T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİYAH ALACA VE ESMER SIĞIR IRKLARINDA PCR-RFLP YÖNTEMİ İLE BELİRLENEN MYOSTATİN, CALPASTATİN VE MİYOJENİK FAKTÖR 5 GENLERİ İLE BESİ PERFORMANSI ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ

Marwan FADHIL

DOKTORA TEZİ

Zootekni Anabilim Dalı

Nisan-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

DOKTORA TEZİ

SİYAH ALACA VE ESMER SIĞIR IRKLARINDA PCR-RFLP YÖNTEMİ İLE BELİRLENEN MYOSTATİN, CALPASTATİN VE MİYOJENİK FAKTÖR 5 GENLERİ İLE BESİ PERFORMANSI ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ

Marwan FADHIL

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
ZOOTEKNİ Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Uğur ZÜLKADİR

2019, 91 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Uğur ZÜLKADİR
Prof. Dr. Saim BOZTEPE
Prof. Dr. Tuna UYSAL
Prof. Dr. Ecevit EYDURAN
Prof. Dr. Serap GÖNCÜ

Bu çalışmada Siyah Alaca ve Esmer sığırlarda, Myf5, CAST ve MSTN genleri ile besi performansı arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışmada 228 (103 Siyah Alaca ve 125 Esmer) sığır hayvan materyali kullanılmıştır. Siyah Alaca sığırların Myf5, CAST ve MSTN genleri açısında allel frekansları sırasıyla A: 0.30, B: 0.70; A: 0.43, G: 0.56; A: 0.97, B:0.03 olarak tespit edilmiştir. Esmer sığırlarda aynı sırayla A: 0.36, B: 0.64; A: 0.65, G: 0.34; A: 0.88, B:0.12 olarak bulunmuştur. İncelenen iki sığır ırkının da Myf5, CAST ve MSTN genleri yönünden Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, CART analizine göre Myf5, CAST ve MSTN genlerinin besi performansı özellikleri üzerindeki etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Besi performansı, Kalpastatin, Myostatin, Myf5, Polimorfizm.

ABSTRACT

PhD THESIS

DETERMINATION OF THE REALATIONSHIP BETWEEN FATTENING PERFORMANCE AND CALPASTATIN, MYOSTATIN AND MYOGENIC FACTOR 5 GENES BY PCR-RFLP METHOD IN HOLSTEIN AND BROWN SWISS CATTLE

Marwan FADHIL

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

Advisor: Prof. Dr. Uğur ZÜLKADİR

2019, 91 Pages

Jury
Prof. Dr. Uğur ZÜLKADİR
Prof. Dr. Saim BOZTEPE
Prof. Dr. Tuna UYSAL
Prof. Dr. Ecevit EYDURAN
Prof. Dr. Serap GÖNCÜ

In this study, the relationships between Myf5, CAST and MSTN genes and fattening performance traits were investigated. In this study, 228 (103 Holstein and 125 Brown) cattle were used as animal material. The allele frequencies of Holstein cattle in terms of Myf5, CAST and MSTN genes were A: 0.30, B: 0.70; A: 0.43, G: 0.56; A: 0.97, B: 0.03, respectively. In the same order allele frequencies in Brown Swiss cattle were determined as A: 0.36, B: 0.64; A: 0.65, G: 0.34; A: 0.88, B: 0.12. The two cattle breeds in terms of Myf5, CAST and MSTN genes were found to be Hardy-Weinberg equilibrium. As a result, it was determined that the effect of Myf5, CAST and MSTN genes on fattening performance traits was significant according to CART analysis.

Keywords: Fattening performance, Calpastatin, Myostatin, Myf5, polymorphism.

ÖNSÖZ

Güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm sevgili danışman hocam Prof. Dr. Uğur ZÜLKADİR'e teşekkürlerimi beyan ederim.

Değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim kıymetli hocam Doç.Dr. İbrahim AYTEKİN'e şükranlarımı arz ederim.

Çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren çok sevdiğim kıymetli hocam Prof. Dr. Saim BOZTEPE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın istatistik analizlerinde yardımlarını esirgemeyen ve istatistikle ilgili kendilerinden çok faydalandığım kıymetli hocalarım Prof. Dr. İsmail KESKİN'e ve Prof. Dr. Ecevit EYDURAN'a sonsuz teşekkürlerimi bildiririm.

Değerli fikirleri ile bana yol gösteren desteklerini her zaman yakından hissettiğim Tez İzleme Komitesi'nde yer alan hocam Prof. Dr. Tuna UYSAL'a yürekten teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım sırasında desteklerini gördüğüm Dr. Yasin ALTAY, Doç. Dr. Ali KARABACAK ve Özcan ŞAHİN'ne teşekkür ederim.

Son olarak manevi desteklerini esirgemeyen ve zor zamanlarda yanımda olan sevgili annem, babam, ablam ve abime şükranlarımı arz ederim.

Marwan FADHIL
KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv
ABSTRACT v
ÖNSÖZ vi
İÇİNDEKİLER vii
SİMGELER VE KISALTMALAR ix
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 3
2.1. Dünya'da Ve Türkiye'de Kırmızı Et Üretimi 3
2.2. Çiftlik Hayvanlarında Markör Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection, MAS) Kullanımı 6
2.2.1. Sığırlarda aday gen yaklaşımı 9
2.3. Miyojenik Faktör 5 (Myf5) 10
2.3.1. Myf5 geninde sığırlarla ilgili yapılmış çalışmalar 12
2.3.2. Myf5 geninin diğer organizmalarla ilgili çalışmaları 15
2.4. Sığırlarda Çift Kaslılığın (Double Muscling) Tarihçesi 18
2.5. Kalpastatin 27
2.5.1. Sığırlarda Kalpastatin geni ile ilgili yapılmış çalışmalar 29
2.5.2. Koyunlarda Kalpastatin geni ile ilgili yapılmış çalışmalar 30
3. MATERYAL VE YÖNTEM 32
3.1. Materyal 32
3.1.1. İşletme 32
3.1.2. Hayvan materyali 32
3.1.3. Hayvanların yemleme programları ve kayıtları 32
3.2. Yöntem 33
3.2.1. Kan örneklerinin alınması 33
3.2.2. Genomik DNA izolasyonu 33
3.2.3. Primerlerin seçimi 34
3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyon (PCR) işlemi 34
3.2.5. Restriksiyon enzimleri ile kesim işlemi 35
3.2.6. Jel elektroforez işlemi 36
3.2.7. İstatistik analizler 37
3.2.8. Besi performansı ile genler arasındaki ilişkinin Regresyon Ağacı Yöntemi ile belirlenmesi 38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 40
4.1. Myostatin (MSTN/*DraI*) polimorfizmi 40
4.2. Myf5 (Myf5/*TaqI*) polimorfizmi 42
4.3. Kalpastatin (CAST/*AluI*) polimorfizmi 45
4.4. İlişki analizleri 48

4.4.1. Tanıtıcı istatistikler 48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 66
KAYNAKLAR 68
ÖZGEÇMİŞ 79

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
SSCP	Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi Yöntemi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
UV	Ultraviyole
kDa	Kilo dalton
cM	Santimorgan
µl	Mikro litre
ml	Mili litre
^{o}C	Santigrat derece
M	Molar
mM	Mili molar
g	Gram
kg	Kilogram
nm	Nanometre
dNTPs	Deoksiribonükleozid trifosfat
A	Adenin nükleotid
T	Timin nükleotid
G	Guanin nükleotid
C	Sitozin nükleotid
bç	Baz çifti
kb	Kilo baz
dk	Dakika
sn	Saniye
MAS	Markör Destekli Seleksiyon
QTL	Kantitatif Karakter Lokusu
Myf5	Miyojenik Faktör 5
MSTN	Myostatin
CAST	Calpastatin

1. GİRİŞ

Dünya sağlık örgütü verilerine göre sağlıklı ve yetişkin kişilerin vücut ağırlıklarının her kilogramı için günde 1 gr protein tüketmesi ve bu tüketilen proteinin % 50'sinin hayvansal protein kökenli olması gerekmektedir. Günümüzde insan başına düşen hayvansal protein miktarı ülkelerin gelişmişliğindeki ölçüt olarak ele alınmakta ve günlük tüketilen protein miktarı % 40'ın üzerinde hayvansal protein içeren ülkeler, gelişmiş ülkeler olarak kabul edilir. Amerika ve Avrupa ülkelerinde günlük tüketilen protein miktarının yaklaşık %70'i hayvansal ürünlerden sağlanırken, Türkiye'de günlük tüketilen protein miktarının %73'ü bitkisel ürünlerden temin edilmektedir. Türkiye'de yıllık kişi başına düşen kırmızı et miktarı 13 kg'dır. Avrupa ülkelerinde bu miktar domuz eti dahil yaklaşık 55 ile 62 kg arasında değişmektedir. Dengeli beslenmede kişi başı yıllık kırmızı et tüketiminin yaklaşık 33 kg olması gerektiği göz önüne alındığında, Türkiye'de kırmızı et üretiminin artırılmasına yönelik çalışmalara, pratik ve sürdürülebilir politikalara ihtiyaç olduğu ortaya çıkmaktadır (Anonim, 2015).

Sığır eti üretmek için dünyada 250'den fazla et verim yönlü sığır ırkı vardır. Ancak et sığırcılığında ülkelerin daha çok 20 ırk üzerinde yoğunlaştığı, ıslah ve yetiştirme çalışmalarını bu ırklar üzerinden yapıldığı görülmektedir. Et sığırcılığında büyüme hızı, üreme etkinliği, analık yeteneği, karkas ve et kalitesi üzerine ırkın etkisi önemli etkenlerdendir. Bu sebeple tüketicilerin taleplerini dikkate alarak pazarın isteklerini karşılamak, ekonomik üretim yapabilmek amacıyla doğru ırklarla çalışmak gerekmektedir.

Hayvansal ürünleri bitkisel ürünlere nazaran daha fazla besin değerine sahiptir. Nüfusun artması ve insanların gün geçtikçe hayvansal ürünlerine isteklerde artmaktadır. Bu isteklerin çoğu kırmızı et ürünlerine yoğunlaşmaktadır. Kırmızı et ürünleri genellikle koyun, keçi, manda ve yoğun olarak sığırlardan temin edilmektedir. Türkiye'de besi sığırları genellikle yurtdışından temin edilmektedir. Yurtdışına bağımlılığın dezavantajları ise; et fiyatların artmasına, mevcut yerli ırkların sayısının azalmasına veya yok olmasına ve hayvanların beraberinde gelen hastalıkların ciddi bir şekilde yayılmasına neden olmaktadır. Bu bağımlılığı minimum seviyeye indirmek için ülkede mevcut hayvan varlıklarına ıslah yapılması gerekmektedir. Son yıllarda genetik markörlerin gelişmesi klasik ıslah yöntemlerinin dezavantajlarını gidererek çiftlik hayvanlarının seleksiyonuna ve genetik ilerlemesine önemli katkılarda bulunmuştur. Genetik markörler vasıtası ile günümüzde birçok aday gen tespit edilmiştir.

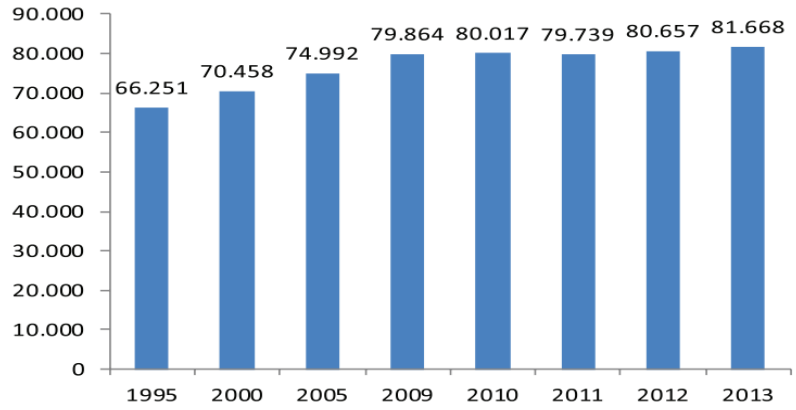
Sığır, koyun, keçi, tavuk ve domuzlarda özellikle et verimi, süt verimi ve döl verimi olmak üzere birçok önemli ekonomik verim üzerinde etkisi olan birçok majör genin olduğu tespit edilmiştir. Sığırlarda et verimine etkisi olan MSTN geni, koyunlarda et kalitesine etkisi olan CAST geni, tavuklarda büyüme özelliğine etkisi olan IGFI geni ve domuzlarda et verimine ve kalitesine etki eden Myf5 geni, çeşitli araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Ayrıca moleküler genetik alanında yaşanan gelişmelerden dolayı ve ekonomik öneme sahip olan özellikleri etkileyen genlerin haritalarının çıkartılması genetik markörler araçlığıyla yapılan genom tarama ve gen bağlılığı çalışmaları ile birçok kantitatif karakter lokusu (QTL, Quantitative Trait Loci) ortaya çıkartılmıştır.

Günümüzde et verimi ile ilişkili olduğu bilinen birçok aday gen bulunmaktadır. Bu genler arasında yer alan Myostatin, Calpastatin ve Myf5 genlerinin; büyüme, gelişme, et verimi ve et kalitesi üzerinde önemli etkileri tespit edilmiş olup ıslah çalışmalarında (seleksiyon) bu genler markör olarak kullanılabilmektedir. Bu çalışma Konuklar Tarım İşletmesinde yetiştirilen Siyah alaca ve Esmer sığırlarda besi performansı ile Myf5, Myostatin ve Kalpastatin genleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Dünya'da ve Türkiye'de Kırmızı Et Üretimi

Sığır eti özelinde kırmızı et sektörü, üretim ve ticaret oranı her geçen yıl artmakla birlikte kanatlı ve domuz eti tüketiminin gerisinde kalmaktadır. 1990'lı yıllarda küresel et ticaretinin %50'sini sığır eti oluştururken; 2000'li yıllarda bu oran %30'lara kadar düşmüştür. Bu durumun gerçekleşmesinde domuz ve kanatlı eti maliyetlerinin, sığır etine göre daha çok düşmesi kadar hayvan hastalıkları ve gıda güvenliği sorunları kırmızı et tüketiminde sınırlı bir artışa yol açmıştır. FAO verilerine göre 2000 yılında 1,47 milyar baş olan Dünya büyükbaş hayvan sayısı (sığır ve manda) 2005 yılında 1,56 milyar başa, 2013 yılında ise 1,69 milyar başa ulaşmıştır. Küçükbaş hayvan sayısı (koyun ve keçi) 2000 yılında 1,86 milyar baş, 2005 yılında 2 milyar baş ve 2013 yılında 2,17 milyar baş seviyesinde gerçekleşmiştir. 2000 yılında 16 milyar adet olan kanatlı hayvan varlığı ise yıllar itibarıyla sürekli artış göstererek 2013 yılında 23,9 milyar seviyesine ulaşmıştır. Görüldüğü üzere Dünya büyükbaş, küçükbaş ve kanatlı hayvan varlığı artış eğilimindedir. Kanatlı hayvan varlığı 2013 yılında 2000'li yılların başlangıcına göre %50 artış göstermiştir (Anonim, 2015).



Kaynak: FAO 2012 (Toplam üretim miktarlarında sığır, koyun, manda ve keçi dikkate alınmıştır)

Şekil 2.1. Dünya kırmızı et üretimi (Bin ton)

FAO verilerine göre hem küçükbaş hem de büyükbaş kırmızı et üretiminde artış yaşandığı görülmektedir. 2008 yılına göre sığır eti üretimi %2.3 artarak 2013 yılında 63 milyon 983 bin tona ulaşmıştır. Üretimin %60 kadarı gelişmekte olan ülkelerde yapılmaktadır. ABD tüm üretimin %20'sini tek başına sağlarken; Brezilya, Çin, Arjantin ve Avustralya ABD'yi takip etmektedir. Türkiye ise 2018 yılında 1.600

ton sığır eti üretimi ile 16. sırada yer almaktadır (çizelge 1.1). Manda eti üretiminde ise 2013 yılında 2012 yılına göre %3,3'lük bir artış yaşanarak 3,7 milyon tona ulaşılmıştır. Manda eti üretiminde Hindistan ilk sırada yer almakla birlikte, Pakistan, Mısır ve Çin, Hindistan'ı takip etmektedir. Türkiye ise 2013 yılında 3,6 bin tonluk üretim ile 16. sırada yer almıştır (çizelge 1.2).

Çizelge 2.1. Ülkelere göre sığır eti üretimi (Bin Ton)

Ülke	2013	2014	2015	2016	2017	2018
ABD	11.698	11.075	10.817	11.507	12.109	12.448
Brezilya	9.675	9.723	9.425	9.284	9.450	9.700
Çin	6.393	6.890	6.700	7.000	7.707	7.110
Arjantin	2.822	2.700	2.720	2.650	2.760	2.900
Avustralya	2.317	2.595	2.547	2.125	2.125	2.250
Türkiye	869	1.245	1.423	1.484	1.515	1.600
Dünya toplamı	**33.774**	**34,228**	**33,632**	**34,05**	**35,666**	**36,008**

Kaynak: FAO 2013

Çizelge 2.2. Ülkelere göre manda eti üretimi (Bin Ton)

Sıra	Ülke	2008	2009	2010	2011	2012	2013
1	Hindistan	1.436	1.463	1.489	1.503	1.529	1.610
2	Pakistan	708	730	752	775	800	833
3	Mısır	375	412	398	396	405	390
4	Çin	306	309	310	308	310	336
5	Nepal	152	157	162	168	172	175
22	Türkiye	1	1	3	2	2	3.6
Dünya toplamı		**3.352**	**3.441**	**3.501**	**3.532**	**3.597**	**3.722**

Kaynak: FAO 2013

Dünya koyun eti üretimi 2013 yılında bir önceki yıla göre %1,4 artışla 8 milyon 589 bin tona ulaşmıştır. Koyun eti üretiminde Çin tüm dünya üretiminin çeyreğini sağlarken, Avustralya, Yeni Zelanda ve Sudan Çin'i takip etmektedir. Türkiye 2013 yılında 295 bin ton koyun eti üreterek 5. sırada yer almıştır (çizelge 1.3). Keçi eti üretimi ise 2013 yılında bir önceki yıla göre % 1,3 artarak 5 milyon 372 bin tona ulaşmıştır. Keçi eti üretiminde Çin en büyük üretici konumundayken; Çin'i Hindistan, Nijerya, Pakistan ve Bangladeş takip etmektedir. Türkiye ise 2013 yılında 56 bin ton üretim ile 13. sırada yer almıştır (çizelge 1.4) .

