kg (P<0.05), KSV bakımından 1.16 kg (P>0.10) GG genotiplilerden daha fazla süt verimlerine sahip olmuşlardır. Yağ yüzdeleri bakımından genotipler arasındaki farklılıklar P=0.09

seviyesinde önemli bulunmuş olmakla birlikte (Çizelge 4.12), AA genotipliler AG genotiplilerden % 0.263 (P=0.07), GG genotipliler de AG genotiplilerden % 0.120 (P=0.08) kadar daha yüksek yağ yüzdelerine sahip olmuşlardır (Çizelge 4.14). Bununla birlikte AA ve GG genotip ortalamaları arasındaki farklılık ise istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur (P>0.10). Yağ yüzdesinin 0.05 önemlilik seviyesine olan eğilimi dışında diğer süt bileşenleri ile genotipler arasında istatistik olarak herhangi bir önemli ilişkinin bulunmamasına rağmen genel olarak AA genotipliler GG genotiplilerden daha yüksek ortalamalara sahip olmuştur.

Çizelge 4.12. LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler

Özellikler	*Bsa*AI (522 bç) AA (n=7)	AG (n=40)	GG(n=79)	P	Model ve Tipi	Modeldeki Çevre Faktörleri
LSV_{305} (kg)	6729 ±225^{A}	6104±129^{B}	6280±131^{B}	0.04	GLM	Yıl * LBA** LS**
KSV (kg)	22.27±0.81^{A}	20.37±0.49^{B}	21.11±0.52^{AB}	0.04	Mixed UN	Yıl * LBA* LS** SGG^{ÖD} Kontrol**
Yağ (%)	4.67±0.14^{X}	4.41±0.06^{Z}	4.53±0.05^{X}	0.09	Mixed UN	LBA^{OD} LS^{OD} Kontrol* KSV** İletkenlik**
Protein (%)	3.34±0.03	3.30±0.01	3.30±0.01	0.53	Mixed HF	LBA* LS^{ÖD} Kontrol ** KSV^{ÖD} İletkenlik**
Laktoz (%)	4.86±0.04	4.81±0.03	4.80±0.02	0.48	Mixed HF	LBA** LS* Kontrol** KSV^{ÖD} İletkenlik**
Yoğunluk (kg/m^3)	1030.74±0.33	1030.44±0.14	1030.32±0.10	0.43	Mixed UN	LBA* LS^{OD} Kontrol ** KSV** İletkenlik**
Yağsız Kuru Madde (%)	9.00±0.07	8.90±0.03	8.91±0.02	0.41	Mixed ANTE(1)	LBA** LS^{OD} Kontrol** KSV^{ÖD} İletkenlik** Yağ (%)**
Kül (%)	0.80±0.008	0.79±0.004	0.79±0.003	0.43	Mixed CS	LBA** LS^{OD} Kontrol** KSV* İletkenlik**
Donma Noktası (^{o}C)	-0.582 ± 0.006	-0.573 ± 0.003	-0.574 ± 0.002	0.33	Mixed CS	LBA** LS^{ÖD} Kontrol** KSV^{ÖD} İletkenlik**
pH	6.58±0.02	6.59±0.01	6.59±0.01	0.69	Mixed ANTE(1)	LBA^{ÖD} LS** Kontrol** KSV^{ÖD}
İletkenlik (µS/cm)	4.00±0.06	3.99±0.03	3.99±0.02	0.95	Mixed CSH	LBA** LS** Kontrol^{ÖD} KSV*

*: P<0.05; **: P<0.01; P<0.10 ÖD: Önemli Değil, A, B: Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P<0.05); X, Z: Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P<0.10)

Günümüze kadar leptin geni intron 2 bölgesi *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmlerine ilişkin literatür bildirişleri (Çizelge 2.4) göz önüne alındığında leptin geninin diğer polimorfik bölgelerine kıyasla daha az çalışmanın yapıldığı anlaşılmaktadır. Süt verimi ve bileşimi ile *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi arasında ilişkilerin belirlenmesine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olup, mevcut çalışmaların ise genellikle ya

polimorfizmin belirlenmesine ya da et sığırlarında buzağılama aralığı, ilk buzağılamadaki canlı ağırlık (Almeida ve ark., 2003) ve besi performansları (Souza ve ark., 2010) ile ilişkilerinin belirlenmesine yönelik oldukları anlaşılmaktadır. Almeida ve ark. (2003), *Bos taurus* x *Bos indicus* melezi olan 5/8 Aberdeen Angus x 3/8 Nelore etçi ineklerde yaptıkları bir çalışmada *Bsa*AI*- (A) ve *Bsa*AI *+ (G) alleleri ile buzağılama aralığı ve ilk buzağılamadaki canlı ağırlık arasında bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir. Choudhary ve ark. (2005), saf olarak yetiştirilen Hariana, Sahiwal, Gir ve Nimari sığırlarında (*Bos indicus*) *Bsa*AI polimorfizmini ilk olarak kendilerinin tespit ettiklerini bildirmişler, fakat çalışmalarında herhangi bir verimle ilişkilendirme yapmamışlardır. Souza ve ark. (2010), 3 farklı Nelore (*Bos indicus*) populasyonundan 350 baş sığırın doğum ağırlığı, 210. gün sütten kesim ağırlığı, 550. gün canlı ağırlığı, sağrı yüksekliği, göz kası alanı, sırt bölgesi yağlılığı (backfat thickness) ve sağrı bölgesi yağlılığı (rump fat thickness) ile *Bsa*AI (522 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, genotipi AA olan sığırların sütten kesim ağırlığı bakımından (180.78 kg) AG (175.89 kg) ve GG (172.62 kg) genotipli sığırlardan istatistik olarak daha fazla ortalamaya sahip olduğunu bildirmişlerdir (P=0.03). Ayrıca doğum (P=0.08) ve 550. gün canlı ağırlıkları (P=0.06) bakımından da AA genotipli hayvanlar en yüksek ortalamaya sahip olmakla birlikte 0.05 önem seviyesine yönelik bir eğilime sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Araştırıcılar, 210. gün canlı ağırlıkları bakımından önemli bulunan AA genotipli hayvanların doğum güçlüğüne neden olmayacak şekilde seleksiyonda tercih edilmesinin 30 kg kadar düşük doğum ağırlığına sahip olan Nelore sığırlarının doğum ağırlığını artırabileceğini ifade etmiş olmakla birlikte söz konusu diğer özellikler ile *Bsa*AI genotipleri arasında istatistik olarak herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir (P>0.05).

Mevcut çalışmadaki genotipler ile süt verimi ve bileşenleri arasındaki ilişkiler göz önüne alındığında dolaylı seleksiyon için sürüde AA genotiplerin frekansını artırıcı çalışmaların gerçekleştirilmesi süt verimi (P<0.05) ve sütün yağ yüzdesini (P<0.10) artırması bakımından fayda sağlayacaktır. Bununla birlikte süt verimi ve yağ yüzdesindeki artışa bağlı olarak yağ veriminde de populasyonda önemli bir artış sağlanabilir. Ayrıca protein yüzdesinde herhangi bir farklılık olmaksızın süt verimindeki artışa bağlı olarak populasyonun protein veriminde de bir artış beklenebilir.

4.2.5. Pit-1 intron 5- Ekzon 6 bölgesi *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi ile ilişki analizi

Çizelge 4.13'te LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Hinf*I (451 bç*)* polimorfizmi arasındaki ilişkiler verilmiştir.

LSV_{305} ve KSV'leri bakımından AA (6390 kg - 21.43 kg) genotiplilerin AB (6240 kg - 20.72 kg) ve BB (6260 kg - 20.76 kg) genotiplilerden daha yüksek değerlere sahip olduğu, bileşenler bakımından ise AB genotipine benzer değerler göstermekle birlikte BB genotipinden daha düşük değerlere sahip oldukları görülmektedir. Ancak Esmer sığır populasyonunda Pit-1 İntron 5- Ekzon 6 bölgesi *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi sonucu meydana gelen genotiplerin süt verimi ve bileşenleri bakımından ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Fakat süt bileşenlerinden protein (%), kül (%) ve pH bakımından genotiplere ait en küçük kareler ortalamaları arasındaki farklılıklar (Çizelge 4.14) dikkate alındığında, BB genotipliler AB genotiplilere kıyasla protein yüzdesi bakımından % 0.03 kg (P=0.09) ve kül yüzdesi bakımından % 0.008 (P=0.07) daha fazla ortalamlara sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Ayrıca sütün iletkenlik değeri ile genotip ortalamaları arasındaki farklılıklar (Çizelge 4.14) dikkate alındığında herhangi bir ilişki tespit edilememsine karşın, sütün pH özelliğinde BB genotipliler AA genotiplilerden 0.03 (P=0.02), AB genotiplilerde AA genotiplilerden 0.02 (P=0.08) daha yüksek ortalamaya sahip olmuşlardır.