Çizelge 2.3. Ülkelere göre koyun eti üretimi (Bin Ton)

Sıra	Ülke	2008	2009	2010	2011	2012	2013
1	Çin	1.978	2.044	2.070	2.050	2.080	2.081
2	Avustralya	660	635	555	512	556	660
3	Yeni Zelanda	598	478	471	465	448	450
4	Sudan	332	313	323	324	325	325
5	Türkiye	278	262	240	253	272	295
Dünya toplamı		**8.415**	**8.354**	**8.229**	**8.348**	**8.470**	**8.589**

Kaynak: FAO 2013

Çizelge 2.4. Ülkelere göre keçi eti üretimi (Bin Ton)

Sıra	Ülke	2008	2009	2010	2011	2012	2013
1	Çin	1.770	1.795	1.919	1.887	1.900	2.000
2	Hindistan	550	568	587	597	601	509
3	Nijerya	277	284	288	292	295	295
4	Pakistan	264	271	278	285	289	297
5	Bangladeş	176	183	191	199	200	204
13	Türkiye	42	37	34	42	49	56
Dünya toplamı		**4.906**	**5.044**	**5.212**	**5.263**	**5.300**	**5.372**

Kaynak: FAO 2013

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre toplam kırmızı et üretimi 2016 yıllı IV. çeyrek döneminde, 271 bin ton olarak tahmin edilmiştir. Son çeyrekteki kırmızı et üretimi, kurban bayramını kapsayan bir önceki çeyreğine göre yüzde 31.4, bir önceki yılın aynı çeyreğine göre yüzde 8.8 oranında azalma görülmüştür. Toplam kırmızı et üretimi içinde sadece kesimhanelerde üretilen kırmızı et miktarı ise 107 bin ton olarak açıklanmıştır. Son çeyrekteki kırmızı et üretimi içinde sığır eti üretimi, yaklaşık 249 bin ton olarak tahmin edilmiştir. Sığır eti üretimi bir önceki çeyreğe göre yüzde 30.8, bir önceki yılın aynı çeyreğine göre ise yüzde 3.7 oranında azalmıştır. Koyun eti üretimi ise bir önceki çeyreğe göre yüzde 34.2, bir önceki yılın aynı çeyreğine göre yüzde 48 azalışla 15 bin ton olarak tahmin edilmiştir. Türkiye'nin toplam kırmızı et üretimi, geçen yıl bir önceki yıla göre yüzde 2.04 artışla 1 milyon 173 bin 42 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonim, 2017).

2.2. Çiftlik Hayvanlarında Markör Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection, MAS) Kullanımı

Hayvan yetiştiriciliğinde eldeki hayvanlardan olası en üstün verimin alınması hem genotipin geliştirilmesini hem de çevre şartlarının iyileştirilmesini gerektirmektedir. Bu amaçla seleksiyon ve bazı iyileştirme sistemleri kullanılmaktadır. Seleksiyon, bir popülasyon içerisinde istenilen karakterler yönünden üstün verim özellikleri taşıyanlara, taşımayanlara oranla daha fazla üreme fırsatı verilmesidir. Geleneksel olarak bu işlemler ele alınan karakter yönünden verim düzeylerine bakılarak yapılır. Ancak verim düzeylerine bakılarak yapılan seçimin başarılı olabilmesi için o karakterin kalıtım derecesinin (h^2), yüksek olması gereklidir. Kalıtım derecesi yüksek olması, çevrenin fenotipik varyasyon üzerindek etkisinin düşük olduğunu göstermektedir. Böylece ilgilenilen karaktere ait genler hakkında herhangi bir bilgi olmaksızın fenotipik değerlere bakılarak en üstün bireyler seçildiğinde, genotipik yönden de üstün özellikli bireyler seçilebilmektedir. Çevre etkisinin fenotipik varyasyon üzerinde büyük payı olduğu karakterlerde yani kalıtım derecesi düşük karakterlerde ise fenotipe bakarak seçim yapmak hem hatalı hem de zor olmaktadır. Kalıtım derecesi düşük, verim düzeyinin belirlenmesi pahalı olan, sadece ileri yaşlarda ölçümü yapılabilen ya da ölçümü güç olan karakterlerde (süt verimi, et kalitesi, hastalıklara direnç vb. gibi) seleksiyona cevabı arttırmada hayvanların performanslarına bakarak en iyi allelleri taşıyan hayvanları belirlemek sınırlı, hatta güçtür. Böyle durumlarda, moleküler genetik ile fenotipik verilere dayanan seleksiyonun beraber kullanılması seleksiyonun etkinliğini ve doğruluğunu arttırmaktadır. Bu seleksiyon modelinin adı Markör Destekli Seleksiyon'dur (Marker Assisted Selection, MAS) (Dekkers, 2004).

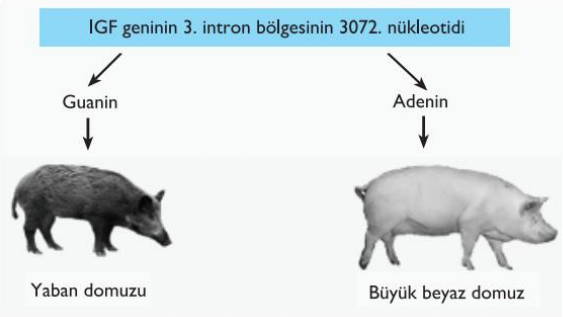
Markör kullanılarak kantitatif karakter lokusunun belirlenmesi analizlerinde, önce bir karakterin bilinen bir genetik belirtece bağlı olup olmadığı araştırılmaktadır. Çünkü kromozom üzerinde bir gen ile bir genetik markör birbirine ne kadar yakın konumdalarsa, sonraki nesillere birlikte aktarılma olasılıkları da o kadar yüksek olmaktadır. Başka bir deyişle, şekil 2.2'de verilen örnek ele alındığında markör yönünden M allelini taşıyan bireyler aynı zamanda istenilen karakterin de Q allelini taşıyor olacaklardır. Bir popülasyonda M allelini taşıyan bireylerin seçilimi yapıldığında o karakter yönünden de dolaylı seleksiyon yapılmış olacaktır. Buna bağlı olarak da ilgili gen bilinmese bile markör lokusu genotiplendirilerek dolaylı seleksiyon uygulanabilmektedir (David, 2005).

- - - - Q - - M - - - -
- - - - q - - m - - - -

Şekil 2.2. QTL allelleri (Q ve q) ile markör allellerinin (M ve m) bağlantı halinde olması

Markör Destekli Seleksiyon'da, DNA markörleri kantitatif karakterleri kodlayan genlerin yer aldığı kromozom bölgelerini işaret etmektedirler. Bu kromozomal bölgelere Kantitatif Karakter Lokusları (Quantitative Trait Loci, QTL) adı verilmektedir. QTL'ler, bir kantitatif karakterin ifade edilme derecesi üzerinde anlamlı etkileri bulunan lokuslardır. Verim karakterleri olarak da ifade edilen bu karakterlerin çoğu, her biri küçük etkilere sahip toplamalı birçok gen tarafından kontrol edilmektedirler. Diğer bir deyişle poligenik kalıtım görülmektedir. Ancak bazı genlerin karakter üzerine etkisi daha büyük olabilmektedir; böyle lokuslara da major genler adı verilmektedir. Çiftlik hayvanları içinde en çok QTL çalışması domuzlarla yapılmıştır. Moleküler markörlerin gelişimi ve ulaşılabilirliği domuz genom haritalarını oldukça zenginleştirmiştir. Ayrıca aralıkları 2-3 cM olan markörlerden oluşan bağlantı haritaları ve SNP panelleri ticari olarak erişilebilir durumdadır. Bu haritalar ve paneller sayesinde 1831 kantitatif karakter bölgesi saptanmıştır (Korstanje ve Paigen, 2002).

Domuzda moleküler düzeyde belirlenen QTL'lerden birisi büyüme ve farklılaşma faktörlerinden birisi olan IGF2 geninin 3. intron bölgesinde 3072. nükleotidde Guanin'den Adenin'e değişimdir (intron3, G3072A) ve kas kütlesinde artışa (şekil 2.3) neden olmaktadır.



Şekil 2.3. IGF2 geninde şekillenen mutasyona bağlı olarak ortaya çıkan fenotip

Domuzdan sonra en çok QTL belirleme çalışması yapılan tür olan sığırda ise süt üretimi ile ilgili olarak, genetik markörlerin kullanımı ile yapılan QTL çalışmalarında rol oynayan bazı lokuslar belirlense de bütün genler hala tam olarak bilinmemektedir. Ancak SNP ve mikrosatellit markörlerinin PCR kullanılarak tiplendirilmesinin keşfinden beri, çiftlik hayvanlarında süt verimi ve diğer verimlerin genetik çözümlemesinin sistematiği daha yapılabilir hale gelmiştir. Örneğin markör destekli seleksiyon yardımıyla, 14. kromozomun süt verimiyle ilişkili olduğu belirlenmiş ve daha sonra da bu kromozom üzerinde yer alan acylCoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) genindeki bir mutasyonun, 232. amino asit pozisyonunda Lizinden Alanine dönüşüme (K232A) neden olduğu ve oluşan varyantların süt yağ kompozisyonunu etkilediği ortaya konulmuştur. Mutasyon sonucu oluşan allel (232. aminoasit olarak alanin bulunduran allel) süt protein miktarı arttırırken, yağ oranında azalmaya sebep olmaktadır. Tavuklarda yapılan çalışmalarda da bazı kantitatif karakter lokusları belirlenmiştir. Bulunan kantitatif karakterler, diğer türlerde olduğu gibi daha çok verimle ilgili ve daha sonra da sağlıkla ilgili karakterlerdir. Vücut büyüklüğü ile ilgili olarak cinsiyete bağlı resesif cücelik, sıcağa karşı tolerans sağlayan çıplak boyunluluk, Leukosis virüs enfeksiyonlarına ve Marek hastalığına karşı genetik direncin kontrolü bunların önemlilerindendir (Reece, 2004)

Çiftlik hayvanları içinde diğerlerine oranla daha az çalışılan koyunlarda, et kalitesi ile ilgili olarak iki önemli QTL tam olarak aydınlatılmıştır. Bunlardan birisi Texel koyunlarında Myostatin genindeki bir mutasyondur [Texel MSTN, g +6723(GA) mutasyonu] ve kas kütlesinin artışına sebep olmaktadır. Koyunlarda et kalitesi ile ilgili bir diğer QTL de arka bacaklar ve sağrı bölgesindeki kaslarda kas yapısında değişikliğe yol açarak daha fazla et verimine sebep olan Callipyge genidir. Bu genin 18. kromozom üzerinde olduğu ve hangi mutasyonla bu fenotipi oluşturduğu belirlenmiş, ancak sadece babadan aktarıldığında karakterin ifade ediliyor olmasının (polar overdominans) sebebi çözülememiştir. Koyunlarda çoklu doğumla ilişkili 6. kromozomda Boorola mutasyonu (FecB); X kromozomu üzerinde bulunan ve homozigot olduğunda infertiliteye neden olan Inverdale (FecX) genleri verimle ilişkilendirilmiş başlıca QTL'lerdendir. PrP olarak bilinen prion proteinlerin sinir hücrelerinde birikimiyle şekillenen Scrapie hastalığına karşı duyarlılık ile ilgili olarak PrP geninde varyasyonlar ortaya konulmuştur. İngiltere ve Fransa gibi bazı ülkelerde Scrapie'ye dirençli hatlardan oluşan sürüler yetiştirilmektedir. Çiftlik hayvanlarında markörler yardımıyla belirlenmiş birçok QTL bulunmaktadır. Söz konusu karakterlerde klasik ıslah programlarıyla çok uzun

süreçler sonucunda elde edilebilecek genetik ilerlemenin, markörlerin ya da aday genlerin kullanımı ile bir veya birkaç nesilde elde edilmesi mümkün olmaktadır. Markör destekli seleksiyon sayesinde gelecekte hayvanlarda seleksiyon ve hastalıkların tedavisi konularında çarpıcı ilerlemeler olacağı düşünülmektedir (Freking ve ark., 2002).

2.2.1. Sığırlarda aday gen yaklaşımı

Çiftlik hayvanlarda ekonomik öneme sahip olan özelliklerin (et verimi, süt verimi, döl verimi, yapağı verimi, hastalıklara direnç ve canlı ağırlık artışı gibi) çoğu poligenik kalıtım gösteren hem genetik hem de çevre faktörlerinden etkilenen karakterler, kantitatif karakterler olarak isimlendirilir (Gürses ve Bayraktar, 2014).

Kantitatif karakterler süreklilik gösteren çok sayıda gen çifti tarafından kontrol edilmektedir. Kantitatif karakterleri kodlayan genlerin, kromozom üzerinde bulunduğu bölgelere ise kantitatif karakter lokusları (QTL) adı verilmektedir (Daş, 2015). Kantitatif karakterlerin tespitinde, geniş genom taraması (genome-wide scanning) ve aday gen yaklaşımı olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Aday genler, bir özellik ile ilişkili olduğu belirlenen genlerdir (Ekerljung, 2012).

Aday gen yaklaşımı, QTL'nin belirlenmesinde son derece önemli olup, gen bölgelerinin tespitinde ekonomik bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır (Zhu ve Zhao, 2007).

Günümüzde et verimi, süt verimi ve döl verimi ile çok sayıda aday gen bilinmektedir. Çizelge 2.5'te çeşitli araştırmacılar tarafından tespit edilmiş olan aday genlere örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.5. Sığırlarda çeşitli aday genler

Gen	Gen ismi	İlişkili olduğu özellik
AANAT	Arylalkylamine N-acetyltransferase	Et lezzeti, toplam yağ asidi, kasın kollajen içeriği ve omega-3 PUFA
CAPN1	Calpain - 1	Et yumuşaklığı
CAST	Calpastatin	Et yumuşaklığı, et sululuğu, etin su tutma kapasitesi, renk ve yağ asidi
CGGBP	CGG triplet repeatbinding protein 1	Çeşitli karkas özellikleri
CRH	Corticotrophinreleasing hormone	Büyüme ve karkas verimi
CSN3	Kappa-casein	Süt ve karkas özellikleri
HSPB1	Heat shock 27 kDa protein 1	Et yumuşaklığı
POMC	Pro-opiomelancortin	Büyüme ve karkas verimi
TG	Thyroglobuli	Et mermerleşmeşi
MSTN	Myostatin	Büyüme ve çift kaslılık
CD18	Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD)	Bakteriyel enfeksiyonu
LEP	Leptin	Et verimi ve süt verim
Myf5	Myogenic factor 5	Büyüme, karkas özellikleri ve kas gelişmesi
DGAT1	Diacylglycerol acyltransferase	Sütte yağ verimi, mermerleşme ve et sığırlarında fat thickness
PRL	Prolactin	Süt proteinleri
STAT5A	Signal transducer and activator of transcription 5A	Süt proteinleri
LTF	Lactotransferrin	Süt proteinleri ve Bakteriyel enfeksiyonu

2.3. Miyojenik Faktör 5 (Myf5)

Memelilerde kas oluşumu, embriyonik çok adımlı bir süreç olup miyojenik belirleme (MyoD) gen ailesi tarafından kontrol edilmektedir (Te Pas ve ark., 1999a). MyoD gen ailesi; MyoD1 (miyojenik farklılaşma 1), MyoG (miyojenin), Myf5 (Miyojenik faktör 5) ve Myf6 (Miyojenik Faktör 6) yapısal olarak dört genden olmak üzere oluşmaktadır. Bu genler; kas hücrelerinin belirlenmesinde rol oynayan basic helix-loop-helix (bHLH) proteinlerini kodlamaktadır (Bhuiyan ve ark., 2009). Myf5 ve Myf6 genleri, düz kasların (straight muscle) yenilenmesinde, büyümesinde ve fiziksel görünümünün sürdürülmesinde rol oynadıkları bildirilmiştir. Bu nedenle, büyüme ve et kalitesi özellikleri için aday genler olarak kabul edilmiştir. (Maak ve ark., 2006; Verner ve ark., 2007; Ujan ve ark., 2011a).

Myf5 ve MyoD1, miyoblastların çoğalması sırasında ifade edilirken, Miyojen (MyoG) geni ise kas hücrelerinin farklılaşması sırasında ifade edilmekte ve Myf6 esas olarak doğum sonrası dönemde ifade edilmektedir (Maak ve ark., 2006). Embriyo'nun gelişmesi sırasında Myf5 geninin iskelet kas hücresinin gelişmesine etki ettiği tespit edilmiştir (Sabourin ve Rudnicki, 2000).

Myf5 geni kas liflerinin oluşumunda ve kas spesifik genlerinin transkripsiyonunda önemli bir rol oynayan, kas düzenleyici faktörler (MRFs) ailesinin bir üyesi olup, et içi yağ seviyesine etki ettiği bildirilmiştir (Fujisawa-Sehara ve ark., 1990; te Pas ve ark., 2007; Verner ve ark., 2007; Wang ve ark., 2017).

Myf5 geni, 0 ila 30 cM (Centimorgan) arasında, sığırların 5. kromozomunda (BTA5q13) lokalize olmuştur. Bu bölgede büyüme özellikleriyle ilişkili olan bir QTL bölgesi bildirilmiştir (Li ve ark., 2002a). Sığırlarda, Myf5 geni 3236 bç uzunluğa sahip, 3 ekzon ve 2 introndan oluşmaktadır (Ujan ve ark., 2011a). Myf5 geninin sığırlarda doğum ağırlığı, günlük canlı ağırlık artışı, karkas ve et kalitesi ile yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple, Myf5 geni sığırlarda büyüme ve et kalite özellikleri için bir aday gen olarak kabul edilmektedir (Şahin ve Akyüz, 2017).

Myf5 geni, embriyonik miyogenez sırasında, kas gelişiminde rol oynayan bir çekirdek transkripsiyon faktörü olarak kabul edilmektedir. Myoblastlar Myf5 düzenlenmesi sırasında çoğalmaktadır (Park ve ark., 2015). Nakavt fare deneyleri üzerinde yapılan bir çalışmada, Myf5 ve MyoD1'in kas gelişimini etkiledikleri görülmüş olup, hem Myf5 hem de MyoD1'den yoksun olan fareler canlı olarak doğmuş, fakat doğumdan hemen sonra ölmüşlerdir (Zhang ve ark., 2007). Tatusova ve Madden (1999) yaptıkları çalışmada, Myf5'in özellikle kas farklılaşması aşamasında miyojenik süreçte yer aldıklarını ortaya çıkarmışlardır (Wang ve ark., 2017).

Myf5 geni et verimiyle ilişkilendirilmiş olup, hayvanlarda yağsız et içeriği, fileto ağırlığı ve kas yağ seviyeleri üzerinde önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (Te Pas ve ark., 2000; Verner ve ark., 2007). Myf5 gen polimorfizminin koyunlarda (Nattrass ve ark., 2006), sığırlarda (Seong ve ark., 2011; Ujan ve ark., 2011a; Ujan ve ark., 2011b), tavuklarda (Yin ve ark., 2011) ve balıklarda (Moghadam ve ark., 2007) büyüme ile ilişkili olduğunu ifade eden çalışmalar vardır. Son araştırmalara göre Myf5'in ekzon bölgesindeki SNP'ler, hayvanlardaki karkas ve et kalitesi özellikleriyle önemli ilişkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır (Hedayat-Evrigh ve ark., 2016). Ayrıca domuzlarda, yapılan çalışmalara göre, Myf5'in karkas özelliklerini etkilediği bildirilmektedir (Te Pas ve ark., 1999b; Cieslak ve ark., 2002; Liu ve ark., 2007; Wang ve ark., 2017). Bununla birlikte,

Nguyen ve Nguyen (2013), Vietnam Mong Cai domuzlarında Myf5 / *Hin1II* polimorfizminin et özellikleri ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu bildimişlerdir. Myf5 / *Hsp92II* polimorfizminin, kas içi yağ ve etin su içeriğindeki değişikliklerle ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Liu ve ark., 2008).

Myf5 genindeki polimorfizm ile çeşitli verim ve performans özellikleri arasında yapılan ilişki analizlerinde, söz konusu genin Kanada sığırlarında büyüme özellikleriyle (Li ve ark., 2004), Kore (Han woo) sığırlarında büyüme ve ortalama günlük canlı ağırlık artışıyla (Chung ve Kim, 2005), Qinchuan sığır ırkında büyüme özellikleriyle (Zhang ve ark., 2007) ve Kore (Han woo) sığırlarında büyüme ve karkas özellikleri (Bhuiyan ve ark., 2009) ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar vardır.

2.3.1. Myf5 geninde sığırlarla ilgili yapılmış çalışmalar

Li ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak *Bos taurus*'un ticari hatlarında Myf5'in iki SNP'i ile doğum ağırlığı (DA), sütten kesim öncesi ortalama günlük canlı ağırlık artışı (SKÖOGCA) ve yemden yararlanma oranı (YYO) arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Myf5'deki SNP'nin M1 hattında SKÖOGCA üzerinde önemli eklemeli genetik etkisinin olduğu ($P<0.01$) ve M3 hattında YYO üzerinde önemli eklemeli genetik etkinin olduğu ($P<0.01$) ve ayrıca M3 hattında önemli dominant etkiye sahip olduğunu ($P<0.01$) SNP ilişkilendirme analizi ile belirlemişlerdir. M1 ve M3 hatlarında SNP ile doğum ağırlığı arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir.

Chung ve Kim (2005) Kore sığırları üzerinde yaptıkları çalışmada, PCR-SSCP yöntemini kullanarak, Myf5 ve IGF1 gen polimorfizmini ve büyüme arasındaki ilişkilerini araştırmışlardır. Myf5 gen polimorfizm bakımından genotip (AA, AB ve BB) ve allel (A ve B) frekansları sırasıyla % 8.9, 48.9, 42.2 ve 0.33, 0.67 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada Myf5 gen polimorfizminin, 12. ay canlı ağırlığı ve ortalama günlük canlı ağırlık artışı üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir ($P <0.05$).

Zhang ve ark. (2007) PCR-RFLP yöntemini kullanarak üç Çin sığır ırkında (Nanyang, Qinchuan ve Jiaxian) MSTN ve Myf5 genlerinde bulunan polimorfizmlerin büyüme özellikleriyle ilişkisini değerlendirmişlerdir. Myf5 geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *Taq*I restriksiyon enzimi kullanarak 3 farklı genotip (AA, AB ve BB) elde etmişlerdir. Üç sığır ırkında allel (A ve B) ve genotip (AA, AB ve BB) frekansları sırasıyla; (A) 0.1725, 0.2419, 0.2477 - (B) 0.8275, 0.7581, 0.7523; (AA)

0.0400, 0.0430, 0.0360 – (AB) 0.2650, 0.3978, 0.4234 – (BB) 0.6950, 0.5592, 0.5406 olarak tespit edilmiştir. Nanyang ve Jiaxian sığır ırklarında Myf5 gen polimorfizmi ile büyüme özellikleri (canlı ağırlık, cidago yüksekliği, vücut uzunluğu endeksi ve kalp çevresi) arasında istatistiksel olarak ilişki bulunmamıştır. Ancak Qinchuan sığır ırkında Myf5 gen polimorfizmi ile cidago yüksekliği arasında ilişki belirlenmiştir ($P<0.05$).

Kısacova ve ark. (2009) PCR-RFLP yöntemini kullanarak, Macaristan'da yetiştirilmiş olan Şarole sığır ırkında Myf5 ve MSTN genlerinin Q204X mutasyonunu araştırmışlardır. Myf5 geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *TaqI* restriksiyon enzimi kullanarak 3 farklı genotip (AA, AB ve BB) elde etmişlerdir. Çalışmalarında genotip (AA, AB ve BB) ve allel (A ve B) frekansları sırasıyla 0.36, 0.48, 0.16 ve 0.60, 0.40 olarak belirlenmiştir.

Robakowska-Hyżorek ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada, Myf5 genin promotor bölgesindeki g.-723 G-T polimorfizminin Polonya Siyah Alaca sığırlarının et özellikleri ve *Longissimus Dorsi* (göz kası alanı) kaslarındaki genin transkript seviyesi üzerindeki etkiyi araştırmışlardır. Myf5 geninin 1. ekzonunda dört SNP belirlenerek bu mutasyonlar üç amino asit dizisini değiştirmiştir. Bu SNP'lerin dağılımı, sığır popülasyonlarında oldukça dağılım göstermiştir. Mutasyonların çoğu sadece birkaç sığırda bulunmuştur. Bu polimorfizmler, *M. longissimus dorsi* kasında Myf5 geni ifadesi üzerinde etki göstermiş olup, Siyah Alaca sığırların karkaslarında fileto ağırlığı ve yağ ağırlığı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Ujan ve ark. (2011a)'ları Myf5'in allel frekanslarını ve SNP'lerini yerli Çin sığır ırklarında, canlı ağırlık ve et özellikleri ile olan ilişkilerini değerlendirmişlerdir. PCR-SSCP yöntemi 526 bç'de bir T>A mutasyonun olduğunu göstermiştir. Ki-kare analiz sonucu, bu SNP'nin sırt yağ kalınlığı ve et yumuşaklığı ile önemli derecede ilişkili olduğunu ortaya koymuştur ($P<0.05$). Ancak canlı ağırlık, göz kası yüksekliği, göz kası alanı, kaburga alanı ve su tutma kapasitesi ile önemli bir ilişki bulunamamıştır. Jia Xian kırmızısı, Luxi, Nanyang, Qinchuan ve XiaNan ırklarında Myf5 A/B allel frekansları sırasıyla 0.760 / 0.239, 0.752 / 0.247, 0.629 / 0.370, 0.715 / 0.284 ve 0.750 / 0.250 olarak tespit edilmiştir. Luxi ve Qinchuan ırklarında genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Ancak Jia xian kırmızısı, Nanyang ve XiaNan ırklarında ise Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür.

Ujan ve ark. (2011b), üç yerli Çin sığır ırkında Myf5 gen polimorfizmini belirlemek için PCR-SSCP yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmalarında Myf5 geninin intron 1 bölgesinde SNP (tek nükleotid polimorfizm) g.1142 A>G'nin

değişikliğinden dolayı yeni bir yanlış anlamlı (mis-sense) mutasyonun bir amino asit değişikliğine (1142 Glutamine/Glisin 1142) neden olduğunu tespit etmişlerdir. Üç sığır ırkında Myf5 SNP'sinin allel frekansları, heterozigotluk, etkili allel sayısı ve polimorfizm bilgisi belirlenmiş ve $\chi 2$ testi ile değerlendirilmiştir. Irkların hepsinde genotip frekanslarının farklı olduğunu, Jia xian kırmızısı ve Nanyang sığırlarının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı ($P<0.01$), ancak Qinchuan ırkının Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir ($P>0.05$). Çalışmalarında ırkların A/G allelik frekansları sırasıyla 0.797 / 0.202, 0.770 / 0.229, 0.863 / 0.136 olarak tespit edilmiştir.

Seong ve ark. (2011) Hanwoo ve Angus sığır ırkları üzerinde yaptıkları çalışmada, PCR-SNP yöntemini kullanarak Myf5 genindeki SNP'ler ile verim özellikleri arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Myf5'in 2. intronunda (A1948G SNP) 2 SNP tanımlanmıştır. Myf5 gen polimorfizmi ile sırt bölgesi yağ kalınlığı ve canlı ağırlık arasında ilişki olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). İki sığır ırkında genotip (AA, AG ve GG) ve allel (A ve G) frekansları sırasıyla; (AA) 8.3-28.6, (AG) 36.3-45.7, (GG) 55.4-25.7; (A) 26.4-51.4, (B) 76.6-48.6 olarak tespit edilmiştir.

Curi ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak, Myf5, MSTN, IGF1 ve MYOD1 genlerinin tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) Nelore (Bos indicus) ve Nelore x Bos taurus sığır ırklarında karkas ve et özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Myf5 geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *TaqI* restriksiyon enzimi kullanarak üç farklı genotip (AA, AG ve GG) elde edilmiştir. G allel frekansı 0.097 ve A allel frekansı 0.031 olarak tespit edilmiştir.

Xing-ping ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, Xiangxi sığırlarında Myf5 geninin tek nükleotid polimorfizmini (SNP) tanımlamaya çalışmışlardır. Myf5 geninde intron 2 SNP'leri PCR ve sekans yöntemleri ile tespit edilmiştir. Araştırıcılar Xiangxi sığırının genetik polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi kullanarak ve genotipler ile vücut özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Myf5 geninin 2. intronunda 9 tane SNP tespit edilmiş ve SNP'lerin 7 tanesinin yeni oldukları görülmüştür. Myf5 geninin g.1948A>G lokusu için AA, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0.046, 0.235 ve 0.7189 iken A ve G allel frekansları sırasıyla 0.163 ve 0.8364 olarak tespit edilmiştir. Popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür ($P>0.05$). A allelinin, Xiangxi sığırlarında canlı ağırlık üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu ve Myf5 geninin canlı ağırlığı için moleküler markör olabileceği gösterilmiştir.

Nasr ve ark. (2016) PCR-RFLP yöntemini kullanarak, 100 baş Siyah Alaca boğada Myf5 gen polimorfizminin canlı ağırlık üzerine etkisini araştırmışlardır. Myf5

geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *TaqI* restriksiyon enzimi kullanarak üç farklı genotip (AA, AB ve BB) elde edilmiştir. Boğaların genotip (AA, AB ve BB) ve allel (A ve B) frekansları sırasıyla 0.20, 0.46, 0.34 ve 0.43, 0.57 olarak tespit edilmiştir. İstatistik analiz sonucunda, Myf5 genotipleri ile canlı ağırlık arasında çok önemli bir ilişki olduğu belirlenmiş ve AB genotipinin tercih edilmesini önermişlerdir ($P<0.01$).

Şahin ve Akyüz (2017) yaptıkları çalışmada, Türkiye'de yetiştirilen Simental, Holstein, İsviçre Esmeri, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Boz ırk sığırlarının Myf5 gen polimorfizminin PCR-RFLP metoduyla belirlenmesini amaçlamışlardır. Myf5 geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *TaqI* restriksiyon enzimi kullanarak üç farklı genotip (AA, AG ve GG) elde edilmiştir. Çalışmada incelenen ırklar içinde en yüksek AA genotip frekansı Doğu Anadolu Kırmızısında (0.20), en yüksek GG genotip frekansı Boz ırkında (0.53) ve en yüksek AG genotip frekansı ise İsviçre Esmer ırkında (0.53) görülmüştür. Myf5 geni yönünden incelenen ırklar arasında en yüksek A allel frekansı Doğu Anadolu Kırmızı ırkında (0.43), en yüksek G allel frekansı ise Boz ırkında (0.73) bulunmuştur. İncelenen beş sığır ırkının da Myf5 geni yönünden Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür.

2.3.2. Myf5 geninin diğer organizmalarla ilgili çalışmaları

Te Pas ve ark. (1999b) domuzlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 3 mikrosatellit ve 2 RFLP markörü kullanarak Myf5 geninin sekansını belirlemişlerdir. Domuzlar arasındaki farklılığı tespit edebilmek için HinfI enzimi kullanılmıştır. İstatistik olarak, Myf5 genindeki varyasyonlar ile doğum ağırlığı, büyüme oranı, kesim yaşındaki ağırlık, karkas eti ağırlığı ve sırt yağ kalınlığı arasında herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir. Ayrıca, çalışmada Myf5 geninin domuzlarda kas gelişimi üzerinde genetik bir ilişki göstermediğini bildirmişlerdir.

Shah ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, DNA sekans yöntemini kullanarak tek hörgüçlü develerde (*Camelus dromedarius*) Myf5 gen polimorfizminin tek nükleotid polimorfizmini (SNP) belirlemeye çalışmışlar ve CT (0.42), CC (0.33) ve TT (0.25) genotiplerini tespit etmişlerdir.

Liu ve ark. (2007), PCR-RFLP yöntemini kullanarak, MYF5 genotipleri ile et kalitesi özellikleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla saf ve melez domuz popülasyonlarında yeni Myf5 gen polimorfizmlerini tanımlamaya çalışmışlardır. İki SNP ile etin su kayıp oranı ($P<0.05$), etin su tutma kapasitesi ($P<0.05$), etin renk değeri

(P<0.05) mermerleşme skoru (P<0.01), kas içi yağ yüzdesi (P<0.01) ve etin su içeriği (P<0.01) arasında önemli ilişki olduğu bildirilmiştir.

Liu ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak 3 domuz ırkında (Large White, Landrace ve Meishan) Myf5 gen polimorfizmi ile et kalitesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışmalarında Myf5 genine ait üç farklı SNP belirlenmiştir. MYF5 1. ekzonda *Hsp92*II polimorfizminin Metiyonin>Lösin amino asit değişmesine neden olduğu ve bu değişimin kas içi yağ içeriği (P<0.05) ve etin su içeriği (P<0.001) ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Myf5 geni 2. ekzonda *Msp*I polimorfizmi ve 1. intronda *Hae*III polimorfizmi, *longissimus dorsi* (göz kası alanı) pH'sı ile önemli derecede ilişkili olduğu görülmüştür (P<0.05).

Kunhareang ve ark. (2009) tarafından, PCR-SSCP yöntemini kullanarak domuzlarda Myf5 genindeki polimorfizmi belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada iki kodlama bölgesi araştırılmıştır. Ekzon 1'de dört genotip ve ekzon 3'te üç genotip tespit edilmiştir. Ekzon 1'de saptanan 2 SNP'nin alanin/prolin amino asit değişmesine neden olduğunu ifade etmişlerdir.

Wu ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, PCR-SSCP yöntemini kullanarak Songliao beyaz kazlarda Myf5 gen polimorfizmleri ile verim özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışmalarında Myf5 genine ait 3 farklı genotip (AA, AB ve BB) elde edilmiş ve genotip ve allel frekansları sırasıyla 0.789, 0.132, 0.079 ve 0.829, 0.171 olarak tespit edilmiştir. Varyans analizi sonucunda, canlı ağırlığı, karkas ağırlığı, but ağırlığı, kanat ağırlığı ve kesim öncesi canlı ağırlık ile genotipler arasında önemli ilişkiler belirlenmiştir (P<0.05).

Genxi ve ark. (2014) tarafında, PCR-SSCP, RT-PCR ve sekans yöntemlerini kullanarak Jinghai sarı tavuklarda Myf5 geninin büyüme özellikleriyle olan ilişkisini araştırılmıştır. Araştırmada, Myf5 genine ait 3 farklı genotip (CC, CD ve DD) elde edilmiştir. Myf5 geninin CD genotipli bireylerin CC genotipli bireylerden, daha yüksek doğum ağırlığına sahip oldukları tespit edilmiştir (P< 0.05).

Tang ve ark. (2014) tarafından, PCR-SSCP ve SNP yöntemlerini kullanarak Myf5 genindeki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ile Jinghai sarı tavuklarının büyüme ve üreme özellikleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. H1H5'in 8. ve 12. haftalarda ağırlık üzerine önemli etkileri olduğu gösterilmiştir (P<0.05). H2H6'nın 12. ve 14. haftalarda ağırlık üzerine önemli etkileri görülmüştür (P<0.05). Üreme özelliklerinden H1H5'in ilk yumurtlamadaki canlı ağırlığı için H1H4 ve H2H4'e (P<0.05) ve H1H3'e (P<0.01) göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak, 300

günde H1H3'ün ortalama yumurta ağırlığı üzerine zayıf performans gösterdiği belirlenmiştir.

Hedayat-Evrigh ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada PCR-SSCP yöntemini kullanarak çift hörgüçlü develerde (*Camelus bactrianus*) Myf5 geninin 1. ekzonda varyasyonunu incelemişlerdir. Çalışmada saptanan varyasyonlar, serin/asparagine ve triptofan/dur kodonu amino asit değişikliklerine neden olmuştur. 1. ekzonda 4 farklı genotip (AA, BB, AB ve BA) elde edilmiştir. Genotip ve allel frekansları sırasıyla 0.31, 0.44, 0.17, 0.08 ve 0.68, 0.32 olarak tespit edilmiştir.

Park ve ark. (2015) PCR-RFLP yöntemini kullanarak üç farklı domuz ırkında ekonomik özellikler ile Myf5 geninin tek nükleotid polimorfizmi (SNP) arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Duroc domuz ırkında Myf5 gen polimorfizmi, günlük canlı ağırlık artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ($P<0.05$). Çalışmada 3 farklı genotip (AA, AB ve BB) elde edilmiştir. Genotip ve allel frekansları sırasıyla Duroc ırkında 80.6, 18.9 ve 0.5 ve 90.0-10.0; Landrace ırkında 97.7, 2.3 ve 0 ve 98.9-1.1; Yorkshire ırkında ise 66.9, 31.2 ve 1.94 ve 82.5 ve 17.5 olarak tespit edilmiştir.

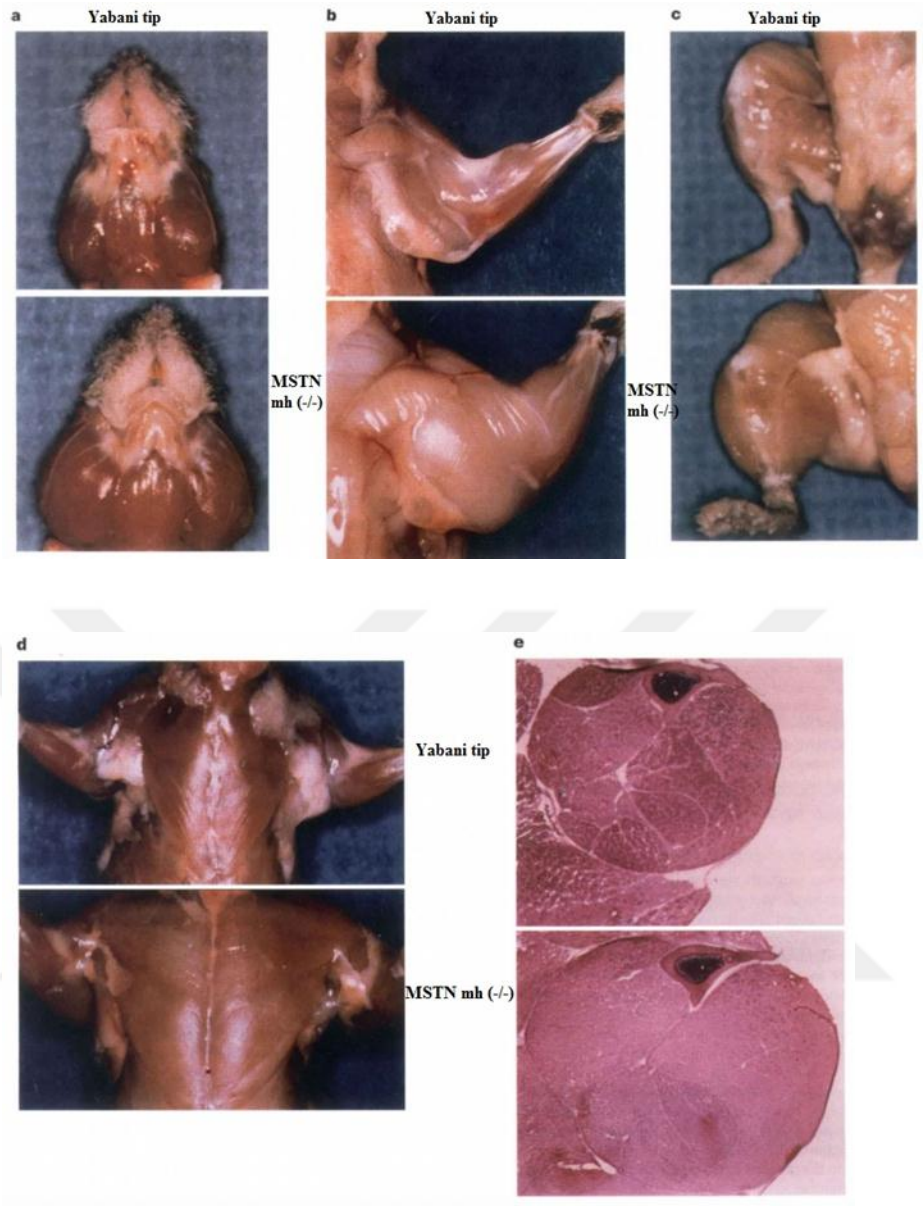
Yin ve ark. (2016) DNA sekans yöntemini kullanarak 60 dişi evcil güvercinde (*Columba livia*) Myf5 gen polimorfizmlerinin karkas özellikleri ile ilişkisini araştırmışlardır. Myf5'in 3. ekzonunda 5 SNP (T5067A, C5084T, C5101T, T5127A ve C5154G) belirlenmiştir. C5084T ve T5127A SNP genotiplerinin, güvercinlerin karkas özellikleriyle önemli derecede ilişkili olduğu belirlenmiştir. BB genotipinin karkas özelliklerinde, AA ve AB genotiplerine göre nispeten daha yüksek ilişkili bulunmuştur.