Çizelge 4.13'deki önemlilik seviyeleri (P) dikkate alındığında, *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen genotiplerin süt verimi ve bileşenleri ile ilgili olarak sürüde yapılacak bir seleksiyonda potansiyel bir markör olarak önerilmesi zordur. Herhangi bir populasyonda verim özellikleri üzerine etkisi araştırılan aday gen varyantlarının etkisinin önemsiz olması, söz konusu varyasyonda o genin önemli bir paya sahip olmaması ile açıklanabilir. Diğer bir ifadeyle populasyondaki söz konusu varyantlar arasında fenotipik farklılığın olmaması verim özellikleri ile varyantların ilişkisinin olmamasına yol açabilir.

Çizelge 4.13. LSV_{305}, KSV ve süt bileşenleri ile *Hinf*I (451 bç) polimorfizmi arasındaki ilişkiler

Özellikler	*Hinf*I (451 bç) AA (n=15)	AB (n=62)	BB (n=49)	P	Model	Modeldeki Çevre Faktörleri
LSV_{305} (kg)	6390 ± 219	6240±126	6260±128	0.81	GLM	Yıl * LBA** LS**
KSV (kg)	21.43 ± 0.78	20.72±0.51	20.76±0.50	0.64	Mixed UN	Yıl * LBA* LS** $SGG^{ÖD}$ Kontrol**
Yağ (%)	4.51 ± 0.09	4.48±0.05	4.55±0.05	0.58	Mixed UN	$LBA^{ÖD}$ $LS^{ÖD}$ Kontrol* KSV** İletkenlik**
Protein (%)	3.30 ± 0.02	3.29±0.01	3.32±0.01	0.22	Mixed HF	LBA** LS^{OD} Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik**
Laktoz (%)	4.79 ± 0.03	4.80±0.02	4.83±0.02	0.46	Mixed HF	LBA** LS^{OD} Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik*
Yoğunluk (kg/m^3)	1030.39 ± 0.22	1030.32±0.11	1030.47±0.13	0.66	Mixed UN	LBA* LS^{OD} Kontrol* KSV** İletkenlik**
Yağsız Kuru Madde (%)	8.92 ± 0.06	8.92±0.03	8.97±0.04	0.28	Mixed ANTE (1)	LBA** $LS^{ÖD}$ Kontrol** $KSV^{ÖD}$ İletkenlik** Yağ (%)*
Kül (%)	0.788 ± 0.005	0.786±0.003	0.794±0.003	0.19	Mixed CS	LBA ** LS^{OD} Kontrol ** KSV^{*} İletkenlik**
Donma Noktası (^oC)	-0.573 ± 0.004	-0.573±0.002	-0.576±0.002	0.40	Mixed CS	LBA* LS^{OD} Kontrol** KSV* İletkenlik**
pH	6.57 ± 0.01	6.59±0.01	6.60±0.01	0.06	Mixed ANTE (1)	LBA^{OD} LS* Kontrol** $KSV^{ÖD}$
İletkenlik (µS/cm)	4.01 ± 0.04	3.99±0.02	3.98±0.02	0.71	Mixed CSH	LBA^{**} LS** $Kontrol^{ÖD}$ KSV*

*: P<0.05; **: P<0.01; P<0.10 ÖD: Önemli Değil

Süt sığırlarında Pit-1 geni ekzon 6 daki *Hinf*I polimorfizmi ile süt verimi ve bileşenleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça kısıtlı olmakla birlikte son yıllarda hem sığırlarda hem de diğer çiftlik hayvanlarında çalışmalar hız kazanmıştır. Renaville ve ark. (1197a), *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen allellerden A allelinin süt verimi (P<0.10), protein verimi (P<0.05), vücut derinliği (P<0.10) ve kalça dolgunluğu (angularity) (P<0.10), arka bacak yerleşimi (P<0.10) ve düşük yağ yüzdesi (P<0.10) üzerine etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Yağ yüzdesi üzerine pozitif yönde önemli bir ilişkinin olmamasını hayvanların yüksek süt verimine sahip olmalarına, yağ verimi üzerine önemli bir ilişkinin olmamasını ise yağ yüzdesinin negatif etkisinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Araştırıcılar süt ve protein veriminin seleksiyonunda Pit-1/*Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen allellerden A allelinin seçilmesinin bir dereceye kadar umut verici olduğunu bildirmişlerdir. Hori-Oshima ve Barreras-Serrano (2003) Siyah Alaca süt sığırlarında Pit-1 geni A allelinin 305 günlük süt verimine tek başına etkili olmadığını fakat DGAT1'deki K allelinin (P=0.02) etkisiyle AA genotiplilerin AB ve BB genotiplilerden daha yüksek ortalamaya sahip

olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırıcılar, DGAT1 lokusundaki A/K baz değişiminin süt veriminde 263.22 kg'lık bir artışa sebep olduğunu ve Pit-1 lokusundaki polimorfizmle interaksiyonu sonucu Pit-1 genindeki AA (296.28 kg) genotiplilerin AB (140.2 kg) ve BB (145.9 kg) genotiplilerden 305 günlük süt verimi bakımından daha yüksek ortalamaya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca birden fazla lokusun dikkate alınarak yapılacak bir seleksiyonda bu etkilerin dikkate alınması gerektiğini ifade etmişlerdir. Vargas ve ark. (2004) 46 baş Siyah Alaca sığırında 443 laktasyon kaydını kullanarak Pit-1 geni polimorfizminin sonucu meydana gelen AA genotipli hayvanların süt verimi için ideal olduklarını ifade etmişlerdir. De Mattos ve ark. (2004), 40 baş Gry boğalarının süt verim özellikleri ile *Hinf*I polimorfizmi sonucu meydana gelen varyantlar arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla her bir boğanın en az 5 kızının verimlerini kullaranarak yaptıkları çalışmada AB genotipli boğaların 16.6 kg yağ verimi ile 6.5 kg yağ verim ortalamasına sahip olan AA genotiplilerden üstün olduklarını ve bu üstünlüklerinin B allelinin söz konusu genotiplerdeki etkisinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Parmentier ve ark. (1999), B allelinin süt (+222.4) ve protein (+9.17) verimi üzerinde artırıcı, yağ verimi (- % 2.29) üzerine düşürücü bir etkisinin olduğunu ifade etmektedir. Ancak Dybus ve ark. (2004) beş farklı sürüdeki 900 baş Polonya Siyah Alacasında *Hinf*I polimorfizmiyle süt, yağ ve protein verimleri ile yağ, protein ve yağ & protein yüzdeleri gibi verim özellikleri arasında ilişkileri belirlemek üzere yaptıkları çalışmada önemli bir ilişki bulamamışlardır ($P>0.05$). Benzer şekilde Zakizadeh ve ark. (2007), *Hinf*I allelleri ile Golpayegani ve Siyah Alaca sığırlarının süt verimleri arasında bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir.

Günümüze kadar Pit-1 genindeki *Hinf*I polimorfizmi ile süt verimi ve bileşenlerinin ilişkisini araştıran çalışmalara bakıldığında, Gry (*Bos indicus*) boğaları (De Mattos ve ark., 2004) haricindeki diğer ırklarda A alleli ile AA genotipinin söz konusu özellikler bakımından tercih edilmesi gerektiği anlaşılmaktadır.

Farklı popülasyonlar arasındaki allel frekanslarının dağılımları ana populasyonlarda genetik farklılıkları gösterebileceği gibi (Carrijo ve ark., 2008) aynı allel dağılımına sahip farklı populasyonlardaki fenotipik değerler ile yapılacak ilişki analizleri de değişkenlik gösterebilir. Dolayısıyla Esmer sığırlarda *Hinf*I polimorfizminin süt verimi ve bileşenleri üzerine istatistik olarak bir ilişkinin belirlenememesi ($P>0.05$) Pit-1 geninin diğer populasyonlarda söz konusu verim özelliklerinin seleksiyonunda kullanılmaması ile de yorumlanamaz. Hayvan ve verim sayısı artırılarak, özellikle süt verimi ve bileşenlerini etkileyen diğer genler ile genotip x

çevre interaksiyonları da dikkate alınarak çalışmaların daha kapsamlı yapılması gerekmektedir. Bununla birlikte Pit-1 geni ile bağlantılı olan/olabilecek başka lokuslardaki alleller de dikkate alınması daha bilgi verici olacaktır.