Wang ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada PCR ve DNA sekans yöntemlerini kullanarak, Ira ve Tianfu siyah ada tavşan ırklarında Myf5 genindeki polimorfizmlerin et kalitesine etkilerini araştırmışlardır. Ira tavşanlarında 6 SNP ve Tianfu siyah tavşanlarında ise sadece 2 SNP tespit edilmiştir. Ira ırkında SNP 1 ve SNP 6'nın sarılık ve kas içi yağ değerleri ile önemli bir ilişkiye sahip olduğunu ve ayrıca *longissimus dorsi* (göz kası alan) kasında kırmızılık üzerine önemli bir etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

2.4. Sığırlarda Çift Kaslılığın (Double Muscling) Tarihçesi

Çift kaslılık (double muscling) veya kasın aşırı büyümesi (muscular hypertrophy = mh) ilk olarak Durham sığırlarında bir İngiliz çiftçisi olan Culley (1807) tarafından bildirilmiştir. 1888 yılında Kaiser tarafından ise çift kaslılık çok daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır. 1929 yılında Wriedt çift kaslılık özelliğinin kalıtsal olduğunu ve çift kaslılığın fenotipik olarak monofaktöriyel özellikte olduğunu (yani tek bir gen tarafından belirlendiğini) öne sürmüştür. Daha sonra Kronacher (1934) Wriedt'in önerisini kabul etmeyerek, çift kaslılık fenotipinin trifaktöriyel olduğunu (yani üç gen tarafından belirlenmesi), ve bu iki genin kısmen çift kaslılık özelliğini değiştirdiğini belirleyerek, bir genin de çift kaslılık özelliğinin ifadesini veya bastırılmasını kontrol ettiğini bildirmiştir. Bir süre sonra, Quesada ve Cachafeiro (1971)'da çift kaslılık fenotipinin trifaktöriyel olduğunu öne sürmüşlerdir.

McPherron ve lee (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, Myostatin proteinini kodlayan geni, nakavt farelerde (geni devre dışı bırakmak) bulmuşlardır. Myostatin geninden yoksun olan farelerin normal farelere göre (şekil 2.2) iki kat daha fazla kaslı oldukları görülmüştür. Bu fareler daha sonra "güçlü fareler" olarak adlandırılmıştır. Bu keşfin ardından, birkaç laboratuvar, Belçika Mavisi ve Piedmontese sığır ırklarında Myostatin geninin nükleotid dizisini klonlamıştır. Her iki ırkta da Myostatin genini bastıran birçok mutasyon bulunmuştur (Grobet ve ark., 1997; Kambadur ve ark., 1997). Belçika Mavisinin Myostatin proteinini kodlayan geninde doğal mutasyonlar bulunmaktadır. Myostatin kas gelişimini sınırlayıcı etki gösteren bir proteindir. Bu mutasyon aynı zamanda yağ depolanmasını etkilediği için bu tür sığırların etleri oldukça yağsız olur. Belçika Mavisi ve Piedmontese sığır ırkları daha az kemik, daha az yağ ve % 20'den daha fazla kasa sahip olup, yemden yararlanma oranı ise diğer sığırlara göre daha yüksektir (De Smet, 2004). Ancak bu sığırların üreme ile ilgili problemleri vardır. Yeni doğan buzağının çok büyük olmasından dolayı sezaryen operasyonu bu tür için rutin olarak yapılmaktadır (Cheville, 1999).



Şekil 2.2. Yabani tip allel taşıyan ve mutasyona uğrayan fareler

Hanset (1991) yaptığı çalışmada, çift kaslılığa sahip olan buzağıların gebelik sürelerinin daha uzun olduğunu ve normal buzağılara göre daha yüksek doğum ağırlığına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu doğumlara yardım edilmediğinde doğum zorlukları oluşmakta ve ölümler meydana gelmektedir. Sığır pelvisinin yüksek kaslanmasından dolayı zor doğuma neden olmaktadır (Wiener ve ark., 2002). Çift kaslılık (mh) bakımından heterozigot (mh+/-) olan hayvanlar, yabani tip allele sahip hayvanlardan daha büyüktür ve homozigot (mh-/-) mutant hayvanlarda ortaya çıkan aynı doğum zorluklarına maruz kalmamaktadırlar. Çift kaslılık bakımından homozigot olan bir ineğin yardım almadan doğum yapma şansı çok azdır. Ancak heterezigot

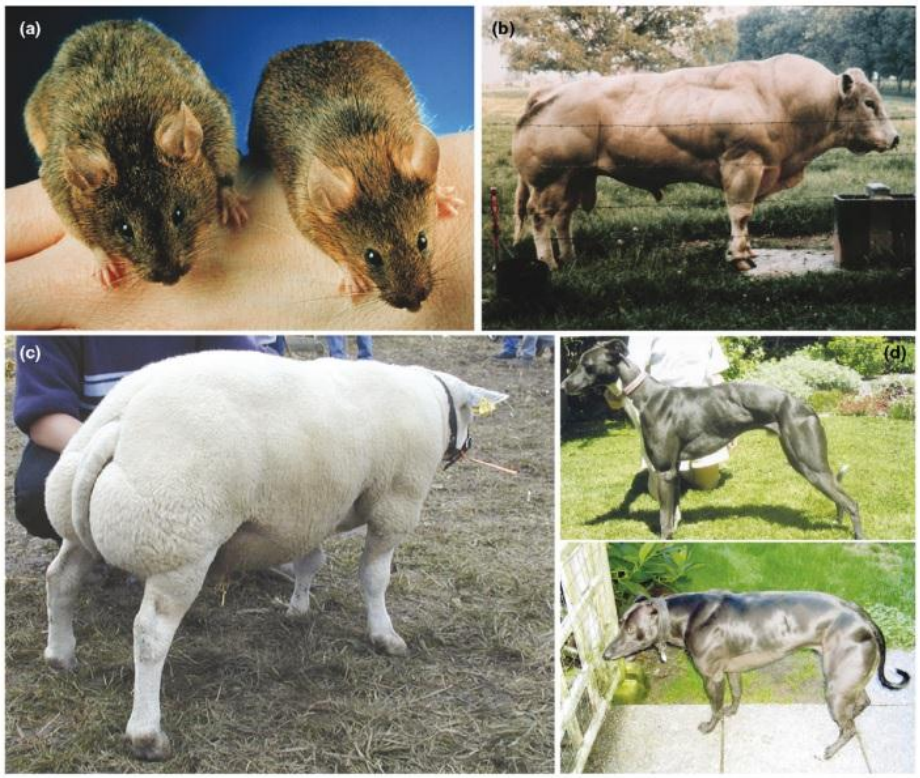
ineklerde böyle bir durum yaşanmamaktadır. Bu problemler çift kaslı hayvanların bakım maliyetini yükseltmektedir (Bellinge ve ark., 2005).

2.4.1. Myostatin (GDF-8)

GDF-8 (Growth Differentiation Factor-8) olarak ta bilinen Myostatin ("myo" kas ve "statin" dur anlamında) kas gelişimini inhibe eden bir proteindir. Myostatin proteini, kas dokusunda ifade edilen myostatin geni (MSTN) tarafından kodlanmaktadır. Myostatin geni inaktif olduğunda iskelet kas kütlesinde % 20 civarında bir artış oluşmaktadır (Grobet ve ark., 1997).

Myostatin, hem doğum öncesi hem de doğum sonrası miyoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenleyen süreçte yer almaktadır (Kambadur ve ark., 1997).

TGF-B (Transforming Growth Factor-B) embriyo gelişiminin düzenlenmesi ve doku homestazisinin sürdürülmesi ile ilgili olan birçok hücre dışı büyüme ve farklılaştırma faktöründen oluşan bu ailenin bir üyesidir. Myostatin genindeki (MSTN) mutasyonlar çeşitli memeli türlerinde çift kaslılık fenotipi ile ilişkilendirilmiştir(şekil 2.3). Bunlar; fare (McPherron ve ark., 1997b), sığır (Kambadur ve ark., 1997; McPherron ve Lee, 1997a), insan (Schuelke ve ark., 2004; Saunders ve ark., 2006), köpek (Mosher ve ark., 2007), domuz (Jiang ve ark., 2001; Jiang ve ark., 2002; Li ve ark., 2002b; Stinckens ve ark., 2005; Guimaraes ve ark., 2007; Stinckens ve ark., 2008), koyun (Clop ve ark., 2006; Kijas ve ark., 2007; Boman ve ark., 2009; Boman ve ark., 2010; Hickford ve ark., 2010; Robakowska-Hyżorek ve ark., 2010) ve balık (Chisada ve ark., 2011) olarak örneklendirilebilir.



Şekil 2.3. Çeşitli memeli türlerinde çift kaslılık görünümü

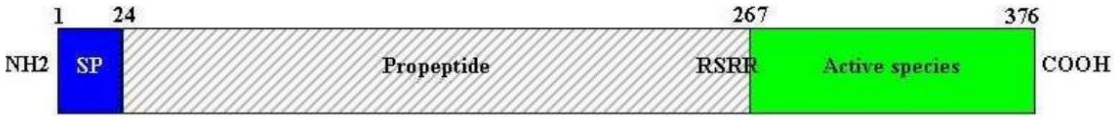
2.4.1.1. Myostatin geninin yapısı

MSTN geni sığırlarda (Bos taurus) 2. otozomal kromozomun (BTA2) 2q11-q12 ucunda bulunur ve BTA2: 6531089-6539265 arası bölgeyi kapsamaktadır. MSTN geni 6.2 kbç büyüklükte ve 1128 bç uzunluğundaki bölgeyi kodlamakta olup, 3 ekzon ve 2 introndan oluşmaktadır. 1. ekzon 506 bç bölgeyi ve 2. ekzon 374 bç bölgeyi içermektedir (O'Rourke, 2010). Jeanplong ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada, 3. ekzonda, 1701 bç, 1812 bç ve 1887 bç'lik değişik uzunluklardan oluşan üç bölge tespit edilmiştir.

2.4.1.2. Myostatin geninin işlevi

MSTN, iskelet kası gelişiminin ve büyümesinin negatif etkili bir düzenleyicisi olarak görev yapmaktadır. Ekspresyon edildiği dokuyu negatif olarak düzenleyerek dokudaki hücrelerin bölünmesini engellemektedir. MSTN'nin işlevine yönelik kanıtlar, C-terminal bölgesini şifreleyen bölgesinin silinmesini (deletion) taşıyan farelerde gösterilmiştir. İşlevsel MSTN'nin olmaması durumunda, iskelet kas kütlesinde büyük ve yaygın artışlar gözlenmiştir. Sığırlar, koyunlar, köpekler ve insanlarda çift kaslanmaya neden olan doğal olarak ortaya çıkan mutasyonlar, MSTN'nin kas gelişmesi

ve büyümesinde oynadığı çok önemli rolle ilgili daha ileri kanıtlardır. Ayrıca HIV (Human Immunodeficiency Virus/İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü) hastalarındaki kas atrofisi MSTN'nin serum ve kas içi konsantrasyonlarındaki artışı ile bağlantılıdır. MSTN, biyolojik olarak inaktif olmayan öncü protein (376 amino asit) olarak sentezlenmekte, sinyal peptidi, propeptit (N-terminusu) ve C-terminal bölgesi olarak 3 alandan oluşmaktadır. Sinyal peptid (SP) bölgesi 1-24 amino asitlik bölgeyi kapsamakta (şekil 2.4), propeptid bölgesi ise 25-267 amino asitlik bölgeyi kapsamakta olup aktif C-terminal alanı ise 268-376 amino asitten oluşmaktadır (O'Rourke, 2010).



Şekil 2.4. MSTN protein yapısı

2.4.1.3. Myostatin geninde saptanan mutasyonlar

MSTN gen dizisi içerisinde bulunan ve MSTN geni inaktive ederek kas hipertrofisine neden olan yedi tanımlanmış mutasyon bulunmaktadır (Grobet ve ark., 1997; Kambadur ve ark., 1997; McPherron ve Lee, 1997a; Grobet ve ark., 1998). Birincisi (7 nükleotidin silinmesi ve 10 nükleotid eklenmesi), ekzon 2'de 419. nükleotitde bulunur ve nt419: del7ins10 olarak adlandırılır (şekil 2.5). Transkriptin erken kesilmesi MSTN'nin propeptid bölgesinde meydana gelmektedir. Bu mutasyon ilk olarak Maine-Anjou sığırlarında bildirilmiş olup, diğer Avrupa sığır ırklarında düşük frekansta bulunmuştur (Grobet ve ark., 1998; Dunner ve ark., 2003).

İkincisi, ekzon 3'un 821. nükleotidindeki 11 bç'lik bir silinme gerçekleşerek 821-del11 olarak adlandırılır. Bu transkriptin erken kesilmesi, MSTN'nin kritik karboksi ucunu ortadan kaldırmaktadır. Bu mutasyon Belçika Mavisi sığırlarda sıkça görülmektedir. Ancak orta derecede Angus, Santa Gertrudis, Braford, Square Meater ve Santa Gertrudis ırklarında da tespit edilmiştir (Grobet ve ark., 1998; Smith ve ark., 2000; Dunner ve ark., 2003; Gill ve ark., 2009; O'Rourke, 2010). Çift kaslanmaya neden olan mutasyonların üç tanesi anlamsız (non-sense) mutasyonlardır. Q204X ve E226X mutasyonları ekzon 2'de 610 ve 676. nükleotidlerinde bulunmaktadır. MSTN'in propeptid bölgesindeki transkripti kesmektedir. Q204X mutasyonu çoğunlukla Şarole

sığırlarıyla ilişkilidir ancak diğer ırklarda da tanımlanmıştır. E226X mutasyonu Maine-Anjou ve Parthenaise sığırlarında tespit edilmiştir.

Üçüncü non-sense mutasyonu (E291X) ekzon 3'te 874. nükleotidinde bulunur ve C terminal bölgesini kesmektedir. Bu mutasyon sadece Marchigiana sığırlarında bildirilmiştir. Sığırlarda çift kaslanmaya neden olan diğer bir mutasyon, ekzon 3'deki 938. nükleotidte bir yanlış anlamalı (mis-sense) mutasyona sebep olup, bir amino asitin yer değişmesine yol açmakta ve C313Y olarak adlandırılmaktadır. C terminalindeki kritik bir sistein kalıntısını silen bu mutasyon, Piedmontese, Gasconne ve Limousin sığırlarında bildirilmiştir. Başka bir MSTN yanlış anlamalı mutasyonu, son zamanlarda Limuzin sığırlarında tanımlanmıştır.

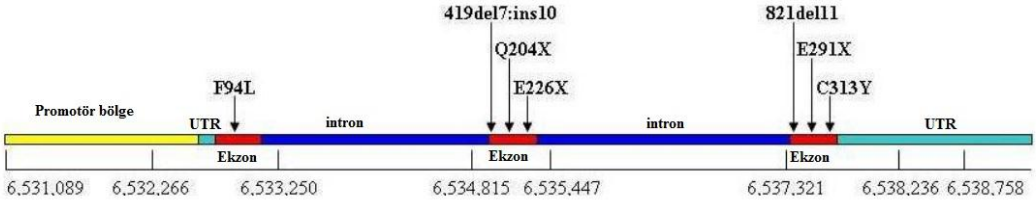
Grobet ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, 10 Avrupa sığır ırkında, Myostatin geninin intron ve kodlayıcı bölgelerinde, en belirgin olarak ekzon 1'in 282. nükleotidinde F94L olarak bilinen C ile A transversiyon sonucu bir mutasyon tespit edilmiştir. 94 nolu amino asit pozisyonunda lösin ile fenilalanin arasında yer değişimi görülmüştür.

Miranda ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada, ekzon 1 ve 2'de 2 anlamsız mutasyon tespit edilmiş ve S105C ve D182N olarak adlandırılmıştır. Ayrıca Grobet ve ark. (1998), Limousin ve Blonde d'Aquitaine ırklarının MSTN geninde tanımlanamayan mutasyonlar olduğunu belirtmişlerdir. Çoğu Limousin'lerin F94L mutasyonu bakımında homozigot olduklarını, ancak bu mutasyonunun MSTN geninin fonksiyon kaybına neden olmadığını belirlemişlerdir. Bu, belki de MSTN kodlama bölgesinin dışında bulunan kas hipertrofisine yol açan henüz tanımlanmamış faktörlerin olduğunu göstermektedir (Bellinge ve ark., 2005).

Texel koyunlarında kaslanmanın artması, MSTN'nin 3'UTR (Untranslated region-çevrilmeyen bölgeler) bölgesindeki bir polimorfizmden kaynaklanmaktadır. Bu polimorfizm yanlış mikroRNA bölgesi oluşturmaktadır (Clop ve ark., 2006). Ayrıca mutasyon, fonksiyonel MSTN eksikliğine neden olmaktadır. Son zamanlarda, karkas yapısını ve yağ oranını etkileyen çerçeve kayması mutasyonu Beyaz Norveç koyununun MSTN'sinde bulunmuş ve Romney koyunlarındaki karkas özelliklerinin MSTN geninin polimorfizmleri ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Tazı köpeklerinde, MSTN'nin kodlama bölgesinde 2 bç delesyonundan dolayı çift kaslanmaya yol açmaktadır (Mosher ve ark., 2007). Olağanüstü kaslılık teşhisi konulan bir çocuğun, Myostatin geninde işlev kaybı mutasyonuna (missplicing) ve kodlanmayan bir bölgeye sahip olduğu tespit edilmiştir (Schuelke ve ark., 2004).

Myostatin inaktivasyonu insanlar, fareler ve sığırlarda da benzer etkilere sahiptir. Böylece memeli türlerinde MSTN'nin ortak bir biyolojik role sahip olduğu ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2.5. MSTN geninde saptanan mutasyonlar

Çizelge 2.6. Farklı sığır ırklarında MSTN genine ait saptanan mutasyon türleri

Genin mutasyon tipi	**Myostatin proteininde değişiklik**	**Sığır ırkları**
nt419 (del7-ins10) 7 nükleotidin silinmesi ve 10 nükleotid eklenmesi	Erken bir STOP kodonuna bağlı olarak proteinin parçalanması	Maine-Anjou
Q204X C→T değişimi (610.nükleotid)	Erken bir STOP kodonuna bağlı olarak proteinin parçalanması	Charolais-Limousin
E226X G→T transversiyonu (676.nükleotid)	Erken bir STOP kodonuna bağlı olarak proteinin parçalanması	Maine-Anjou Speckle Park (2016)
nt821(del11) 11 bç delesyonu (821.nükleotid)	Erken bir STOP kodonuna bağlı olarak proteinin parçalanması	Belgian Blue Blonde d'Aquitaine Limousin South Devon Angus (2011) Speckle Park (2015)
C313Y G → A değişimi (938.nükleotid)	Sistein ile tirozin arasında oluşan yer değişim nedeniyle	Piedmontese
E291X G→T transversiyonu (874.nükleotid)	Erken bir STOP kodonuna bağlı olarak proteinin parçalanması	Marchigiana
F94l C→A transversiyonu	94 nolu amino asit pozisyonunda lösin ile fenilalanin arasında yer değişimi	Limousin

2.4.1.4. Sığırlarda MSTN geni ile ilgili çalışmalar

Zhang ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, üç Çin sığır ırkında (Nanyang, Qinchuan ve Jiaxian) MSTN geninde bulunan polimorfizmlerin büyüme özellikleriyle ilişkisi değerlendirilmiştir. Jiaxian popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiş olup, BB genotipine sahip sadece bir homozigot birey gözlemlenmiştir. MSTN geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *DraI* restriksiyon enzimi kullanılarak üç farklı genotip (AA, AB ve BB) elde edilmiştir. Üç sığır ırkında genotip (AA, AB ve BB) ve allel (A ve B) frekansları sırasıyla; 0.91, 0.090, 0.000 - 0.95, 0.045; 0.94, 0.05, 0.000 - 0.97 - 0.02; 0.93, 0.05, 0.009 – 0.96, 0.037 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, MSTN'in sığırlarda büyüme özelliklerini etkileyen güçlü bir aday gen olduğuna işaret etmiştir.

Kısacova ve ark. (2009) PCR-RFLP yöntemini kullanarak, Macaristan'da yetiştirilmiş olan Şarole sığır ırkında Myf5 ve MSTN genlerinin Q204X mutasyonunu araştırmışlardır. MSTN gen polimorfzimini tespit edebilmek için *Fnu4H* restriksiyon enzimini kullanarak iki genotip belirlemişlerdir (AB ve BB). Genotip (AB ve BB) ve allel (A ve B) frekansları sırasıyla; (AB) 10, (BB) 90 – (A) 5, (B) 95 olarak tespit edilmiştir.

Öz (2009) tarafından yapılan çalışmada, Boz Irkı, Yerli Kara, Kilis Irkı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Sarı ve Siyah Alaca sığırları üzerinde Myostatin geninin ekzon III bölgesi nt821del11 ve G-A transversiyon mutasyonu incelenmiştir. incelenen sığırlarda Myostatin genine ait ekzon III bölgesinde herhangi bir nt821del11 ve G-A mutasyonuna rastlanılmamıştır.

Han ve ark. (2012), PCR-RFLP yöntemini kullanarak, Kore'nin yerli ve melez sığır (Jeju Black cattle, Hanwoo ve Siyah Alaca) ırklarında MSTN geninin bir promoter (g.2371T>A) bölgesinin polimorfzimini ve karkas özellikleriyle ilişkisini incelemişlerdir. *DraI* restriksiyon enzimini kullanarak üç genotip (AA, AT ve TT) elde edilmiştir. Genotipler ve karkas özellikleri arasında önemli ilişkiler bulunmuştur ($P<0.05$). Genotip (AA, AT ve TT) ve allel (A ve T) frekansları Jeju Black cattle, Hanwoo ve Siyah Alaca sığır ırklarında sırasıyla; (AA) 0.63, 0.016, 0.001 – (AT) 0.31, 0.21, 0.053 – (TT) 0.6, 0.77; (A) 0.21, 0.12, 0.28 – (T) 0.78, 0.87, 0.97 olarak belirlenmiştir.

Şahin ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada, Bursa'nın Karacabey ilçesinde yetiştirilen 136 baş Siyah Alaca ve Esmer sığırda bazı verim özellikleri ile ilişkili

oldukları düşünülen Kalpain (CAPN1), östrojen reseptör α (ERα), Prolaktin (PRL) ve Miyostatin (MSTN) genlerindeki polimorfizmler PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Hem Siyah Alaca hem de Esmer sığır ırkı MSTN geni bakımından monomorfik bulunmuştur.

Ağaoğlu ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, Zavot, Yerli Kara, Güney Anadolu Kırmızısı, Boz Irk ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırkı sığırlarda; CAST, TG, SPP1, MSTN ve CAPN1 genlerinin DNA polimorfizmleri değerlendirilmiştir. Genotiplerin belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. MSTN geni monomorfik olarak bulunmuştur.

Nasr ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak 100 Siyah Alaca buzağıda GH ve MSTN gen polimorfizmleri ile vücut ağırlık ilişkilerini incelemişlerdir. MSTN geninin polimorfizmini tespit edebilmek için *DraI* restriksiyon enzimi kullanarak monomorfik homozigot (AA) genotip elde edilmiştir.

Agrawal ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak Kankrej sığır ırkında MSTN genini karakterize etmişlerdir. *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanarak monomorfik genotipler tespit edilmiştir.

Nugroho ve ark. (2017) PCR-RFLP yöntemini kullanarak Bali sığır ırkında MSTN gen polimorfzimi ile büyüme özellikleri (doğum ağırlığı (kg), sütten kesim ağırlığı (kg), göğüs çevresi (cm), vücut uzunluğu (cm), vücut yükseklik (cm) arasındaki ilişkileri değerlendirmişlerdir. *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanılarak 2 genotip (AB ve BB) belirlenmiştir. Genotip (AB ve BB) ve allel (A ve B) frekansları sırasıyla; (AB) 0.89, (BB) 0.10, (A) 0.55, (B) 0.45 olarak tespit edilmiştir. AB ve BB genotip ile büyüme özellikleri arasında ilişki olduğu bulunmuştur.

2.4.1.5. Koyunlarda MSTN genle ilgili çalışmalar

Dehnavi ve ark. (2012) PCR-RFLP yöntemini kullanarak Zel koyun ırkında MSTN gen polimorfizmi ile yıllık büyüme arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. *HaeII* restriksiyon enzimi kullanılarak üç ayrı genotip belirlenmiştir (AA, AB ve BB). Allel (A ve B) frekansları 0.75 4 (A) (B) 0.25 olarak tespit edilmiştir. MSTN gen polimorfizmi ile yıllık büyüme arasındaki herhangi bir ilişki bulunmamıştır.

Othman ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak Mısır'da yetiştirilen yerli koyun ve keçi ırklarında Myostatin ve Callipyge

genlerinin genetik karakterizasyonu incelenmiştir. *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanılarak incelenen tüm ırklarda monomorfik genotip belirlenmiştir.

Bozhılova ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak Bulgaristan'da yetiştirmekte olan Karakachan koyunlarda MSTN gen polimorfzmini incelemişlerdir. *HaeIII* restriksiyon enzimi kullanılarak monomorfik genotipler elde edilmiştir.

Sahu ve ark. (2017) PCR-RFLP yöntemini kullanarak Hint koyun ırklarında MSTN geninin polimorfizmi ile büyüme özellikleri arasındaki ilişkiyi çalışmışlardır. *MspI* restriksiyon enzimi kullanılarak iki farklı genotip (MM ve MN) belirlenmiştir. Genotip (MM ve MN) ve allel (M ve N) frekansları sırasıyla 0.417, 0.583 ve 0.70, 0.30 olarak tespit edilmiştir.

2.5. Kalpastatin

Et yumuşaklığı, tüketici memnuniyeti için en önemli faktörlerden birisidir. Kesim sonrası etin yumuşaklığı bir kaç faktörden etkilenmektedir. Bunlardan bazıları; hayvanın kesim öncesi metabolik durumu, genetik yapısı, kas proteinleri ve çevresel faktörlerdir. Kesim sonrası etin yumuşamasında birkaç önemli etkenden birisi de kesim sonrası kas proteinlerindeki proteolizin seviyesidir. Kalpain sistemi, protein yıkımının düzenlenmesi, miyoblast göçü, normal iskelet kas gelişimi ve büyüme gibi çeşitli fizyolojik olaylara etki etmektedir. Kalpain sistemi üç molekülden oluşmaktadır. Bunlardan ikisi kas hücrelerinde tespit edilmiş hücre içi kalsiyuma bağımlı proteolitik enzimler olan μ-kalpain ve m-kalpain, üçüncüsü ise kalpain etkisini inhibe edici özellikte endojen bir protein olan kalpastatindir (Balcıoğlu ve ark., 2013).

Kalpastatin (CAST), tüm memeli hücrelerinde bulunan ve kalsiyuma bağımlı bir proteinaz olan μ-kalpain'in spesifik bir inhibitörüdür (Kök ve ark., 2013). Kalpastatin ismi, Takashi Murachi tarafından 1979 yılında önerilmiş olup, m-kalpainin saflaştırma işlemi sırasında belirlenmiştir (Ekerljung, 2012).

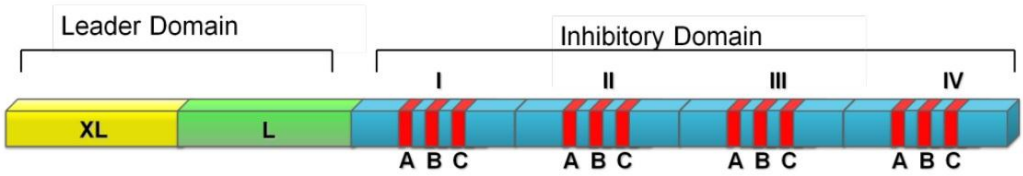
Kalpastatin kas proteininin yıkımını engellemektedir. Kas büyümesi ve et yumuşaklığı ile ilişkili bir aday gendir. Birçok çalışma, CAST geninin Longissimus kas alanı, mermerleşme derecesi, yağ derecesi, karkas ağırlığı, sırt yağ kalınlığı, su içeriği, pH, su tutma kapasitesi, et yumuşaklığı gibi karkas ve et kalitesi özellikleri ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. CAST genindeki çalışmaların çoğu Bos taurus (sığır) ve Bos indicus (zebu) sığırlarında gerçekleştirilmiştir (Putri ve ark., 2015).

Sığır CAST geni, 117.8 cM pozisyonunda 7. kromozom (BTA7) üzerinde bulunmakta olup, et yumuşaklığı bakımından güçlü bir aday gen olarak kabul edilmektedir. CAST geni, tanımlanmış beş farklı alana sahip olan sığır iskelet kasında sekanslanmıştır (Edyta ve ark., 2004).

Sekanslama yoluyla sığırlarda yapılan son çalışmalar, 130 kb'lık kalpastatin geninin genomik DNA'sı 35 ekzon içermektedir. Bishop ve ark. (1993) *TaqI*, *BamHI* ve *EcoRI* kesim enzimlerini kullanarak sığır CAST lokusunun RFLP polimorfizmini belirlemişlerdir. Chung ve ark. (1999)'ları, L ve I alanlarını kodlayan bölgede genetik varyasyon tespit edip, sığır CAST geninin 1C/1D bölgelerinde üç farklı SSCP paterni tanımlamışlardır. Ancak, Killefer ve Koohmaraie (1994), sığır CAST geninin L ve I alanlarını kodlayan cDNA'dan üretilen fragmanı prob gibi kullanarak polimorfizmi belirlemeye çalışmışlar, ancak herhangi bir polimorfizm tespit edememişlerdir.

Lonergan ve ark. (1995) CAST geninin 2, 3, 4 ve 3'UTR alanlarını kodlayan bir 2.2 kb'lık cDNA probu kullanarak, *BamHI* ve *EcoRI* PCR-RFLP polimorfizmi tespit etmişlerdir. Chung ve ark. (2001)'ları, *XmnI* enzimini kullanarak 6. intron'da DNA polimorfizmi belirlemişlerdir (Edyta ve ark., 2004). Birçok çalışmada, CAST geninde SNP ile et yumuşaklığı arasında bir ilişki bulunmuştur (Casas ve ark., 2006; Schenkel ve ark., 2006). Bununla birlikte, CAST geni ile et yumuşaklığı arasında bir ilişkinin bulunmadığını bildiren çalışmalar da vardır (Lonergan ve ark., 1995; Chung ve ark., 2001; Leveau, 2008).

Kalpastatin proteini, lider ve inhibitör alanlarından oluşmaktadır (şekil 2.6). Lider alanı XL ve L bölgelerini içermekte olup, L bölgesi NH_2-terminal alanı olarak ta adlandırılır. Bunun kalpainleri baskılama üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. XL bölgesi ilk olarak sığır kalp kası üzerine yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. İnhibitör alanı ise, I, II, III ve IV olarak isimlendirilen dört alandan müteşekkil olup, kalpaini baskıladıkları belirlenmiştir. Bu dört alan oldukça homolog (23-36%) olup, üç (A, B ve C) alt bölgeden oluşmaktadır (Wendt ve ark., 2004; Abd Manap, 2012; Ata, 2012). Kalpastatinin molekül büyüklüğü 68 ile 78 kDA arasında değişmektedir. Protein büyüklüğündeki bu değişim, L alanının uzunluğuna bağlıdır. Bununla birlikte, kalpastatin SDS-PAGE' tabi tutulduğunda 107 kDA ile 172 kDA arasında görülmektedir (Abd Manap, 2012).



Şekil 2.5. Kalpastatin gen yapısı

2.5.1. Sığırlarda Kalpastatin geni ile ilgili yapılmış çalışmalar

Majidi ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, Nelore sığır ırkında PCR-RFLP yöntemini kullanarak Kalpastatin gen polimorfizmini belirlemeye çalışmışlardır. XmnI restriksiyon enzimi kullanılarak üç farklı genotip (AA, AB ve BB) belirlenmiştir. A ve B allel frekansları sırasıyla 0.42 ve 0.58 olarak bulunmuştur. AA, AB ve BB genotip frekansları ise sırasıyla 12.2, 58.53 ve 29.27 olarak tespit edilmiştir.

Li ve ark. (2010)'ları, Çin'de yetiştirilmekte olan ticari sığır sürülerinde CAST genindeki SNP'leri araştırmak ve SNP, et yumuşaklığı, karkas ve et kalitesi özellikleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Araştırıcılar, CAST geninde 2959 (A/G), 2870 (G/A), 3088 (C/T), 3029 (G/A) ve 2857 (C/T) pozisyonlarında beş SNP tespit etmişlerdir. SNP 2959 ve SNP 2870'in allel frekansları sırasıyla, 0.701 (A) ve 0.462 (A) olarak bulunmuştur. SNP 2959 ve SNP 2870'in, Warner-Bratzler kesme kuvveti ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$).

Savaşçı (2014) yaptığı çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak Yerli Kara, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Boz Irkta et kalite özellikleri üzerine etkili olan kalpastatin ve thyroglobulin gen polimorfizlerini araştırmıştır. Polimorfizleri belirlemek için *RsaI* restriksiyon enzimi kullanarak üç farklı genotip (CC, CG ve GG) elde edilmiştir. Kalpastatin geni için; CC, CG ve GG genotip frekansları sırasıyla 0.45, 0.47 ve 0.08 olarak gözlenmiştir. Genel hayvan grubu içinde genotipik frekansının farkının önemli olduğu tespit edilmiştir. Tüm popülasyonlarda C allelinin frekansı (p), G allelinin frekansından (q) yüksek bulunmuştur. İncelenen üç ırkın genelinde ortalama p allel frekansı 0.67 ve q allel frekansı 0.33 olarak bulunmuştur.

Putri ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak Bali sığır ırkında kalpastatin geni ile büyüme ve karkas özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. *AluI* restriksiyon enzimi kullanarak iki genotip (GG ve AG) elde edilmiştir. G ve A allel frekansları 0.85 ve 0.15 olarak bulunmuştur. GG ve AG

genotipler ile sırt yağ kalınlığı ve sırt kası arasındaki ilişki istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Bununla birlikte CAST gen polimorfizm ile büyüme özellikleri arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Ağaoğlu ve ark. (2015) PCR-RFLP yöntemini kullanarak, Zavot, Yerli Kara, Güney Anadolu Kırmızısı, Boz Irk ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırkı sığırlarda; CAST, TG, SPP1, MSTN ve CAPN1 genlerinin DNA polimorfizmlerini değerlendirmişlerdir. RsaI restriksiyon enzimi kullanılarak üç farklı genotip (CC, CG ve GG) tespit edilmiştir. CAST lokusunun Yerli Kara dışında kalan dört ırkta HW dengesinde olduğu belirlenmiştir. Boz Irk, Yerli Kara, Zavot, Doğu Anadolu kırmızı ve Güney Anadolu Kırmızı sığır ırklarında CC, GC ve GG genotip frekansları sırasıyla; 35.0, 50.0 ve 15.0 – 38.9, 56.0 ve 5.1 – 46.7, 43.3 ve 10.0 – 38.8, 44.9 ve 16.3 – 47.2, 37,7 ve 15.1 olarak tespit edilmiştir.

2.5.2. Koyunlarda Kalpastatin geni ile ilgili yapılmış çalışmalar

Ata (2012) yaptığı çalışmada, PCR-RFLP yöntemini kullanarak yerli Çine Çaparı koyun ırkı ile sentetik Karya koyunlarında kalpastatin gen polimorfizmini tanımlamaya çalışmıştır. *MspI* restriksiyon enzimi kullanılarak üç genotip belirlenmiştir (MM, MN ve NN). Karya koyunlarda MM, MN ve NN genotiplerinin frekansları sırasıyla, 0.296, 0.496 ve 0.208 olarak, M ve N allellerinin frekansları ise sırasıyla 0.544 ve 0.456 olarak tespit edilmiştir. Çine Çaparı koyunlarda bu oranlar aynı sırayla MM, MN ve NN genotipleri için 0.543, 0.388 ve 0.069, M ve N allellerinin frekansları ise 0.737 ve 0.263 olarak bulunmuştur.

Balcıoğlu ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, Türkiye'de yetiştirilen 7 yerli koyun (Kangal, İvesi, Güney Karaman, Akkaraman, Morkaraman, Karayaka ve Karakaş) ırkında kalpastatin (CAST) gen polimorfizmini PCR-RFLP metodu ile incelenmişlerdir. CAST geninin M ve N allel frekansları; Kangal, İvesi, Güney Karaman, Akkaraman, Morkaraman, Karayaka ve Karakaş koyun ırklarında sırasıyla 0.92- 0.08, 0.59-0.41, 0.67-0.33, 0.69-0.31, 0.87-0.13, 0.86-0.14 ve 0.89-0.11 olarak tespit edilmiştir. Ki-kare testi sonuçlarına göre CAST geni bakımından Morkaraman, İvesi ve Karayaka popülasyonlarının Hardy-Weinberg dengesinden önemli düzeyde saptığını ($P<0.05$), diğer popülasyonların ise Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür.