Çizelge 4.14. Genotiplere ait en küçük karaler ortalamaları arasındaki farklılıklar ve önem seviyeleri

Genler		LSV_{305} (kg)	P	KSV (kg)	P	Yağ (%)	P	Protein (%)	P	Laktoz (%)	P	Yoğunluk (kg/m^3)	P	Yağsız Kuru Madde (%)	P	Kül (%)	P	Donma Noktası (^oC)	P	pH	P	İletkenlik (µS/cm)	P
*Kpn*2I (94 bç)	CC	109	0.54	0.34	0.57	0.015	0.86	0.014	0.48	0.033	0.33	0.157	0.45	0.040	0.36	0.001	0.82	0.003	0.47	-0.002	0.88	0.036	0.31
	CT	74	0.66	0.27	0.64	-0.034	0.67	-0.007	0.69	-0.011	0.70	-0.038	0.84	-0.013	0.75	-0.002	0.68	-0.0002	0.51	0.020	0.13	0.006	0.83
	TT	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…
*Sau3*AI (1820 bç)	AA	528	0.03	1.83	0.025	0.100	0.39	-0.02	0.69	0.010	0.66	-0.250	0.38	-0.007	0.91	-0.007	0.28	-0.0002	0.98	0.008	0.52	-0.046	0.34
	AB	459	0.07	1.43	0.096	0.010	0.94	-0.01	0.89	-0.001	0.85	-0.13	0.67	-0.007	0.91	-0.005	0.55	-0.0002	0.91	0.016	0.26	-0.091	0.08
	BB	671	0.06	2.10	0.074	0.160	0.41	0.03	0.54	0.050	0.46	0.230	0.61	0.090	0.38	-0.001	0.92	0.008	0.32	-0.001	0.96	0.065	0.40
	CC	Modelde yok																					
	AC	163	0.54	0.63	0.49	0.070	0.57	-0.02	0.58	-0.030	0.49	-0.320	0.29	-0.010	0.89	-0.007	0.33	-0.002	0.72	0.023	0.09	-0.033	0.52
	BC	…	…	…	…	…	…	…	…	…		…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…
*Sau3*AI (422 bç)	AA	-345	0.19	-1.07	0.23	-0.053	0.72	-0.05	0.20	-0.080	0.15	-0.540	0.14	-0.110	0.15	-0.009	0.35	-0.008	0.13	0.008	0.62	-0.047	0.44
	AB	-508	0.06	-1.80	0.046	-0.162	0.29	-0.04	0.29	-0.070	0.22	-0.350	0.34	-0.120	0.14	-0.004	0.72	-0.009	0.14	0.002	0.92	-0.070	0.27
	BB	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…
*Hph*I (331 bç)	CC	-335	0.02	-1.31	0.006	0.020	0.74	0.003	0.86	0.002	0.94	0.140	0.41	0.010	0.74	0.004	0.33	-0.001	0.81	-0.005	0.52	-0.0013	0.96
	CT	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…
	TT	Modelde yok																					
*Bsa*AI (522 bç)	AA	625	0.01	1.90	0.02	0.263	0.07	0.034	0.33	0.050	0.31	0.299	0.40	0.106	0.18	0.003	0.74	-0.009	0.15	-0.011	0.49	0.013	0.83
	GG	176	0.20	0.74	0.11	0.120	0.08	-0.004	0.81	-0.010	0.72	-0.120	0.49	0.014	0.70	-0.005	0.27	-0.001	0.93	0.002	0.77	-0.005	0.87
	AG	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…
*Hinf*I (451 bç)	AA	130	0.57	0.67	0.39	-0.036	0.73	-0.02	0.34	-0.04	0.31	-0.080	0.75	-0.050	0.22	-0.006	0.38	-0.003	0.36	-0.027	0.02	0.034	0.41
	AB	-20	0.88	-0.04	0.93	-0.070	0.30	-0.03	0.09	-0.02	0.30	-0.150	0.36	-0.050	0.16	-0.008	0.07	-0.003	0.21	-0.007	0.32	0.012	0.66
	BB	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…	…
Model Tipi		GLM		UN		UN		HF		HF		UN		ANTE (1)		CS		CS		ANTE (1)		CSH	

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Türkiye toplam hayvan varlığı içinde üretilen ürünler dikkate alındığında süt sığırcılığı bakımından kabul edilebilir bir seviyeye gelmiş olmasına rağmen gelişmiş ülkeler ile kıyaslandığında hayvan başına verimlerinin düşük olduğu bilinmektedir. Hayvan başına verimlerin düşük olması öncelikle populasyonların mevcut genotipik yapılarının arzu edilebilir seviyelere çıkarılamamış olmalarındandır. Hayvan yetiştiricileri için ekonomik olarak önem arz eden süt, et ve benzerleri gibi özellikler poligenik kalıtımlı yapıda olduklarından söz konusu özellikleri çok sayıda gen etkilemekte ve bu genlerin mevcut veya zamanla değişen çevre şartlarında etkileşimleri ile fenotipler tezahür etmektedir. Fenotip sadece genetik yapıdan oluşmadığı için genotipik yapı istenilen seviyeye çıkarılırken bakım ve besleme gibi çevre şartlarının da ihtiyaca göre düzenlenmesi gerekmektedir. Kantitatif özelliklerden olan süt verimi ve bileşenlerini etkileyen genler günümüzde henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu özelliklerin varyasyonlarında en fazla paya sahip olabilecek majör genler üzerinde son yıllarda moleküler genetiğin yardımıyla çok sayıda çalışmalar yapılagelmektedir. Bununla birlikte herhangi bir özellik etkileri eklemeli genlerin yanında eklemeli olmayan genlerin mevcudiyeti ile ortaya çıkmakta ve özellikle heterozigot tabiatta ise o özelliğin bir populasyonda arzu edilebilir seviyelerde tutulması zorlaşacaktır. Bu durum özellikle ebeveyn sürülerin elde tutulmalarını da zorunlu kılacaktır. Zaman içerisinde seleksiyon bırakıldığında söz konusu özellikler tabiatı itibariyle ulaşılan seviyesini bozacaktır. Günümüzde moleküler genetik metotlarının da ekonomikliği düşünülerek populasyonlarda ekonomik özellikler ile ilgili MAS çalışmalarının gerçekleştirilmesi fayda sağlayacaktır.

Mevcut çalışmada Esmer sığırların allel frekansları leptin genindeki *Kpn*2I_94'de C: 0.553 ve T: 0.447, *Sau3*A*I*_1820'de A: 0.658, B: 0.198 ve C: 0.144, *Sau3*AI_422'de A: 0.777 ve B: 0.223, *Hph*I_331'de C: 0.849 ve T: 0.151, *Bsa*AI_522'de A: 0.228 ve G: 0.772 ile Pit-1 genindeki *Hinf*I_451'de A: 0.374 ve B:0.626 olarak bulunmuştur. Süt bileşenleri dışında LSV_{305} (kg/laktasyon) ve KSV (kg/kontrol) ile bazı leptin geni polimorfizmleri (*Bsa*AI and *Hinf*I) arasında istatistik olarak önemli ilişkiler bulunmuştur ($P<0.05$). *Bsa*AI'da AA genotipliler ile *Hph*I'de CT genotipliler ve T allelinin LSV_{305} ve KSV bakımından diğerlerinden istatistik olarak bir üstünlüğü bulunmakta ve söz konusu özelliklerin seleksiyonunda bunlar tercih edilmelidir. Ayrıca *Bsa*AI polimorfizminde AA genotipliler yağ yüzdesinin ($P<0.10$) artırılması bakımından dikkate değer bir eğilime sahip olduklarından seleksiyonda göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Bununla birlikte süt verimi ve yağ

yüzdesindeki artışa bağlı olarak yağ veriminde de populasyonda önemli bir artış sağlanabilir. Ayrıca protein yüzdesinde herhangi bir farklılık olmaksızın süt verimindeki artışa bağlı olarak populasyonun protein veriminde de bir artış beklenebilir.

*Sau3*AI (1820/422 bç) polimorfizmindeki genotipler ile üzerinde durulan özellikler arasında istastistiki olarak önemli bir ilişki tespit edilememiş olmakla birlikte ($P>0.05$), LSV_{305}'de ($P=0.11$, $P=0.13$) ve KSV'de ($P=0.12$, $P=0.08$) genotiplerin önem seviyelerindeki eğilimlerinden dolayı seleksiyonda mastitis vakalarını artırmayacak bir şekilde iletkenlik değeri de dikkate alınarak B alleli tercih edilebilir. Ayrıca *Sau3*AI polimorfizminde 1820 bç'lik bölge için AC ve BC genotiplilerin, 422 bç'lik bölge için de AB genotiplilerin en düşük LSV_{305} ve KSV ortalamalarına sahip olması, C allelinin A ve B allellerinin verim seviyeleri üzerine düşürücü bir etkisinin olduğunu ortaya koymakla birlikte, daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Üzerinde durulan özelliklerden bileşenler ile söz konusu polimorfik bölgeler arasında dikkate değer ($P<0.05$) bir ilişkinin olmaması verilerin özellikle tek bir laktasyondan elde edilmesinden, diğer bir deyişle kayıt sayısının azlığından kaynaklanmış olabilir.