Avanus (2015) yaptığı çalışmada, Türkiye yerli koyun (Kıvırcık, İmroz, Karayaka, Hemsin, Morkaraman ve Karagül) ırklarında CAST genine ait genetik çeşitlilik PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada Kıvırcık, İmroz, Karayaka, Hemşin, Morkaraman ve Karagül koyun ırkları kullanılmıştır. En yüksek M allel frekansı İmroz koyun ırkında (% 96), en yüksek N allel frekansı ise Kıvırcık ırkında (0.30) tespit edilmiştir. En yüksek MN, MM ve NN genotip frekansları sırasıyla Kıvırcık (% 60), İmroz (% 92.6) ve Morkaraman (% 7.1) ırklarında belirlenmiştir. Kıvırcık, İmroz, Karayaka ve Karagül ırklarında NN genotipi bulunamamıştır. Heterozigotluk değeri Kıvırcık ırkında en yüksek (% 60) iken, İmroz ırkında en düşük (% 7.4) olarak belirlenmiştir. Kıvırcık ve Hemşin dışında tüm ırklar Hardy-Weinberg dengesine uyumlu bulunmuştur.

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. İklimi tipik İç Anadolu karasal iklimidir. Yazları sıcak ve kurak, kışları soğuk ve kar yağışlı geçmektedir. İşletmede mevcut sığırcılık tesislerinin değerlendirilmesi amacıyla TİGEM'e bağlı diğer işletmelerden temin edilen erkek buzağı ve danalar ile büyükbaş besi sığırcılığı yapılmaktadır.

3.1.2. Hayvan materyali

Bu çalışmanın hayvan materyali, Konuklar Tarım İşletmesinde besiye tabi tutulan 125 baş Esmer erkeği ve 103 baş Siyah Alaca erkeğinden oluşmuştur.

3.1.3. Hayvanların yemleme programları ve kayıtları

Hayvanlara sabah, öğle, ikindi, akşam ve gece olmak üzere günde 5 defa yemleme yapılmaktadır. Hayvanlar dokuz ay süreliğine besiye tabi tutularak belirli bir canlı ağırlığa ulaştıktan sonra kesimhaneye gönderilmektedir. Yemleme programları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Hayvanların her iki ayda bir olacak şekilde tartımları düzenli biçimde alınmıştır.

Çizelge 3.1. Besi süresince hayvanlara verilen kaba ve kesif yem miktarları (kg)

Hayvan başına günlük verilen kaba ve kesif yem miktarları (kg)			
Yem çeşidi	**Besi Başlangıç**	**Besi Ortası**	**Besi Sonu**
Besi yemi	6	5.5	8
Mısır slajı	1	2.5	6
Yonca otu	1	-	-
Fiğ otu	-	2	3
Buğday sapı	-	0.5	1
Arpa ezmesi			1
Toplam	8	10.5	19

3.2. Yöntem

3.2.1. Kan örneklerinin alınması

Kan örnekleri hayvanların kuyruk damarından (*tail vein*) EDTA'lı vakumlu tüpler kullanılarak alınmıştır. Kan örnekleri alınır alınmaz yavaşça birkaç kez tersyüz edilerek buz plastikleri içeren termosa konulmuştur. Alınan örnekler en kısa sürede Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Hayvan Biyoteknolojisi Laboratuvarına getirilmiştir. Kan örnekleri DNA izolasyonu yapılana kadar derin dondurucuda –20^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Genomik DNA izolasyonu

Hayvanlardan alınan kan örnekleri hazır ticari genomik DNA izolasyon kiti (Quick Gene DNA whole blood kit S (DB-S) KURABO, Japan) kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon basamakları aşağıda verilmiştir:

1. 1.5 ml ependorf tüp içerisine 200 µl kan, 30 µl EBD solüsyonu ve 250 µl LDB solüsyonu konularak 5 kez pipetleme yapıldıktan sonra 30 saniye vortexlenmiş ve kısa bir süre santrifüj yapılmıştır.
2. 56^{o}C'de 2 dakika inkübasyona bırakılarak 2 dakika bittikten sonra 250 µl etil alkol ilave edilerek, yine 30 saniye vortexlenmiş ve kısa bir süre santrifüj yapılmıştır.
3. Ependorf tüpteki karışım holder cihazına yerleştirilmiş ve filtrelere nakledilerek hava basıncı tuşuna basılmıştır.
4. Fitreler içerisine 750 µl WDB solüsyonu ilave edilerek hava basıncı tuşuna basılmıştır. Bu işlem 3 kez uygulanmıştır.
5. WDB solüsyonu ile 3 kez yıkama yapıldıktan sonra fitreler içerisine 200 µl CDB solüsyonu ilave edilerek izolasyon işlemi tamamlanmıştır.
6. Elde edilen DNA'lar -20 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Primerlerin seçimi

Çalışmada Myf5 genin hedef bölgesi 2. intron olup, Li ve ark. (2004) ile Zhang ve ark. (2007) tarafından bildirilen (Gen Bank Erişim No: M95684) primerler kullanılmıştır. MSTN genin promotor bölgesini hedef alarak, Crisa ve ark. (2004) ile Zhang ve ark. (2007) tarafından kullanılan (Gen Bank Erişim No: AF348479) primerlerinden faydalanılmıştır. CAST geninin hedef bölgesi 1. ekzon olup, Palmer ve ark. (1997) ile Purti ve ark. (2015) tarafından tanımlanan (Gen Bank Erişim No: L14450) primerler kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Genlere ait primer dizilişleri

Primer kodu	Primer dizilişi	Pozisyon	Büyüklüğü bç
MSTN	F-5'-CCCTACAGAGGCCACTTCAA-3' R-5'-CTCGCTGTTCTCATTCAGATC-3'	9.141 11.486	1.346
Myf5	F-5'-GATAGCTGGCTGTGAATGAT-3' R-5'-CTGGCAACTGGGGAGAGAGAAG-3'	965 2.155	1.190
CAST	F-5'-TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG-3' R-5'-GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC-3'	644 789	624

3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyon (PCR) işlemi

Genlere ait primerler seçildikten sonra PCR işlemine geçilmiştir. PCR işlemleri TECHNE TC-512 Gradient Thermal Cycler cihazında gerçekleştirilmiştir. MSTN, Myf5 ve CAST genlerinin sırasıyla 1.346, 1.190 ve 624 bç bölgeleri çoğaltılmıştır. PCR işleminde 2X Master mix (DreamTaq Green PCR Master Mix (2X), thermo fisher), primerler (Macrogen, Ankara) ve ddH_2O kullanılmıştır. PCR'da kullanılan kimyasallar ve miktarları çizelge 3.3.'te PCR için uygun sıcaklık ve döngüler ise çizelge 3.4, 3.5 ve 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

Reaksiyon	Miktar (µl)
Genomik DNA	1
F-Primer (10 µM)	0.30
R-Primer (10 µM)	0.30
Master mix (2X)	5
ddH_2O	3.4
Toplam	10

Çizelge 3.4. CAST geni ile ilgili amplifikasyonlarda kullanılan reaksiyon koşulları

Başlangıç ayrılması	95 °C	5 dakika	35 döngü
Ayrılma	95 °C	10 saniye	
Bağlanma	62 °C	20 saniye	
Uzama	72 °C	30 saniye	
Son uzama	72 °C	5 dakika	

Çizelge 3.5. MSTN geni ile ilgili amplifikasyonlarda kullanılan reaksiyon koşulları

Başlangıç ayrılması	94°C	3 dakika	39 döngü
Ayrılma	94°C	30 saniye	
Bağlanma	63°C	40 saniye	
Uzama	72°C	1 dakika	
Son uzama	72°C	10 dakika	

Çizelge 3.6. Myf5 geni ile ilgili amplifikasyonlarda kullanılan reaksiyon koşulları

Başlangıç ayrılması	94°C	3 dakika	39 döngü
Ayrılma	94°C	30 saniye	
Bağlanma	60°C	40 saniye	
Uzama	72°C	1 dakika	
Son uzama	72°C	10 dakika	

3.2.5. Restriksiyon enzimleri ile kesim işlemi

PCR'da çoğaltılan gen bölgeleri restriksiyon enzimler ile kesime tabi tutulmuşlardır. Çalışmada Thermo fisher ürünleri olan üç farklı hızlı kesim (fast digest) restriksiyon enzimleri kullanılmıştır. CAST, Myf5 ve MSTN genleri için sırasıyla *Alu*I, *Taq*I ve *Dra*I restriksiyon enzimleri kullanılmıştır. Çizelge 3.7'da kesim reaksiyonları, süreleri ve miktarları verilmiştir.

Çizelge 3.7. Restriksiyon enzimleri ve kesim reaksiyon bileşenleri

Reaksiyon	**Miktar (µl)**	**Kesim Süresi**	
PCR ürünü	5	CAST	*AluI*,15 dk
Enzim (*AluI*,*TaqI* ve *DraI*)	0.5		
Buffer	1	Myf 5	*TaqI*, 15 dk
H_2O_{dd}	8.5		
Toplam (µl)	15	MSTN	*DraI*, 15dk

3.2.6. Jel elektroforez işlemi

3.2.6.1. Tris-borik asit-EDTA (TBE) tamponu

Bu çalışmada elektrolit çözeltisi olarak TBE (Tris-Borik asid-EDTA) çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti 5X yoğunlukta pH 8.0 olacak şekilde hazırlanarak son hacmi distile su kullanılarak 1 litreye tamamlanmıştır. Bu stok çözeltiden 100 ml alınıp distile su ile 1 litreye tamamlanarak 0.5X yoğunlukta TBE elde edilmiştir. Bu çözelti hem elektroforez tankına konulmuş hem de agaroz solüsyonunda kullanılmıştır (çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. TBE için gerekli kimyasallar

5X'lik TBE Tampon çözeltisi (1 Litrelik)	Miktar
Tris	54 g
Borik asit	27.5 g
EDTA	1.686 g
Saf su	1 L'ye tamamlanmıştır

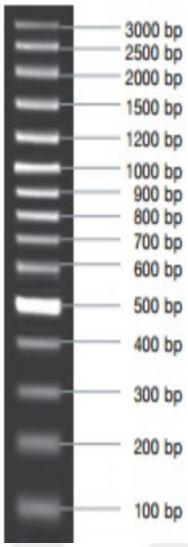
3.2.6.2. Agaroz jelin hazırlanması

Kesim sonrası genotipik farklılıkları tespit edebilmek amacıyla % 2'lik agaroz (SIGMA) jeli hazırlanmıştır. Agaroz jelin hazırlanması için; 8 g agaroz ve 400 ml 0.5X TBE çözeltisi bir beher içerisine ilave edilerek yüksek sıcaklıkta mikrodalga fırında agaroz tamamen çözülünceye kadar ısıtılmıştır. Kaynamaya fırsat vermeden yaklaşık 10-20 saniyede bir çözelti fırından çıkartılıp hafifçe karıştırılmıştır. Jelin dökületeceği tanka DNA örneklerinin yükleneceği kuyucuklar oluşması için 24 dişli tarak yerleştirilmiştir.

Jelin boyamasında kullanılan, UV ışığında DNA fragmentlerinin görünümünü sağlayan ve DNA'ya bağlanma özelliğine sahip olan etidyum bromürden 7 µl ilave edilmiştir. Yeterince soğutulan jel (50-55 ºC) jel kasetinde ve tarakların bulunduğu bölgelerde hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek tankın içine dökülmüştür. Jelin donmasının ardından taraklar dikkatli bir şekilde çıkarıldıktan sonra jel kaseti, jel ile birlikte elektroforez tankının içine yerleştirilmiştir.

Daha sonra hazırlanan 0.5X TBE elektrolit çözeltisi jelin üst kısmını kapatacak kadar elektroforez tankına eklenmiştir. Genotipleri birbirinden ayırt edebilmek için 5 µl DNA markör (Vivantisi, Malezya) kullanılmıştır (şekil 3.1) Örneklerin jelde yürütülmesi işlemi 1saat 20 dakika olarak standardize edilmiş, uygulanan voltaj 80 volt

olarak ayarlanmıştır. Jellerin görüntülenmesi işlemi UV jel görüntüleme cihazında yapılmıştır.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan DNA markörü

3.2.7. İstatistik analizler

Bant skorlamalarından elde edilen veri matrisi ile Myf5, CAST ve MSTN gen polimorfizmleri sonucu bireylerin genotiplendirmesi tamamlandıktan sonra allel ve genotip frekasları ile ilgili gen bölgelerinin heterozigotluk (He) değerlerinin analizinde PopGene Version 1.32 istatistik paket programı kullanılmıştır. Elde edilen değerler bakımından Siyah Alaca ve Esmer sığır popülasyonların Hardy–Weinberg dengesinde olup olmadığının belirlenmesinde χ^2 testi yapılmıştır (Aytekin, 2011).

3.2.8. Besi performansı ile genler arasındaki ilişkinin Regresyon Ağacı Yöntemi ile belirlenmesi

Besi özelliklerini etkileyen genleri belirlemek amacıyla yürütülen bu çalışmada, CART algoritmasına dayalı regresyon ağaç yapıları oluşturulmuştur.

Bu çalışma kapsamında, üzerinde durulan verim (kantitatif) değişkeni üzerinde etkili olan değişkenlerin belirlenmesi kapsamında CART algoritması kullanılarak karar ağacı yani regresyon ağacı diyagramından faydalanmıştır. CART algoritması ağaç yapısına dayalı algoritmalar olmakla birlikte nominal, ordinal ve sürekli yapıdaki değişkenlerin analizinde kullanılabilmektedir. Breiman ve ark. (1984) tarafından geliştirilen CART veri madenciliği algoritması, veri setini oluşturan bütün bireyleri içine alan kök düğümden başlayarak, yinelemeli olarak homojen düğümler elde edilene kadar her aşamada bir düğümden sadece iki yavru düğüm şeklinde bölünen ikili karar (Binary node splitting) ağacı algoritmasıdır. Non-parametrik bir yaklaşım olan CART, analiz edilecek veri setinin dağılımı ile ilgili herhangi bir varsayım gerektirmez ve istatistiksel anlamda uyum iyiliğini geliştiren bağımsız değişkenler ile karar ağacı elde edilmesini sağlar (Nisbet ve ark., 2009). CART için her bölünme sadece bir bağımsız değişkenin değerine bağlıdır. I adet kategorisi olan sıralı değişken bakımından 2^{I-1}-1 adet bölünme mümkündür. Ayrıca, CART algoritması ile elde edilecek bir karar ağacında yorumlama kolaylığının sağlanması açısından tahmin doğruluğu üzerinde olumsuz etki yapabilecek gereksiz dalların ya da çocuk düğümlerin ağaç yapısından kaldırılması için IBM SPSS programında budama (pruning) işlemi aktif hale getirilmelidir. Ancak, IBM SPSS 23 programında cross-validation aktive edildiği durumlarda pruning işleminin uygulanmasına gerek yoktur.

CART algoritmasından elde edilen bir regresyon ağacında aynı değişken bir dalda birkaç kez bölünmeye (surrogate splits) yol açabilmektedir. Diğer bir ifadeyle, CART algoritmasının aşırı dallanma potansiyeline sahip bir algoritma olduğu bilindiğinden dolayı elde edilen regresyon ağacının yorumlanması zor olabilmektedir. Bu gibi durumlardan kaçınmak amacıyla değerlendirilen veri setini öğrenme (Learning, Training) ve test (testing, validation) setlerine ayrılması, ebeveyn-yavru düğümde bulunması gereken birey sayısının ve ağaç derinliği (tree depth) sayısının hassas bir şekilde ayarlanması gerekmektedir. Genelde öğrenme ve test setleri için 80:20 oranının kullanımı tavsiye edilir. Ancak, uyum iyiliğini geliştirmek amacıyla araştırıcılar tarafından farklı oranlarda özelleştirilebilir. Optimum bir ağaç yapısı için bu iki set için

tahmin edilen uyum iyiliği ölçütlerinin birbirine yakın olması önerilmektedir. Diğer bir seçenek olarak iki set oluşturmak yerine çapraz geçerlik (validation) 10 alınıp mevcut veri seti için ortalama bir hata değeri hesaplanabilir. Bir bireye ait bağımlı değişkene ait değer ya da tüm bağımsız değişkenlere ait değerler kayıpsa, CART algoritmasında bu birey analize dâhil edilmez.

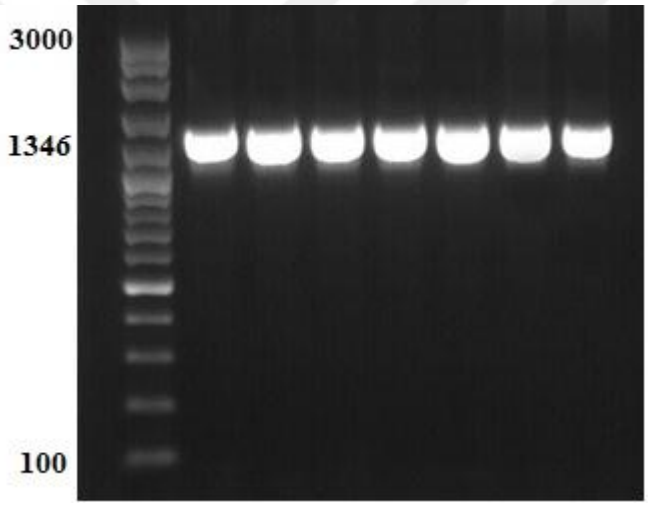
Regresyon ağacı analizinde ağaç modelindeki karar verme noktasına düğüm denilmektedir. Ağaç modelinde başlangıç düğümü, gözlem değerlerinin tümünü içermekte olup, en karmaşık düğüm olan Düğüm 1'dir. Bu düğüm aile düğümü olarak kabul edilir ve aile düğümü iki alt düğüme (çocuk düğümüne) bölünür. Çocuk düğümlerinde henüz karar verme gerçekleşmemiştir. Aile düğümünden her çocuk düğümüne bölünme gerçekleştiği için çocuk düğümü aile düğümüne göre daha homojendir. Çocuk düğümleri ayırma kriterleri dikkate alınarak karar noktalarına terminal düğümlere ulaşılır. Terminal düğümlerde ele alınan özelliklerin sınıf üyelikleri tanımlanır. Terminal düğümler ağaçtaki en homojen düğümler olarak kabul edilir, daha sonra bölünme gerçekleşmez. Regresyon ağacı analizi vasıtasıyla hangi bağımlı değişkeni hangi bağımsız değişken etkilediği kolaylıkla anlaşılabilmektedir (Akşahan ve Keskin, 2015).

Regresyon ağacı analizinde IBM SPSS 23 istatistik programı kullanılmıştır. Regresyon ağacındaki Myf5 genindeki 1, 2 ve 3 sırasıyla AA, AB ve BB genoriplerini, CAST genindeki 1, 2 ve 3 sırasıyla AA, AG ve GG genotipleri, MSTN genindeki 1 ve 2 sırasıyla AA, AB ve BB genotipleri temsil etmektedir.

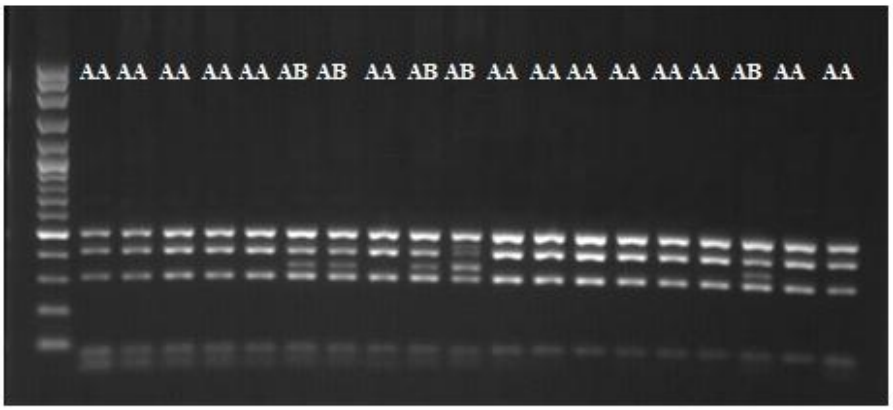
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Myostatin (MSTN/*DraI*) polimorfizmi

MSTN genine ait PCR ile çoğaltılmış olan 1346 bç'lik PCR ürünü (Şekil 4.1) elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünü *DraI* restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra %2'lik agaroz jelde örnekler yürütülerek ve UV altında görüntülenmiştir. Kesim sonrası iki farklı genotip (AA ve AB) elde edilmiştir (Şekil 4.2). AA genotipinde 505, 427, 321, ve 93 bç fragmentler görünürken AB genotipinde ise 505, 427, 365, 321, 93 ve 62 bç fragmentler görülmüştür. Çizelge 4.1 ve çizelge 4.2'de MSTN geninin allel ve genotip frekanslar ve χ^2 testi her iki ırk için verilmiştir.



Şekil 4.1. MSTN PCR ürünü



Şekil 4.2. MSTN/*DraI* kesim ürünü

Çizelge 4.1. Siyah Alaca MSTN lokusunun genotipik dağılımı

Siyah Alaca	**N**	**Genotipler**			**Allel Frekansı**		**Genotip Frekansı**			**χ^2**
		AA	**AB**	**BB**	**A**	**B**	**AA**	**AB**	**BB**	0.0927^{OD}
Gözlenen	103	97	6	-	0.971	0.029	0.942	0.058	-	**Heterozigotluk (He)**
Beklenen	103	97.087	5.825	0.087			0.94	0.06	0.00	0.06
χ^2 testi, Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P>0.05)										

Çizelge 4.2. Esmer ırkı MSTN lokusunun genotipik dağılımı

Esmer ırkı	**N**	**Genotipler**			**Allel Frekansı**		**Genotip Frekansı**			**χ^2**
		AA	**AB**	**BB**	**A**	**B**	**AA**	**AB**	**BB**	2.1524^{OD}
Gözlenen	125	96	29	-	0.884	0.116	0.768	0.232	-	**Heterozigotluk (He)**
Beklenen	125	97.682	25.636	1.682			0.78	0.21	0.01	0.21
χ^2 testi, Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P>0.05)										

Çizelge 4.1 ve 4.2'de Siyah Alaca ve Esmer ırklarına ait genotip, allel frekansları, χ^2 testi ve heterozigotluk değerleri verilmiştir. Siyah Alacalarda toplam 103 baş sığırdan 97 baş AA ve 6 baş BB genotipli ve Esmer sığırlarda toplam 125 baş sığırdan 96 baş AA ve 29 baş AB genotipli olarak belirlenmiştir. Her iki ırkta da genotip frekansları bakımından en yüksek frekansa AA genotipler sahip iken, en düşük frekansa BB genotipler sahip olmuştur. Siyah Alacalarda AA ve AB genotip frekanslar sırasıyla 0.942 ve 0.058, Esmerlerde ise 0.768 ve 0.2321 olarak bulunmuştur. Siyah Alacalarda ve Esmerlerde A ve B allel frekansları sırasıyla (A) 0.971, (B) 0.029 – (A) 0.884 ve (B) 0.116 olarak belirlenmiştir. Hesaplanan χ^2 testi, popülasyon MSTN gen polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Hesaplanan beklenen heterozigotluk değeri (He) ise Siyah Alacalarda 0.06 iken Esmer ırkında 0.21 olarak belirlenmiştir. Birçok araştırmacı tarafından MSTN/*DraI* polimorfizmi farklı sığır ırklarında belirlenmeye çalışılmıştır. Crisa ve ark. (2003) MSTN/*DraI* polimorfizmini dokuz sığır ırkında araştırarak çizelge 4.3'te genotip ve allel frekansları tespit edilmiştir. Zhang ve ark. (2007), MSTN/*DraI* polimorfizmi üç Çin sığır ırkında araştırılmıştır. Nanyang sığır ırkında genotip frekansları (AA) 0.9100, (AB) 0.0900, allel frekansları ise (A) 0.9550, (B) 0.0450; Qinchuan ırkında ise genotip frekansları (AA) 0.9460, (AB) 0.0540, allel frekansları ise (A) 0.9730, (B) 0.0270; ve son olarak Jiaxian ırkında ise genotip frekansları (AA) 0.9351, (AB) 0.0556, (BB)

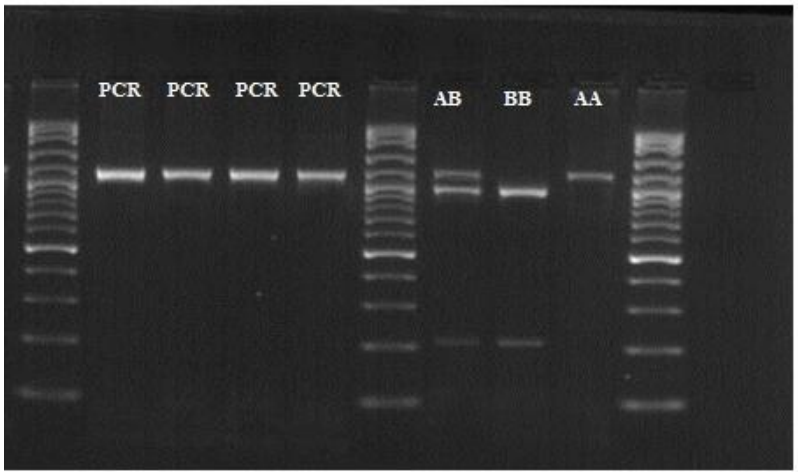
0.0093, allel frekansları ise (A) 0.9629, (B) 0.0371 tespit edilmiştir. χ^2 testi sonucunda ise Nanyang ve Qinchuan popülasyonlarının dengede olduğu (P>0.05), Jiaxian popülasyonlarının ise dengede olmadığı (P<0.05) bildirilmiştir. Nasr ve ark. (2016)'ları tarafından Siyah Alaca buzağılarında MSTN/*DraI* polimorfizmini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada sadece AA genotipinin bulunduğu (monomorfik) bildirilmiştir. Mevcut çalışmada saptanan genotip ve allel frekansları litaratür çalışmalarıyla kıyaslandığında Nasr ve ark. (2016)'larının yaptığı çalışma dışında diğerleri ile bir benzerlik görülmektedir.

Çizelge 4.3. Dokuz sığır ırkında MSTN/*DraI* polimorfizmini (Crisa ve ark. 2003)

Irklar	**N**	**Genotip frekansı**			**Allel frekansı**	
		TT	**TA**	**AA**	**T**	**A**
Belgian Blue	29	1	10	18	0.207	0.793
Brown Swiss	13	10	2	1	0.846	0.154
Chianina	40	29	11	0	0.863	0.138
Holstein Friesian	19	16	3	0	0.921	0.079
Limousine	10	9	1	0	0.950	0.050
Marchigiana	114	83	27	4	0.846	0.154
Italian Red Pied	11	10	1	0	0.955	0.045
Piedmontese	41	36	5	0	0.939	0.061
Romagnola	76	54	22	0	0.855	0.145

4.2. Myf5 (Myf5/*TaqI*) polimorfizmi

Myf5/*TaqI* polimorfizmi ilk olarak Drögemüller ve Kempers (2000) tarafından intron 2 bölgesinde belirlenmiştir. Myf5/*TaqI* polimorfizminin 1948. pozisyonunda (GenBank Erişim No: M95684) adenin ile guanin (A/G) baz değişimi sonucu mutasyon olduğu görülmüştür. Mevcut çalışmada Myf5 genine ait 1190 bç Şekil (4.3) PCR ürünü elde edilerek *TaqI* restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir. %2'lik agaroz jelde örnekler yürütülerek Şekil (4.4) ve UV altında görüntülenmiştir. Her iki ırkta da *TaqI* restriksiyon enzim muamele sonrası üç farklı genotip (AA, AB ve BB) elde edilmiştir. AA genotiplerde 1190 bç'nde, BB genotiplerde 983 bç ve 207 bç'nde, AB genotiplerde 1190 bç, 983 bç ve 207 bç'nde olmak üzere fragmentler görülmüştür. Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'de Myf5 geninin allel ve genotip frekanslar ve χ^2 testi her iki ırk için verilmiştir.



Şekil 4.3. Myf5 genin PCR ve kesim ürünü

Çizelge 4.4. Siyah Alaca Myf5 lokusunun genotipik dağılımı

Siyah Alaca	**N**	**Genotipler**			**Allel Frekansı**		**Genotip Frekansı**			χ^2
		AA	**AB**	**BB**	**A**	**B**	**AA**	**AB**	**BB**	1.56^{OD}
Gözlenen	103	12	38	53	0.30	0.70	0.11	0.36	0.51	**Heterozigotluk (He)**
Beklenen	103	9.33	43.34	50.33			0.09	0.42	0.49	0.42
χ^2 testi, Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P>0.05)										

Çizelge 4.4'te Siyah Alaca sığırlara ait genotip, allel frekansları, χ^2 testi ve beklenen eterozigotluk (He) değerleri dikkate alındığında toplam 103 baş sığırın 12 başı AA, 38 başı AB ve 53 başı BB genotipli olarak tespit edilmiştir. En yüksek genotip frekansına BB genotipler ve en düşük genotip frekansına AA genotipler sahip olmuştur. Genotip ve allel frekansları sırasıyla (AA) 0.11, (AB) 0.36 ve (BB) 0.51 – (A) 0.30 ve (B) 0.70 tespit edilmiştir. χ^2 testi 1.56 bulunurken ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesin olduğu görülmüştür. Heterozigotluk değeri ise 0.42 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. Esmer ırkı Myf5 lokusunun genotipik dağılımı

Esmer ırkı	**N**	**Genotipler**			**Allel Frekansı**		**Genotip Frekansı**			χ^2
		AA	**AB**	**BB**	**A**	**B**	**AA**	**AB**	**BB**	0.006^{OD}
Gözlenen	125	16	58	51	0.36	0.64	0.13	0.46	0.41	**Heterozigotluk (He)**
Beklenen	125	16.2	57.6	51.2			0.13	0.46	0.41	0.46
χ^2 testi, Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P>0.05)										

Çizelge 4.5'te Esmer sığırlara ait genotip, allel frekansları, χ^2 testi ve beklenen heterozigotluk (He) değerleri dikkate alındığında toplam 125 baş sığırın 16 başı AA, 58 başı AB ve 51 başı BB genotipli olarak belirlenmiştir. En yüksek genotip frekansına AB genotipler ve en düşük genotip frekansına AA genotipler sahip olmuştur. Genotip ve allel frekansları sırasıyla (AA) 0.13, (AB) 0.46 ve (BB) 0.41 – (A) 0.36 ve (B) 0.64 tespit edilmiştir. χ^2 testi 0.006 bulunurken ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Heterozigotluk değeri ise 0.46 olarak belirlenmiştir.

Zhang ve ark. (2007)'nın üç yerli Çin sığır ırkında Myf5/*TaqI* polimorfizmini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, Nanyang sığır ırkında genotip frekansları (AA) 0.40, (AB) 0.26 ve (BB) 0.69, allel frekansları ise (A) 0.17 ve (B) 0.82; Qinchuan ırkında ise genotip frekansları (AA) 0.04, (AB) 0.39 ve (BB) 0.55, allel frekansları ise (A) 0.24, (B) 0.75 ve son olarak Jiaxian ırkında ise genotip frekansları (AA) 0.03, (AB) 0.42 ve (BB) 0.54, allel frekansları ise (A) 0.24 ve (B) 0.75 tespit edilmiştir. χ^2 testi ise her üç ırktada dengede ($P>0.05$) olduğu görülmüştür. Kisacova ve ark. (2009), Şarole ırkında Myf5/*TaqI* polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında genotip ve allel frekansları sırasıyla AA(0.36) AB(0.48) ve BB (0.16), A (0.60) B (0.40) tespit edilmiştir. Curi ve ark. (2012)'ları 6 farklı sığır ırkında Myf5/*TaqI* polimorfizmi belirlenmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında buldukları genotip ve allel frekansları Çizelge (4.6)'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Altı farklı sığır ırkında Myf5/*TaqI* polimorfizmi (Curi ve ark. 2012)

Irklar	**N**	**Allel frekansı**		**Genotip frekansı**		
		A	**G**	**AA**	**AG**	**GG**
Nelore	114	0.031	0.969	-	0.071	0.929
Angus x Nelore	67	0.269	0.731	-	0.537	0.463
Rubia Gallega x Nelore	44	0.114	0.886	-	0.227	0.773
Canchim	41	0.318	0.682	0.025	0.585	0.390
Brangus 3'lü kombinasyon melezi	19	0.395	0.605	0.211	0.368	0.421
Braunvieh 3'lü kombinasyon melezi	15	0.467	0.533	0.133	0.667	0.200

Nasr ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmada, Siyah Alaca buzağılarında Myf5/*TaqI* polimorfizm bölgesi incelenmiştir. Çalışmalarında genotip ve allel frekansları sırasıyla AA (0.20) BB (0.64) ve AB (34), A (0.43) ve B (0.57) olarak tespit edilmiştir. Şahin ve Akyüz (2017), beş farklı sığır ırkında Myf5/*TaqI* polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında bildirdikleri genotip ve allel frekansları Çizelge (4.7)'de verilmiştir.

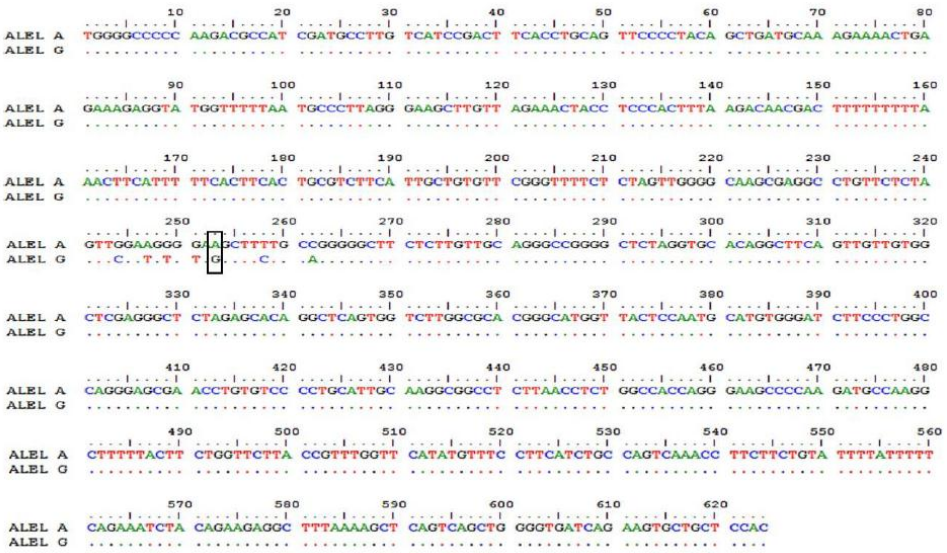
Çizelge 4.7. Beş farklı sığır ırkında Myf5/*TaqI* polimorfizmi (Şahin ve Akyüz, 2017)

Irklar	N	Genotip frekansı			Allel frekansı	
		AA	AG	GG	A	G
Simental		0.12	0.47	0.41	0.35	0.65
Siyah Alaca		0.07	0.50	0.43	0.32	0.68
İsviçre Esmeri		0.09	0.53	0.38	0.36	0.64
Doğu Anadolu Kırmızısı		0.20	0.45	0.35	0.43	0.57
Boz Irk		0.07	0.40	0.53	0.27	0.73

Her iki ırk için mevcut çalışmada bulunan değerler ile literatürde bildirilen değerler kıyaslandığında genotip ve allel frekansları bakımından benzer bir eğilimin olduğu görülmektedir. Diğer bir ifade ile Myf5/*TaqI* polimorfizmi popülasyondan popülasyona allel ve genotip frekanslarında az çok değişiklik gösterse de ırklar arasında genel olarak B allel frekansının yüksek olduğu söylenebilir.

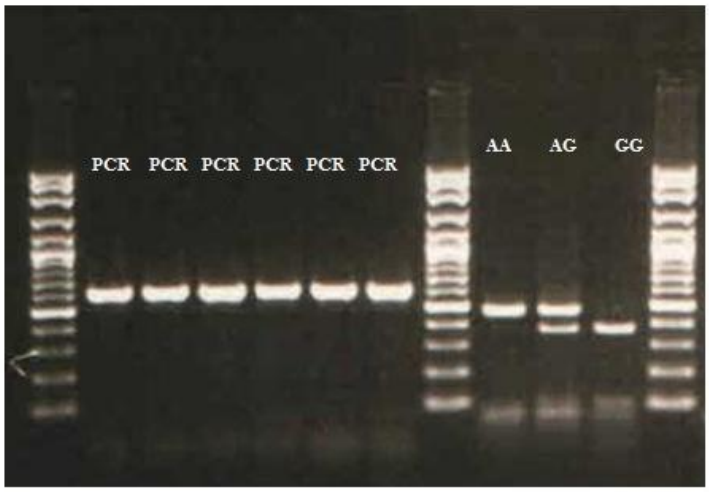
4.3. Kalpastatin (CAST/*AluI*) polimorfizmi

CAST/*AluI* polimorfizmi ilk olarak Juszczuk-Kubiak (2004) tarafından bildirilmiştir. CAST/*Alu*I polimorfizmi, 253. nükleotid pozisyonunda A/G arasında oluşan mutasyon nedeniyle ortaya çıkmaktadır (şekil 4.4).



şekil 4.4. Kalpastatin sekansı

Mevcut çalışmada CAST genine ait 624 bç'lik PCR ürünü elde edilmiştir. PCR ürününü *Alu*I enzimle muamele ederek üç farklı genotip belirlenmiştir (AA, AG ve GG). AA genotipliler 324 bç, AG genotiplile 474 ve 324 bç ve GG genotipliler ise 474 bç'nde fragment oluşturmuşlardır. CAST geninin allel ve genotip frekansları ve χ^2 test sonucu her iki ırk için çizelge 4.8 ve çizelge 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.5. CAST genin PCR ve kesim ürünü

Çizelge 4.8. Siyah Alaca CAST lokusunun genotipik dağılımı

Siyah Alaca	**N**	**Genotipler**			**Allel Frekansı**		**Genotip Frekansı**			**χ^2**
		AA	**AG**	**GG**	**A**	**G**	**AA**	**AG**	**GG**	9.7^{OD}
Gözlenen	103	27	35	41	0.43	0.56	0.26	0.34	0.39	**Heterozigotluk (He)**
Beklenen	103	19.22	50.54	33.22			0.19	0.49	0.32	0.49
χ^2 testi, Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P>0.05)										

Çizelge 4.8'de Siyah Alaca ırkına ait genotip, allel frekansları, χ^2 test sonucu ve Heterozigotluk (He) değerleri dikkate alındığında toplam 103 baş sığırın 27 başı AA, 35 başı AG ve 41 başı GG genotipli olarak tespit edilmiştir. En yüksek genotip frekansına GG genotipler ve en düşük genotip frekansına AA genotipler sahip olmuştur. Genotip ve allel frekansları sırasıyla (AA) 0.26, (AG) 0.34 ve (GG) 0.39 – (A) 0.43 ve (B) 0.56 olarak tespit edilmiştir. χ^2 değeri 9.7 olarak tespit edilmiş olup, popülasyonun dengede olduğu görülmüştür. Heterozigotluk (He) değeri ise 0.42 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Esmerlerde CAST lokusunun genotipik dağılımı

Siyah Alaca	**N**	**Genotipler**			**Allel Frekansı**		**Genotip Frekansı**			χ^2
		AA	**AG**	**GG**	**A**	**G**	**AA**	**AG**	**GG**	0.53^{OD}
Gözlenen	125	55	53	17	0.652	0.348	0.44	0.42	0.13	**Heterozigotluk**
Beklenen	125	53.138	56.724	15.138			0.43	0.45	0.12	0.45
χ^2 testi, Heterozigotluk, ÖD (Önemli değil, P>0.05)										

Çizelge 4.9'da Esmer ırkına ait genotip, allel frekansları, χ^2 testi ve Heterozigotluk (He) değerleri dikkate alındığında toplam 125 baş sığırın 55 başı AA, 53 başı AG ve 17 başı GG genotipli olarak tespit edilmiştir. En yüksek genotip frekansına AA genotipler ve en düşük genotip frekansına GG genotipler sahip olmuştur. Genotip ve allel frekansları sırasıyla (AA) 0.44, (AG) 0.42 ve (GG) 0.13 – (A) 0.652 ve (B) 0.348 tespit edilmiştir. χ^2 testi 0.53 tespit edilip ve popülasyonun dengede olduğu görülmüştür. Heterozigotluk (He) değeri ise 0.45 olarak belirlenmiştir.