Mevcut populasyonda yapılacak seleksiyonda bu araştırmada tespit edilen ilişkilerin dikkate alınması durumunda süt verimi bakımından bir artışın sağlanacağı söylenebilir. Bununla birlikte diğer polimorfizmlerin de gelecek generasyonlarda takiplerinin yapılması, özellikle haplotipler bakımından ilişki analizlerinin gerçekleştirilmesi ve hatta diğer majör genlerle olabilecek etkilerinin araştırılması daha faydalı olacaktır. Ayrıca damızlıkta kullanılacak boğa adaylarının da söz konusu gen bölgeleri bakımından ön testlere tabi tutulmaları gelecek generasyonların genetik yapısının istenilen seviyelerde olmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Abdel-Rahman, S. M. ve Ahmed, M. M. M., 2007, Rapid and sensitive identification of buffalo's, cattle's and sheep's milk using species-specific PCR and PCR-RFLP techniques, *Food Control,* 18, 1246-1249.

Akman, N. ve Eliçin, A., 1984, Hayvancılıkta kayıtların tutulması ve değerlendirilmesi, *Tarım-Orman ve Köyişleri Bakanlığı Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü Hayvancılıkta İleri Teknikler Semineri*, Tahirova, Gönen, 304-327.

Alashawkany, A. R., Shahroudi, F. E., Nassiry, M. R., Moussavi, A. H., Heydarpour, M. and Sadeghi, B., 2008, Association of SNP in the exonII of leptin gene with milk and reproduction traits in Holstein Iranian cows, *Biotechnology,* 7 : 347-350.

Almeida S. E. M., Almeida, E. A., Moraes J.C.F, Weimer, T. A., 2003, Molecular marker in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle, *J. Anim. Breed. Genet*., 120: 106-113.

Anonim, 2005, Yem hammaddeleri Besin Değerleri, 2005 Feedstuffs Reference Issue & Buyers Guide Volume 76, Numbers 38, *Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Yem Magazin Dergisi Eki*.

Anonim, 2010, *Gıda Güvenliği ve Hijyen, Beslenmemizde Hayvansal Gıdaların Yeri ve Önemi*, http://www.abvizyon.com/331.htm [Ziyaret Tarihi: 27 Haziran 2010]

Anonim, 2011a, *Türkiye İstatstik Kurumu Hayvancılık İstatistikleri,* http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13 [Ziyaret Tarihi: 12 Eylül 2011]

Anonim, 2011b, *Süt Kabulünde Kalite Kontrolü* (Sezer YURTBİLİR), http://www.gidabilimi.com/images/fbfiles/files/S__T_KABUL__NDE_KAL__TE_KONTROL__.pdf [Ziyaret Tarihi: 28 Haziran 2011]

Anonim, 2011c, T*arım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Veteriner Bilgi Sistemi*, http://www.turkvet.gov.tr/, [Ziyaret Tarihi: 01 Temmuz 2011]

Anonim, 2011d, *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği*, Tebliğ No: 2000/6, http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Teblig/2000-6.htmli, [Ziyaret Tarihi: 01 Temmuz 2011]

Anonymous, 2011a, *Extension Services for Quality Milk Production, Extension Services for Quality Milk Production Proceedings of an International Workshop in conjunction with the East-West-Forum of the Federal Ministry for Food, Agriculture and Forestry and the "Window of German Animal Breeding" at the International Green Week*, 24-25 January, 1999, http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/Europe/documents/Publications/QMP_en.pdf, [Ziyaret Tarihi: 01 Temmuz 2011]

Anonymous, 2011b, *National Center for Biotechnology Information Database*, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=U50365

Arora, R. and Bhatia, S., 2004, Genetic structure of Muzzafarnagri sheep based on microsatellite analysis, *Small Ruminant Research*, 54: 227-230.

Bahtiyarca, Y., 2010, Rasyon Hazırlama Tekniği, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Basılmamış Ders Notları*, Konya.

Beigi Nassiri, M. T., Biranvand, Z., Hartatik, T., Fayazil, J. and Tavakoli, S., 2010, The Study of *PIT1* Gene Polymorphism in the Najdi Cattle Using PCR-RFLP Method, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (15): 2001-2003.

Beuzen, N. D., Stear, M. J. and Chang, K. C., 2000, Moleculer markers and their use in animal breeding, *The Veterinary Journal,* 160: 42–52.

Bishop, M. D., Hawkins, G. A. and Keefer, C. L., 1995, Use of DNA markers in animal selection, *Theriogenology*, 43 (1): 61-70.

Block, S. S., Butler, W. R., Ehrhardt, R. A., Bell A. W., Van Amburgh M. E. and Boisclair, Y. R., 2001, Decreased Concentration of Plazma Leptin in Periparturient Dairy Cows is Caused by Negative Energy Balance*, Journal of Endocrinology*, 171: 339-348.

Bona, G., Paracchini, R., Giordano, M. and Momigliano-Richiardi, P., 2004, Genetic defects in GH synthesis and secretion, *European Journal of Endocrinology*, 151: S3–S9.

Brickell, J. S., Pollott, G. E., Clempson, A. M., Otter, N. and Wathes, D. C., 2010, Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers, *J. Dairy Sci*., 93: 340-347.

Buchanan, F. C., Carolyn J. Fitzsimmons, C. J., Van Kessel, A. G., Thue, T. D., Winkelman-Sim, D. C. and 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: 105-116.

Buchanan, F. C., Van Kessel, A. G., Waldner, C., Christensen, D. A., Laarveld, B. and Schmutz, S. M., 2003, Hot Topic: An Association Between a Leptin Single Nucleotide Polymorphism and Milk and Protein Yield, *J. Dairy Sci.,* 86: 3164-3166.

Camper, S. A., Saunders, T. L., Katz, R. W., Reeves, R. H., 1990, The Pit-1 transcription factor gene is a candidate for the murine Snell dwarf mutation, *Genomics*, 8: 586-590.

Carrijo, S. M., Alencar, M. M. De., Toral, F. L. B. And Regitano, L. C. De A., 2008, Association Of *Pit1* Genotypes With Growth Traits in Canchim Cattle, *Sci. Agric.,*65 (2): 116-121.

Carşai, T-C., 2009, Genetic marker assisted selection in cattle: leptin gene locus and its polymorphism, *Animal Biology & Animal Husbandry (ABAH)*, 1 (1): 1-20.

Castrillo, J. L., Theill, L. E., Karin, M., 1991, Function of the homeodomain protein GHF1 in pituitary cell proliferation, *Science*, 253: 197-199.

Chebel, R. C., Susca, F. and Santos, J. E. P., 2008, Leptin Genotype Is Associated with Lactation Performance and Health of Holstein Cows, *J. Dairy Sci*., 91: 2893-2900.

Choudhary, V., Kumar, P., Bhattacharya, T. K., Bhushan, B. and Sharma, A., 2005, DNA polymorphism of leptin gene in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle, *Genetics and Molecular Biology*, 28 (4): 740-742. Short Communication.

Curi, R. A., Palmieri, D. A., Suguisawa, L., de Oliviera, H. N., Silveira, A. C. and Lopes, C. R., 2006, Growth and carcass traits associated with GH1/*Alu*I and POU1F1/*Hinf*I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle, *Genetics and Molecular Biology*, 29 (1): 56-61.

Dandapat, A., Kumar, D., Ghosh, A. K. and Umapathi, V., 2010, A note on a DNA polymorphism study of leptin gene in Sahiwal and crossbred cattle using PCR-RFLP technique, *Livestock Research for Rural Development*, 22(1). http://www.lrrd.org/lrrd22/1/dand22007.htm

Darwish, S. F., Alam, H. A. and Amin, A. S., 2009, Evaluation of PCR Assay for Detection of Cow's Milk in Water Buffalo's Milk, *World Applied Sciences Journal,* 7 (4): 461-467.

Davis, G. P. and DeNise, S. K., 1998, The Impact of Genetic Markers on Selection, *J. Anim. Sci.*, 76: 2331-2339.

De Mattos, K. K., Del Lama, S. N., Martinez, M. L. and Freitas, A. F., 2004, Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls, *Brazilian Journal of Agricultural Research*, 39 (2), 147-150.

Demirci, M., Yüksel, A. N. ve Soysal, M. İ., 1992, Memeden mamül maddeye süt (II. Baskı), *Hasad Yayıncılık Hayvancılık Serisi 1*, İstanbul.

Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F., 1983, İstatistik Metodları, *Ankara Üni. Zir. Fak. Yay*. No: 229.

Düzgüneş, O., Eliçin, A. ve Akman, N., 1996, Hayvan Islahı (III. Baskı), *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı: 419*, 1437.

Dybus, Szatkowska, I., Czerniawska-Piątkowska, E., Grzesiak, W., Wójcik, J., Rzewucka, E. and Zych, S., 2004, *PIT1-Hinf*I gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle, *Arch. Tierz*., Dummerstorf 47 (6): 557-563.

Edriss, V., Edriss, M. A., Rahmani, H. R. And Sayed-Tabatabaei, B. E., 2008, Pit-1 gene polymorphism of Holstein cows in Isfahan Province, *Biotechnology*, 7 (2): 209-212.

EEC, 1992, *Council Directive 92/46/EEC of 16 June 1992 laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products*, Official Journal L 268, 1-31.

Elmacı, C. ve Öner, Y., 2007, Et Sığırcılığında Moleküler Genetik Yaklaşımlar, *Hayvansal Üretim*, 48 (2): 45-48.

FAO, 2011*, Statistics*. http://faostat.fao.org [Ziyaret Tarihi: 01 Temmuz 2011]

Friedman J. M., Halaas J. L., 1998, Leptin and the regulation of body weight in mammals, *Nature,* 395: 763-770.

Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H., 1998, Dairy Chemistry and Biochemistry, *Blackie Academic and Professional*, London.

Franco, M. M., Antunes, R. C., Silva, H. D. and Goulart, L. R., 2005, Association of PIT1, GH and GHRH polymorphisms with performance and carcass traits in Landrace pigs, *J. Appl. Genet*., 46 (2): 195-200.

Ghazanfari, S., Nassiry, M., Moussavi, A. H., 2006, Polymorphism in gene leptin and its relationship to milk production and reproduction traits in Brown Swiss cows, *Proceedings of The British Society of Animal Science*, Poster Presentation, 90.

Giblin, L., Butler, S. T., Kearney, B. M., Waters, S. M., Callanan, M. J. and Berry, D. P., 2010, Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires, *BMC Genetics*, 11: 73.

Haegeman, A., van Zaveren, A. and Peelman, L. J., 2000, New mutation in exon 2 of bovine leptin gene, *Anim. Genet*., 31: 79.

Hasheider, P., 2007, How to raise cattle/ everything you need to know, *MBI Publishing Company LLC and Voyageur Pres*, 191.

Haugen, B. R., Wood, W. M., Gordon, D. F. and Ridgeway, E. C., 1993, A Thyrotrope-specific Variant of Pit-1 Transactivates the Thyrotropin β Promoter, *The Journal of Biological Chemistry*, 268 (28): 20818-20824.

Heravi Moussavi, A. R., Ahouei, M, Nassiry, M. R., Javadmanesh, A., 2006, Association of leptin polymorphisms with production and reproduction traits in Iranian Holstein dairy cows, *Proceedings of The British Society of Animal Science*, Poster Presentation, 85.

Herman, L., 2001, Determination of the animal origin of raw food by species-specific PCR, *Journal of Dairy Research*, 68, 429-436.

Herr, W., Sturm, R. A., Clerc, R. G., Corcoran, L. M., Baltimore, D., Sharp, P. A., Ingraham, H. A., Rosenfeld, M. G., Finney, M., Ruvkun, G. and Horvitz, H. R., 1988, The POU domain: a large conserved region in the mammalian pit-1, oct-1, oct-2, and Caenorhabditis elegans unc-86 gene products, *Genes and Development*, 2: 1513-1516.

Hori-Oshima, S. and Barreras-Serrano, A., 2003, Relationships Between DGAT1 and PIT-1 Genes Polymorphism and Milk Yield in Holstein Cattle, Proceedings, Western Section, *American Society of Animal Science*, Vol 54.

Houseknecht, K. L., Baile, C. A., Matteri, R. L. and Spurlock, M. E. , 1998, The biology of leptin: a review, *J. Anim. Sci.*, 76:1405-1420.

İyit, N., Genç, A., Arslan, F., 2006, Analysis of Repeated Measures for Continuous Response Data Using General Linear Model (GLM) and Mixed Models*, Proceedings of the International Conference on Modeling and Simulation 2006*, Konya, 937- 942, Turkey.

İyit, N., 2008, İlişkili Veri Analizinde Lineer Karma Modellerin Yapılandırılması, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Matematik Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, Konya.

Javanmard, A., Elyasi, G., Gharahedaghi, A.A., Nassiry, M.R., Ayazi, A. and Asadzadeh, N. 2004. Polymorphism Within The Intron Region Of The Bovine Leptin Gene In Iranian Sarabi Cattle. *The Joint Agriculture and Natural Resources Symposium*, Tabriz – Ganja, May 14-16.

Javanmard, A., Asadzadeh, N., Banabazi, M. H. And Tavakolian, J. 2005. The allele and genotype frequencies of bovine pituitaryspecific transcription factor and leptin genes in Iranian cattle and buffalo populations using PCR-RFLP. *Iranian Journal of Biotechnology*, 3, 2.

Javanmard, A., Khaledi, K., Asadzadeh, N. And Solimanifarjam, A. R., 2010, Detection of Polymorphisms in the Bovine Leptin (LEP) Gene: Association of a Single Nucleotide Polymorphism with Breeding Value of Milk Traits in Iranian Holstein Cattle, *Journal of Molecular Genetics*, 2(1): 10-14.

Jawasreh, K. I. Z., Awawdeh, F., Rawashdeh, I., Hejazeen, F. and Al-Talib, M., 2009, The Allele and Genotype Frequencies of Bovine Pituitary Specific Transcription Factor and Leptin Genes in Jordanian Cattle Population by Using PCR-RFLP, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3 (3): 1601-1606.

Kadokawa, H., Blache, D., Yamada, Y. And Martin, G. B., 2000, Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows, *Reprod. Fertil. Dev*., 12 (7-8): 405-411.

Kaygısız, A., Bengi C. and Çilek, S., 2011, Investigation of Leptin Gene Polymorphisms in East Anatolian Red Anatolian and Black Cattle and Determination of Genetic Distance From Brown Swiss Cattle, *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21 (2): 121-125.

Keselman, H. J., Algina, J., Kowalchuk, R. K., Wolfinger, R. D., 1998, A comparison of two approaches for selecting covariance structures in the analysis of repeated measurements, *Communications in Statistics: Simulation and Computation,* 27(3): 591-604.

Kincaid, C., 2005, *Guidelines for Selecting the Covariance Structure in Mixed Model Analysis, Paper 198-30. In* SAS Institute, Inc., Proceedings of the thirtieth annual SAS® Users Group International Conference, SAS Institute , Inc., Cary , NC. http://www2.sas.com/proceedings/sugi30/198-30.pdf

Klauzińska, M., Żurkowski, M., Siadkowska, E., Szymanowska, M., Grochowska, R., Zwierzchowski, L. and Klewiec, J., 2004, Analysis of genetic structure in Polish Red and Polish Black-and-White cattle using twelve marker *loci* potentially related to milk or meat production traits, *Animal Science Papers and Reports,* 22 (2): 153-171.

Komisarek, J. and Dorynek, Z., 2005, Polymorphisms of leptin and leptin receptor genes in the Polish population of Holstein-Friesian bulls, *Ann. Anim. Sci*., 5 (2): 253-260.

Komisarek J., Szyda J., Michalak A. and Dorynek Z., 2005, Impact of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits in cattle, *J. Anim. Feed Sci.*, 14 (3): 491-500.

Komisarek, J. and Antkowiak, I., 2007, The relationship between leptin gene polymorphisms and reproductive traits in Jersey cows, *Pol. J. Vet. Sci.,* 10 (4): 193-197.

Konfortov, A. B., Licence, V. E. and Miller, J. R., 1999, Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon, *Mammalian Genome*, 10 (12): 1142-1145.

Kong, H. S., Oh, J. D., Lee, S. G., Hong, Y. S., Song, W. I., Lee, S. J., Kim, H. C., Yoo, B. H., Lee, H. K. and Jeon, G. J., 2006, Association of Polymorphisms in the Bovine Leptin Gene with Ultrasound Measurements for Improving in Korean Cattle, *Asian-Aust. J. Anim. Sci*., 19 (12): 1691-1695.

Kopp, P. and Jameson, J. L., 1998, Thyroid Disorders, In: Jameson JL and Collins FS. eds. Principles of Molecular Medicine. *Humana Press*, Totowa. NJ, pp. 459-473.

Kulig, H., 2005a, Association between leptin combined genotypes and milk performance traits of Polish Black-and-White cows, *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 48:)6): 547-554.

Kulig, H., 2005b, Associations between leptin gene polymorphism and some milk performance traits of cattle, *J. Anim. Feed Sci*., 14 (2): 235-243.

Kulig, H., Kmieć, M., Kowalewska-Luczak, I. and Andziak, G., 2009, Effect of Leptin Gene Polymorphisms on Milk Production Traits of Jersey Cows, *Turk. J. Vet. Anim. Sci*., 33 (2): 143-146 (Abstract).

Kulig, H. and Kmieć, M., 2009, Association between leptin gene polymorphisms and growth traits in Limousin cattle, *Russian Journal of Genetics*, 45 (6): 738-741.

Kulig, H., Kmieć, M. and Wojdak-Maksymiec, K., 2010, Associations between Leptin Gene Polymorphisms and Somatic Cell Count in Milk of Jersey Cows, *Acta Vet.,* 79: 237-242.

Lagonigro, R., Wiener, P., Pilla, F., Woolliams, J. A. and Williams, J. L., 2003, A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake, *Animal Genetics*, 34: 371–374.

Leury, B. J., Baumgard, L. H., Block, S. S., Nthabisheng Segoale, N., Ehrhardt, R. A., Rhoads, R. P., Bauman, A. E., Bell, A. W. and Boisclair, Y. R., 2003, Effect of insulin

and growth hormone on plazma leptin in periparturient dairy cows, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.,* 285: R1107–R1115,

Lindersson, M., Andersson-Eklund, L., De Koning, D. J., Lundén, A., Mäki-Tanila, A. and Andersson, L., 1998, Mapping of Serum Amylase-1 and Quantitative Trait Loci for Milk Production Traits to Cattle Chromosome 4, *Journal of Dairy Science*, 81 (5): 1454-1461.

Littell, R. C., Henry, P. R. and Ammerman, C. B., 1998, Statitical analysis of repeated measures data using SAS procedures, *J. Anim. Sci*., 76: 1216-1231.

Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W. W., Wolfinger, R. D., 2005, *SAS System for Mixed Models,* SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Leifers, S.C., te Pas, M.F., Veerkamp, R.F., van der Lende, T., 2002, Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers, *J. Dairy Sci*., 85: 1633–1638.

Leifers, S. C., Veerkamp, R. F., te Pas, M.F.W., Delavaud, C., Chilliard, Y. and Van der Lende, T., 2003a, Leptin Concentrations in Relation to Energy Balance, Milk Yield, Intake, Live Weight, and Estrus in Dairy Cows, *J. Dairy Sci.*, 86:799–807.

Leifers, S. C., te Pas, M.F.W., Veerkamp, R. F.,Chilliard, Y., Delavaud, C., Gerritsen, R. and Van der Lende, T., 2003b, Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows, *Mammalian Genome*, 14: 657-663.

Leifers, S. C., Veerkamp, R. F., Te Pas, M. F., Chilliard, Y. And Van der Lende, T., 2005, Genetics and physiology of leptin in periparturient dairy cows, *Domest. Anim. Endocrinol*., 29(1): 227-238.

Li, S., Crenshaw III, E. B., Rawson, E. J., Simmons, D. M., Swanson, L. W. And Rosenfeld, M. G., 1990, Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene *pit-1*, *Nature*, 357: 528-533.

Lien, S., Sundvold, H., Klungland, H. and Vage, D. I., 1997, Two novel polymorphisms in the bovine obesity gene (OBS), *Anim Genet*., 28 (3): 245.

Looper L. M., Stokes S. R., Waldner D. N. ve Jordan E.R., 2001, Managing Milk Composition: Normal Sources of Varation, Guide D-103. http://aces.nmsu.edu/pubs/_d/d-103.html

Lopez-Calleja, I. M, Gonzalez, I., Fajardo, V., Hernandez, P. E., Garcıa, T. ve Martın, R., 2007, Application of an indirect ELISA and a PCR technique for detection of cows' milk in sheep's and goats' milk cheeses, *International Dairy Journal,* 17, 87–93.

Mackinnon, M. J., Georges, M. A. J., 1998, Marker-assisted preselection of young dairy sires prior to progeny-testing, *Livest. Prod. Sci*., 54: 229–250.

Madeja, Z., Adamowicz, T., Chmurzynska, A., Jankowski, T., Melonek, J., Switonski, M. and Strabel, T., 2004, Short Communication: Effect of Leptin Gene Polymorphisms on Breeding Value for Milk Production Traits, *J. Dairy Sci*., 87: 3925–3927.

Maskova, E. ve Paulickova, I., 2006, PCR-Based Detection of Cow's Milk in Goat and Sheep Cheeses Marketed in the Czech Republic, *Czech J. Food Sci,* 24 (3), 127-132.

Metin, M., 2005, Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi* No: 33, Bornova-İzmir.

Meuwissen, T. H. E., and Goddard, M. E., 1996, The use of marker-haplotypes in animal breeding schemes, *Genetics Selection Evolution*, 28: 161-176.

Miller, S. A., Dykes, D.D. and Polesky, H. F., 1988, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acids Res*.,16 (3):1215.

Misriantia, R., Sumantria, C. and Farajallahb, A., 2010, Polymorphism Identification of Pit1 Gene in Indonesian Buffaloes (*Bubalus bubalis*) and Holstein-Friesian Cows, *Media Peternakan*, 33 (3): 131-136.

Miyai, S., Yoshimura, S., Iwasaki, Y., Takekoshi, S., Lloyd, R. V., Osamura, R. Y., 2005, Induction of GH, PRL, and TSH beta mRNA by transfection of Pit-1 in a human pituitary adenoma-derived cell line, *Cell Tissue Res*., 322: 269-277.

Moody, D. E., Pomp, D., Berendse, W., 1995, Restriction fragment length polymorphism in amplification products of bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1, *Animal Genetics*., 26: 45-47.

Montaldo, H. H. ve Meza-Herrera, C. A., 1998, Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock, *Electronic Journal of Biotechnology*, 1 (2): 15-16. http://www.scielo.cl/pdf/ejb/v1n2/a04.pdf

Moser, E. B., 2004, *Repeated measures modeling with PROC MIXED*. Paper 188–29 in Proc. Twenty-Ninth Annu. SAS Users Group Int. Conf., SAS Inst. Inc., Cary, NC. http://www2.sas.com/proceedings/sugi29/188-29.pdf

MSTAT, 1989, *MSTAT User's guide: Statistics (version 5).* Michigan State University, Michigan, USA.

Mukesh, M., Sodhi, M., Sobti, R. C., Prakash, B. Kaushik, R., Aggarwal, R. A. K. and Mishra, B. P., 2008, Analysis of bovine pituitary specific transcription factor-Hinf I gene polymorphism in Indian zebuine cattle, *Livestock Science,* 113: 81-86.

Nassiry, M. R., Moussavi, A. H., Alashawkany, A. R. And Ghovati, S., 2007, Leptin gene polymorphism in Iranian native Golpayegani and Taleshi cows, *Pak. J. Biol. Sci*., 10 (20): 3738-3741.

Nassiry, M. R., Shahroudi, F. E., Mousavi, A. H., Sadeghi, B. and Javadmanesh, A., 2008, The diversity of *leptin* gene in Iranian native, Holstein and Brown Swiss cattle, *African Journal of Biotechnology,* 7 (15): 2685-2687.

Nei, M., 1973, Analysis of gene diversity in subdivided populations, *Proc. Natl. Acad. Sci*., USA, 70: 3321-3323.

Oprzadek, J., Flisikowski, K., Zwierzchowski, L., Dymnicki, E., 2003, Polymorphisms at loci of Leptin (LEP), Pit1 and STAT5A and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black-and- White bulls, *Animal Science Paper and Reports*, 21(3): 135.145.

Oysun, G., 1991, Süt ürünlerinde analiz yöntemleri (I. Basım), *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 504, Ofset Basımevi*, Bornova-İzmir.

Özbalcı, D. ve Şahin, M., 2007, Leptin ve İmmün Sistem, *S. D.Ü. Tıp Fak. Derg*., 14(2): 51-55.

Özhan, M., Tüzemen, N. ve Yanar, M., 2004, Büyükbaş Hayvan Yeiştirme (Düzeltilmiş Dördüncü Baskı), *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Notu Yayınları* No: 134, Erzurum.

Öztabak, K., Toker, N. Y., Ün, C., Akış, I., Mengi, A., Karadağ, O. Ve Soysal, D., 2010, Leptin gene polymorphisms in native Turkish Cattle breeds, *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 16 (6): 921-924.

Parmentier, I., Portetelle, D., Gengler, N., Pradi, A., Bertozzi, C., Vleurick,L., Gilson, R. and Renaville, R., 1999, Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection, *Domestic Animal Endocrinology*, 17: 139-148.

Pomp, D., Zou, T., Clutter, A. C. and Barendse, W., 1997, Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism, *J. Anim. Sci*. 75: 1427.

Ponzoni, E., Mastromauro, F., Gianì, S. ve Breviario, D., 2009, Traceability of Plant Diet Contents in Raw Cow Milk Samples, *Nutrients*, 1, 251-262.

Pryce, J. E., Coffey, M. P. and Brotherstone, S., 2000, The Genetic Relationship between Calving Interval, Body Condition Score and Linear Type and Management Traits in Registered Holsteins, *J. Dairy Sci*., 83 : 2664 –2671.

Rajcevic, M., Potoènik, K. and Levstek, J., 2003, Correlations Between Somatic Cells Count and Milk Composition with Regard to the Season, *Agriculturae Conspectus Scientificus, 68* (3): 221-226.

Rance, F., Grandmottet, X. ve Grandjeanw, H., 2005, Prevalence and main characteristics of schoolchildren diagnosed with food allergies in France, *Clin Exp Allergy*, 35, 167-172.

Rasor, C.C., Thomas, M.G., Enns, R.M., Salazar, H.C., Zhang, H.M., Williams, G.L., Stanko, R.L., Randel, R.D. and Rios, J., 2002, Allelic and Genotypic Frequencies of the Leptin Gene Sau3AI Restriction Fragment Length Polymorphism and Evaluation of its Association to Age-of–Puberty in Cattle in the Southwestern United States and Northern Mexico, *Journal of Professional Animal Scientists*, 18 (2): 141-146.

Renaville, R., Gengler, N. Vrech, E. Prandi, A. Massart, S. Corradini, C. Bertozzi, C. Mortiaux, F. Burny, A. and Portetelle, D., 1997a, Pit-1 Gene Polymorphism, Milk Yield, and Conformation Traits for Italian Holstein-Friesian Bulls, *J. Dairy Sci*., 80: 3431–3438.

Renaville, R., Gengler, Parmentier, I., Mortiaux, F., Massart, S., Bertozzi, C., Burny, A. and Portetelle, D., 1997b, Pit-1 gene *Hinf*I RFLP and growth traits in doublemuscled Belgian Blue cattle, *J. Anim. Sci*., 75 (Suppl. 1): 146. (Abstract)

SAS Institute, 2002*, SAS/STAT 9 User's Guide – Procedures*, SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Sadeghi, M., Babak, M. M. S., Rahimi, G. and Javaremi, A. N., 2008, Effect of leptin gene polymorphism on the breeding value of milk production traits in Iranian Holstein, *Animal*, 2 (7): 999-1002.

Sambrook, J., Maniatis, T. and Fritsh, E. F., 1989, Molecular cloning: a laboratory manual, *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, New York.

Saxton, A. M., 1998, *A macro for converting mean separation output to letter groupings in Proc Mixed*. In Proc. 23rd SAS Users Group Intl., SAS Institute, Cary, NC, pp1243-1246.

Schnabel, R. D., Sonstegard, T. S., Taylor, J. F. and Ashwell, M. S., 2005, Whole genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families, *Animal Genetics*, 36: 408-416

Shook, G. E., 2006, Major Advances in Determining Appropriate Selection Goals, *J. Dairy Sci.*, 89: 1349-1361**.**

Silva, L. F. P., Vande Haar, M. J., Weber Nielsen, M. S. and Smith, G. W., 2002, Evidence for a Local Effect of Leptin in Bovine Mammary Gland, *J. Dairy Sci*., 85: 3277-3286.

Slots, T., Butler, G., Leifert, C., Kristensen, T., Skibsted, L. H. and Nielsen, J. H., 2009, Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies, *J. Dairy Sci*., 92: 2057-2066.

Souza, F. R. P., Mercadante, M. E. Z., Fonseca, L. F. S. Ferreira, L. M. S., Regatieri, I. C., Ayres, D. R., Tonhati, H., Silva, S. L., Razook, A. G. and Albuquerque, L. G., 2010, Assessment of *DGAT1* and *LEP* gene polymorphisms in three Nelore (*Bos indicus*) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits, *J. Anim. Sci*,. 88: 435-441.

Soyeurt, H., Dardenne, P., Gillon, A., Croquet, C., Vanderic, S., Mayeres, P., Bertozzi, C. and Gengler, N., 2006, Variation in Fatty Acid Contents of Milk and Milk Fat Within and Across Breeds, *J. Dairy Sci*., 89: 4858-4865.

Şekerden, Ö. ve Özkütük, K., 1990, Büyükbaş Hayvan Yetiştirme, *Çukurova Üniv. Zir. Fak. Yay. Ders Kitab,* No: 122, Adana.

Şekerden, Ö., 2001, Büyükbaş Hayvan Yetiştirme (Manda Yetiştiriciliği), *Temizyürek Ofset Matbaacılık*, Hatay.

Taniguchi, Y., Itoh, T., Yamada, T. and Sasaki, Y., 2002, Genomic structure and promoter analysis of the bovine leptin gene, *IUBMB Life*, 53: 131-135.

Tekinşen, O. C., 1996, Süt ürünleri teknolojisi, *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Üntesi*, Konya.

Tunçtürk, Y., Andiç, S. ve Özrenk, E., 2008, Süt Orijininin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler Üzerine Bir Degerlendirme, *Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008*, Erzurum

Van Der Lende T., Te Pas M.F., Veerkamp R.F., Liefers S.C., 2005, Leptin gene polymorphisms and their phenotypic associations, *Vitamins and Hormones*, 71, 373-404.

Vargas L., D., Gana V., E., Escudero I., F., 2004, Pit-1 gene polymorphism in dairy cows from Central Chile, *Archivos de Zootecnia*, 53 (202): 217-220. (Abstract).

Viorica, C., Vlaic, A. and Gaboreanu, I., 2007, H*inf*I Polymorphism of K-Casein and Pit1 Genes in Romanian Simmental Cattle, *Lucrări ştiinţifice Zootehnie şi Biotehnologii,*40 (1): 59-61.

Yan, L. J., Liu, B., Fang, X. T., Chen, H., Zhang, R. F., Bao, B. and Zhang, H. J., 2006, Analysis of POU1F1 gene polymorphisms in Qinchuan cattle and Chinese Holstein cattle, *Yi Chuan*., 28 (11): 1371-1375 (Abstract).

Yavuz, H. M., 2001, Çiftlik Hayvanlarının Beslenmesinde Temel Prensipler ve Karma Yem Üretiminde Bazı Bilimsel Yaklaşımlar, *Farmavet İlaç San. ve Tic. A.Ş. yayını*, İstanbul.

Yazdani, H., Rahmani, H. R., Edris, M. A. and Dirandeh, E., 2010, Association between A59V polymorphism in exon 3 of leptin gene and reproduction traits in cows of Iranian Holstein, *African Journal of Biotechnology*, 9(36): 5997-6000.

Yeh, F.C., Rongcai, Y., Boyle, T,, Ye, Z. and Xiyan, J. M., 1997, *POPGENE, The User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.

Yetişmeyen, A., 1999, İmmunolojik test yöntemlerinin süt sanayinde kullanımı, *Gıda*, 24(1), 41-45.

Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001, Genetik Markörler ve Analiz Metodları. Bitki Biyoteknolojisi II – Genetik Mühendisliğ ve Uygulamaları, Ed: Özcan S, Gürel E, Babaoğlu M., *Selçuk Üniversitesi Basımevi*, Konya

Xue, K., Chen, H., Wang, S., Cai, X., Liu, B., Zhang, C-F, Lei, C-Z., Wang, X-Z., Wang, Y-M. and Niu, H., 2006, Effect of genetic variations of the POU1F1 gene on growth traits of nanyang cattle, *Acta Genetica Sinica*, 33 (10): 901-907.

Wang, Z. and Goonewardene, L. A., 2004, The use of mixed models in the analysis of animal experiments with repeated measures over time, *Can. J. Anim*. Sci., 84: 1-11.

Weatherly, K. L., 1998, Regulation of Pituitary Genes by the Transcription Factor, Pit-1, in the Domestic Turkey, *Virginia Polytechnic Institute and State University Master of Science in Animal and Poultry Sciences*, Blacksburg, Virginia.

Wolfinger, R. D. and Chang, M., 1995, *Comparing the SAS GLM and MIXED Procedures for Repeated Measures,* SAS Institute Inc., Cary, NC.

Woollard, J., Schmitz, C. B., Freeman, A. E., Tuggle, C. K., 1994, *Hinf*I polymorphism at the bovine Pit-1 locus, *Journal of Animal Science,*72, 3267.

Zakizadeh, S., Reissmann, M., Rahimi, G., Javaremi, N. A., Reinecke, P., Mirae-Ashtiani, S. R. and Shahrbabak, M. M., 2007, Polymorphism of Bovine POU1F1 Gene: allele frequencies and effects on milk production in three Iranian native breeds and Holstein cattle of Iran, *Pak. J. Biol. Sci*., 10(15):2575-2578.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M. Barone, M. Leopold, L. Friedman, J.M., 1994, Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, *Nature*, 372: 425-432.

Zhang, C., Liu, B., Chen, H., Lan, X., Lei, C., Zhang, Z. and Zhang, R., 2009, Associations of a *Hinf*I PCR-RFLP of POU1F1 gene with growth traits in Qinchuan cattle, *Anim. Biotechnol*, 20 (2): 71-74.

Zhao, Q., Davis, M. E. and Hines, H. C., 2004, Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle, *J. Anim. Sci*., 82: 2229-2233.

Zwierzchowski, L., Krzyzewski, J., Strzalkowska, N., Siadkowska, E., Ryniewicz, Z., 2002, Effects of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows, *Animal Science Papers and Reports*, 20 (4): 213-227. (Abstract).

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İbrahim Aytekin
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Banaz / 19.11.1979
Telefon : 0.332.2232920
Faks : 0.332.2410108
e-mail : aytekin@selcuk.edu.tr

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Şehit Abdülkadir Kılavuz Anadolu Öğretmen Lisesi - UŞAK	1998
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü - KONYA	2004
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı - KONYA	2006
Doktora	:	Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı - KONYA	2011

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2005 - 2010	Selçuk Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü - KONYA	Araştırma Görevlisi
2010-	Selçuk Üniv. Zootekni Bölümü - KONYA	Araştırma Görevlisi

UZMANLIK ALANI

Hayvan Yetiştirme, Moleküler Genetik

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

A - Uluslararası Çalışmalar
A-1) TUBİTAK yayın teşvik listesindeki A ve B grubu dergilerde yayınlanan araştırma makalesi

Aytekin, İ., Özdil, F., Zülkadir, U., Boztepe, S. and Sarıyel, V., 2011, Evaluation of ISSR markers for genetic diversity analysis in Anatolian Water Buffaloes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (11): 1957-1962.

A-2) TUBİTAK yayın listesindeki C grubu dergilerde ve SCI-expanded, SSCI, AHCI kapsamındaki diğer dergilerde yayınlanan araş. Makalesi

Zülkadir, U., **Aytekin, İ**. and Keskin, İ., 2008, Relationship between Persistency Values Defined with Various Methods and Some Lactation Traits of Brown Swiss Cattle in Turkey, *J. Appl. Anim. Res*., 34 (2): 137-141.

Zülkadir, U. and **Aytekin, İ.,** 2009, Genetic analysis of test day milk yields of Brown Swiss cattle raised at Konuklar State Farm in Turkey using MTDFREML, *South African Journal of Animal Science*, 39 (1):10-14.

Zülkadir, U., **Aytekin, İ.** and Pala, A., 2009, Genetic analyses for milk yield, lactation period and fat percentage in Brown Swiss cattle, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (5): 857-862.

A-3) Diğer uluslararası hakemli dergilerdeki yayınlar

Zülkadir, U., Keskin, İ., Sariyel, V. and **Aytekin, İ**., 2006, Haemoglobin Polymorphism in Chuckar (Alectoris chuckar) and Pheasant (Phasianus colchicus), *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5 (11): 894-896.

Aytekin, İ., Zülkadir, U., Keskin, İ., ve Boztepe, S., 2010, Fitting of Different Mathematic Models to the Growth Curves of Female Malya Lambs Weaned at Two Different Live Weights, *Trends Anim Vet Sci J*., 1(2):19-23.

B- Uluslararası Bildiriler
B-1) Tam metinli bildiriler (Yabancı dilde sözlü sunulan ve tam metni yayınlananlar)

Aytekin, İ. and Boztepe, S., 2010, Determination of Genetic Polymorphism within Güney Karaman Sheep-Breed via RAPD-PCR Method, *2nd International Symposium on Sustainable Development. 8-9 June 2010*, Sarajevo. **(Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)**

Zülkadir, U., Keskin, İ., **Aytekin, İ.** and Khattab, A. S. 2010. Estimation of Phenotypic and Genetic Parameters and Effect of Some Factors on Birth Weight in Brown Swiss Calves in Turkey Using MTDFREML. *2nd International Symposium on Sustainable Development. 8-9 June 2010*, Sarajevo.

D - Ulusal Çalışmalar
D-1) Araştırma makalesi (hakemli)
Zülkadir, U., **Aytekin, İ.** ve Özcan, Ş., 2008, Anadolu Merinosu Erkek Kuzularda Besi Süresince Vücut Ölçüleri İle Besi Performansına İlişkin Bazı Özelliklerin Tekrarlanma Dereceleri, *Hasad Hayvancılık*, 273: 40-42.

Zülkadir, U., Şahin., Ö., **Aytekin, İ**. ve Boztepe, S., 2008, Malya Kuzularda Canlı Ağırlık ve Bazı Vücut Ölçülerinin Tekrarlanma Dereceleri, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (45): 91-96.

Aytekin, İ., Karabacak, A., Zülkadir, U., Keskin, İ. ve Boztepe, S., 2009, Açık ve Kapalı Ağıllarda Besiye Alınan Akkaraman ve Anadolu Merinosu Kuzuların Besi Periyodu Büyüme Eğrilerinin Tanımlanmasında Bazı Modellerin Kullanımı, *Selçuk Gıda ve Tarım Bilimleri Dergisi*, 23 (49): 30-35.

Karabacak, A., Zülkadir, U., **Aytekin, İ.,** Keskin, İ. ve Boztepe, S., 2010, Akkaraman Kuzularda Besi Başı Vücut Ölçüleriyle Soğuk Karkas Ağırlığı Arasındaki İlişkilerin Path Analizi İle Araştırılması, *Selçuk Gıda ve Tarım Bilimleri Dergisi*, 24 (2): 36-39.

Karabacak, A., **Aytekin, İ.**, Boztepe, S. ve Keskin, İ., 2010, Erken Kesilen Akkaraman Kuzularına Ait Bazı Fenotipik Parametreler, *Hasad Hayvancılık*, 307: 44-47.

D-1.1) Derleme, Vaka takdimi, Teknik Not, Kısa Makale, Kitap veya Makale Tahlili, Editöre Mektup, Özet, Tartışma vb. (hakemli)

Boztepe, S. ve **Aytekin, İ**., 2007, Türkiye'de Sığır, Koyun ve Keçi Yetiştiriciliğinin Durumu, Problemler ve Çözüm Önerileri, *Konya Ticaret Borsası*, 26: 24-30.

Boztepe, S. ve **Aytekin, İ**., 2008, Kırmızı Et Üretimi ve Besicilik, *Konya Ticaret Borsası*, 28: 32-37.

Öztürk, A. ve **Aytekin, İ**., 2010, Türkiye'de Keçicik ve Yerli Keçi Irkları, *Konya Ticaret Borsası*, 35: 44-45.

Aytekin, İ. ve Kaplan, S., 2010, Koyunlarda Vücut Kondüsyon Puanlaması ve Yetiştiricilikte Önemi, *Hasad Hayvancılık*, 303: 42-45.

E- Ulusal Bildiriler
E-1) Tam metinli bildiriler
(Sözlü sunulan ve tam metin yayınlananlar)

Sariyel, V., **Aytekin, İ.**, Keskin, İ. ve. Dağ, B., 2009, Konya Merinosu Koyunlarda Bazı Çevre Faktörlerinin Doğum, Sütten Kesim, 6. Ay ve 12. Ay Canlı Ağırlığına Etkileri ve Bu Karakterlere Ait Kalıtım Dereceleri, *1.Uluslararası 5. Ulusal Meslek Yüksekokulları Sempozyumu, 27-29 Mayıs 2009*, KONYA.

Karabacak, A., **Aytekin, İ.** Keskin, İ.,Zülkadir, U. ve Boztepe, S., 2009, Akkaraman Kuzularında Besi Başındaki Canlı Ağırlık ve Çeşitli Vücut Ölçüleri ile Karkas Özellikleri Arasındaki İlişkinin Kanonik Korelasyon Yöntemi ile Araştırılması, *1.Uluslararası 5.Ulusal Meslek Yüksekokulları Sempozyumu, 27-29 Mayıs 2009*, KONYA.

E-2) Poster olarak sunulan ve tam metin yayınlananlar
Zülkadir, U. ve **Aytekin, İ.,** 2009, The Repeatability of Test Day Milk Yields of Crossbred Ewes Akkaraman (A), Awassi (Aw) and (A x Aw (F1)) x AwB1 in Lactation, *6. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, 24-26 Haziran 2009*, ERZURUM.