Putri ve ark. (2015)'nın yaptıkları çalışmada, CAST/*Alu*I polimorfizminin Bali sığırlarında büyüme özellikleri ve karkas özellikleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Bali sığırlarında sadece iki genotip GG ve AG belirlenmiştir. Genotip ve allel frekansları sırasıyla GG (0.714) AG (0.286), G (0.857) ve A (0.143) tespit edilmiştir.

Juszczuk-Kubiak ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, yedi sığır ırkında CAST/*Alu*I polimorfizmi araştırılmıştır. Yedi sığır ırkına ait genotip ve allel frekansları çizelge (4.10)'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. yedi sığır ırkında CAST/*Alu*I polimorfizmi (Juszczuk-Kubiak ve ark. 2004)

Irklar	N	Genotip			Allel	
		GC	CC	GG	C	G
Angus	9	1	8	8	0.93	0.07
Şarole	12	2	10	10	0.58	0.42
Limuzin	10	3	6	6	0.75	0.25
Simental	9	5	3	3	0.61	0.39
Hereford	8	4	4	4	0.75	0.25
Polonya Kırmızısı	84	35	31	31	0.58	0.42
Polonya Siyahı	7	1	4	4	0.64	0.36

Ardicli ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, CAST/*AluI* polimorfizminin Simmental boğalarının besi performansı ve karkas özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Genotip ve allel frekansları sırasıyla GG (0.12) GC (0.65) ve CC (0.22) G (0.54) ve C (0.45) tespit edilmiştir. Genotip ve allel açısından mevcut çalışmayı başka çalışmalarla kıyaslandığında bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

4.4. İlişki analizleri

4.4.1. Tanıtıcı istatistikler

Besi başı canlı ağırlık (BBCA), besi sonu canlı ağırlık (BSCA), canlı ağırlık artışı (CAA) ve günlük canlı ağırlık artışı değerlerine (GCAA) ait ortalama, standart hata ve varyasyon katsayıları Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. BBCA, BSCA ve ırklara göre tanıtıcı istatistikler

		Esmer					Siyah Alaca				
Değişkenler	Genotip	N	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minimum	Maksimum	CV	N	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minimum	Maksimum	CV
BBCA	Myf5										
	1	16	383,8±10,2	315,0	465,0	10,62	12	270,0±17,6	140,0	355,0	22,58
	2	58	380,26±7,11	270,00	525,00	14,24	38	241,4±10,4	120,0	405,0	26,55
	3	51	372,25±8,65	240,00	510,00	16,59	53	259,25±6,97	140,00	370,00	19,56
	CAST										
	1	55	377,36±7,79	240,00	525,00	15,31	27	245,6±14,7	120,0	370,0	31,15
	2	53	386,70±7,41	290,00	510,00	13,96	35	272,43±7,31	185,00	405,00	15,88
	3	17	348,8±11,4	245,0	435,0	13,42	41	243,66±7,93	140,00	335,00	20,85
	MSTN										
	1	96	379,11± 5,81	240,00	525,00	15,02	97	251,86±5,57	120,00	370,00	21,80
	2	29	371,90±9,68	285,00	480,00	14,02	6	287,5±36,8	175,0	405,0	31,36
BSCA	Myf5										
	1	16	485,6±13,8	400,0	580,0	11,37	12	545,4±21,0	440,0	675,0	13,37
	2	58	470,78±8,31	355,00	650,00	13,44	38	521,8±11,8	300,0	635,0	13,92
	3	51	469,02±9,17	350,00	605,00	13,97	53	526,32±8,36	355,00	640,00	8,36
	CAST										
	1	55	472,82±8,68	350,00	650,00	13,62	27	518,5±15,3	300,0	630,0	15,33
	2	53	479,25±8,57	370,00	600,00	13,01	35	541,00±9,50	395,00	675,00	10,39
	3	17	446,5±13,8	360,0	540,0	12,77	41	520,4±10,2	355,0	610,0	12,50
	MSTN										
	1	96	476,61±6,47	350,00	650,00	13,31	97	523,66±6,66	300,00	640,00	12,52
	2	29	456,6±11,1	360,0	580,0	13,15	6	579,2± 26,7	515,0	675,0	11,29

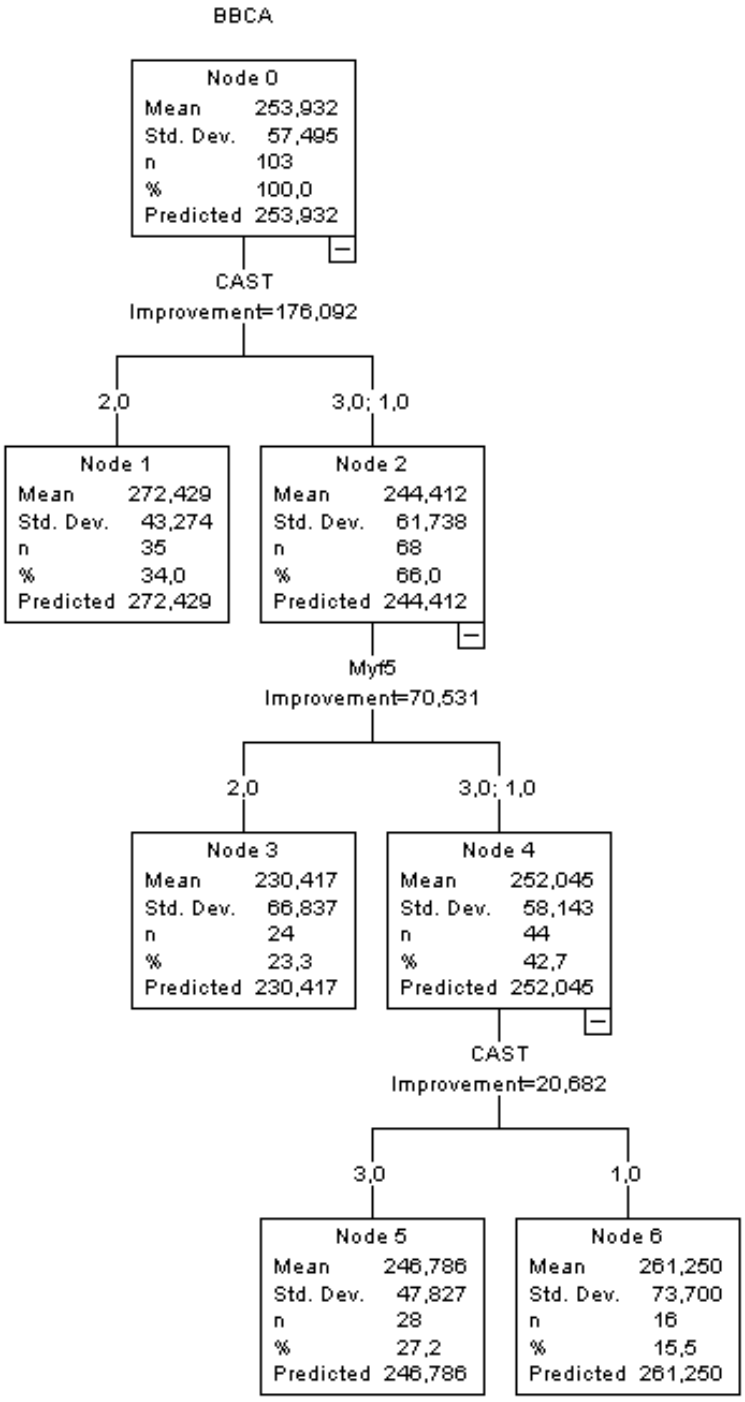
Çizelge 4.11.'in devamı

Değişkenler	Genotip	N	Esmer				Siyah Alaca				
			$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minimum	Maximum	CV	N	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minimum	Maximum	CV
CAA	Myf5										
	1	16	101,88±7,05	60,00	170,00	27,70	12	275,4±13,9	200,0	340,0	17,52
	2	58	90,52±4,57	10,00	195,00	38,46	38	280,39±8,68	170,00	370,00	19,07
	3	51	96,76±4,73	10,00	210,00	34,94	53	267,08±7,88	110,00	420,00	21,47
	CAST										
	1	55	95,45±3,72	20,00	195,00	28,87	27	273,0±10,8	170,0	375,0	20,55
	2	53	92,55±4,92	10,00	170,00	38,74	35	268,57±9,47	110,00	360,00	20,86
	3	17	97,6±10,8	30,0	210,0	45,77	41	276,71±8,44	160,00	420,00	19,52
	MSTN										
	1	96	97,50±3,41	34,22	210,00	3,41	97	271,80±5,56	110,00	420,00	20,16
	2	29	84,66±6,16	39,18	140,00	6,16	6	291,7±23,1	225,0	355,0	19,38
GCAA	Myf5										
	1	16	1,1447±0,0793	0,6742	1,9101	27,70	12	0,9001±0,0455	0,6536	1,1111	17,52
	2	58	1,0170±0,0514	0,1124	2,1910	38,46	38	0,9163±0,0284	0,5556	1,2092	19,07
	3	51	1,0872±0,0532	0,1124	2,3596	34,94	53	0,8728±0,0257	0,3595	1,3725	21,47
	CAST										
	1	55	1,0725±0,0418	0,2247	2,1910	28,87	27	0,8920±0,0353	0,5556	1,2255	20,55
	2	53	1,0399±0,0553	0,1124	1,9101	38,74	35	0,8777±0,0309	0,3595	1,1765	20,86
	3	17	1,097±0,122	0,337	2,360	45,77	41	0,9043±0,0276	0,5229	1,3725	19,52
	MSTN										
	1	96	1,0955±0,0383	34,22	2,3596	0,0383	97	0,8882±0,0182	0,3595	1,3725	20,16
	2	29	0,9512±0,0692	39,18	1,5730	0,0692	6	0,9532±0,0754	0,7353	1,1601	19,38

4.4.1.1. Siyah Alaca besi sığırlarında besi başı canlı ağırlık (BBCA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

Üzerinde durulan BBCA özelliği ile CAST, Myf 5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla CART algoritması ile oluşturulan regresyon ağacı diyagramı Şekil 4.6'da verilmiştir. Üzerinde çalışma yapılan tüm Siyah Alaca sığırlar (Düğüm 0), ilk ağaç derinliğinde CAST geni bakımından 2 alt gruba (Düğüm 1 ve Düğüm 2) ayrılmıştır. Düğüm 1 BBCA ortalaması 272.429 (S=43.274) kg, Düğüm 2 BBCA ortalaması 244.412 (S=61.738) kg, Düğüm 3 BBCA ortalaması 230.417 (S=66.837) kg, Düğüm 4 BBCA ortalaması 252.045 (S=58.143) kg, Düğüm 5 BBCA ortalaması 246.786 (S=47.827) kg ve Düğüm 6 BBCA ortalaması 262.250 (S=73.700) kg olarak bulunmuştur. Oluşturulan alt gruplardan yeterince homojen yapıya sahip olan Düğüm 1'e terminal düğüm adı verilir.

CAST geni bakımından AA ve GG genotipli Siyah Alaca hayvanların oluşturduğu alt grup olan Düğüm 2, Myf5 geni tarafından Düğüm 3 ve 4 olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Düğüm 3, AA ve GG genotipli Siyah Alaca hayvanlar arasında Myf5 geni bakımından AB genotipli olanların oluşturduğu alt grubu temsil etmektedir. Düğüm 4 ise AA ve GG genotipli Siyah Alaca hayvanlar arasında Myf5 geni bakımından AA ve BB genotipli olanların oluşturduğu alt grubu temsil etmektedir. Düğüm 4 CAST geni bakımından (Düğüm 5 ve Düğüm 6) ayrılmıştır. Düğüm 5 Regresyon ağacı diyagramından anlaşılacağı üzere BBCA'a en çok etki eden genin CAST geni olduğu tespit edilmiştir. En yüksek BBCA ortalamasına sahip olan düğüm 1'de bulunan CAST geni bakımından AG genotipli hayvanlar olmuştur. En düşük BBCA ortalamasına sahip olan düğüm 3'te bulunan Myf5 geni bakımından AB genotipli hayvan olmuştur.



Şekil 4.6. Siyah Alaca besi sığırlarında besi başı canlı ağırlık (BBCA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

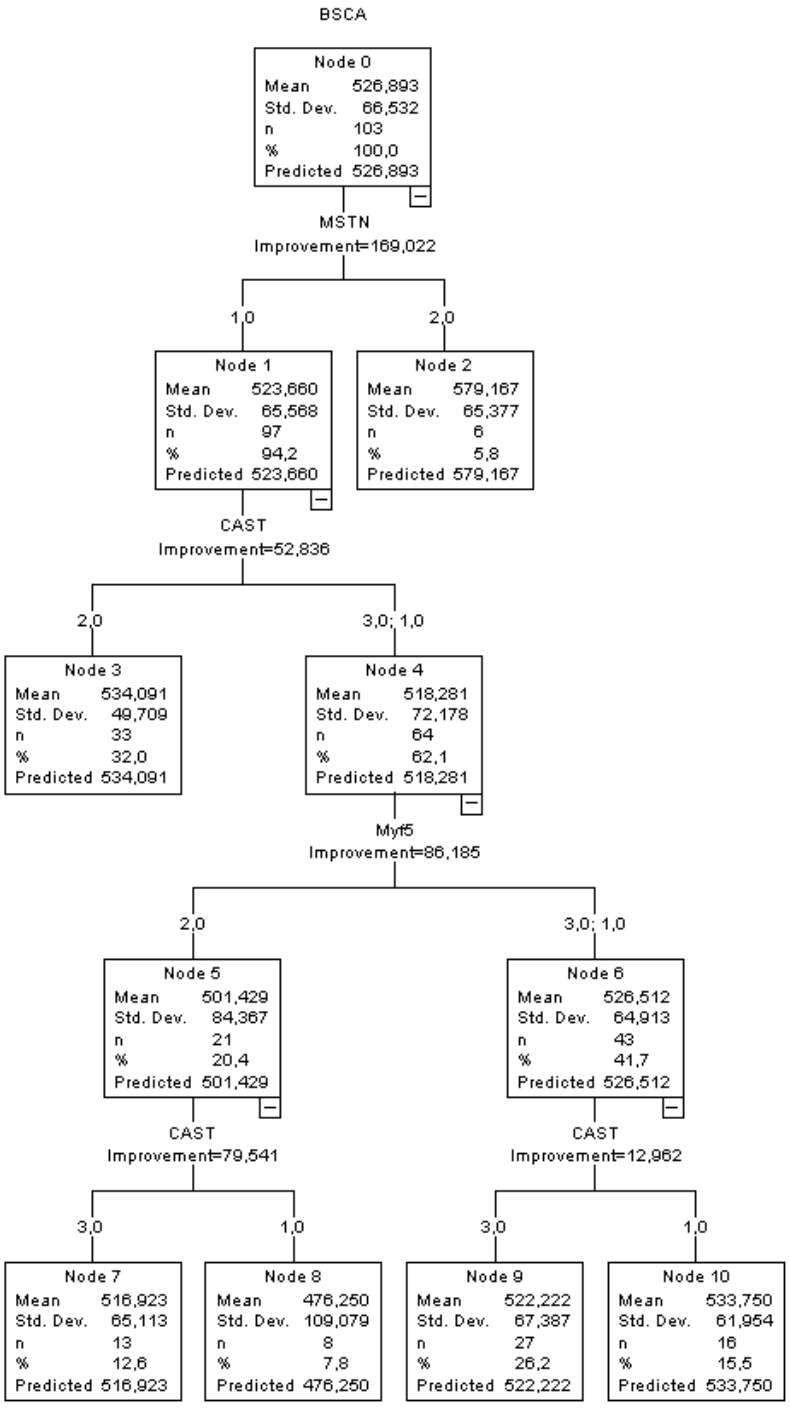
Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

4.4.1.2. Siyah Alaca besi sığırlarında besi sonu canlı ağırlık (BSCA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

BSCA'a etki eden genleri tespit etmek amacıyla oluşturulan regresyon ağacı diyagramı Şekil 4.7'de verilmiştir. CART veri madenciliği algoritması ile oluşturulan regresyon ağacı diyagramı incelendiğinde, Düğüm 1 BSCA ortalaması 523.660 (S=65.568) kg, Düğüm 2 BSCA ortalaması 579.167 (S=65.377) kg, Düğüm 3 BSCA ortalaması 534.091 (S=49.709) kg, Düğüm 4 BSCA ortalaması 518.281 (S=72.178) kg, Düğüm 5 BSCA ortalaması 501.429 (S=84.367) kg ve Düğüm 6 BSCA ortalaması 526.512 (S=64.913) kg olarak belirlenmiştir.

Kök düğüm olarak bilinen Düğüm 0, MSTN geni bakımından ilk ağaç derinliğinde Düğüm 1 (MSTN geni bakımından AA genotipli Siyah Alaca sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 2 (MSTN geni bakımından AB genotipli Siyah Alaca sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Düğüm 1, CAST geni bakımından ikinci ağaç derinliğinde, Düğüm 3 (MSTN geni bakımından AA genotipli ve CAST geni bakımından AG genotipli Siyah Alaca sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 4 (MSTN geni bakımından AA genotipli ve CAST geni bakımından AA ve GG genotipli Siyah Alaca sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Düğüm 5 ve Düğüm 6, CAST geni bakımından ikişer alt gruba (Düğüm 7 ve Düğüm 8 ile Düğüm 9 ve Düğüm 10) ayrılmıştır.

Regresyon ağacı diyagramından anlaşacağı üzere en yüksek BSCA ortalamasına sahip olan Düğüm 2'de bulunan MSTN geni bakımından AB genotipli hayvanlar olmuştur. En düşük BSCA ortalamasına sahip olan Düğüm 5'te bulunan Myf5 geni bakımından AB genotipli hayvanlar olmuştur.



Şekil 4.7. Siyah Alaca besi sığırlarında besi sonu canlı ağırlık (BSCA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

4.4.1.3. Siyah Alaca besi sığırlarında canlı ağırlık artışı (CAA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

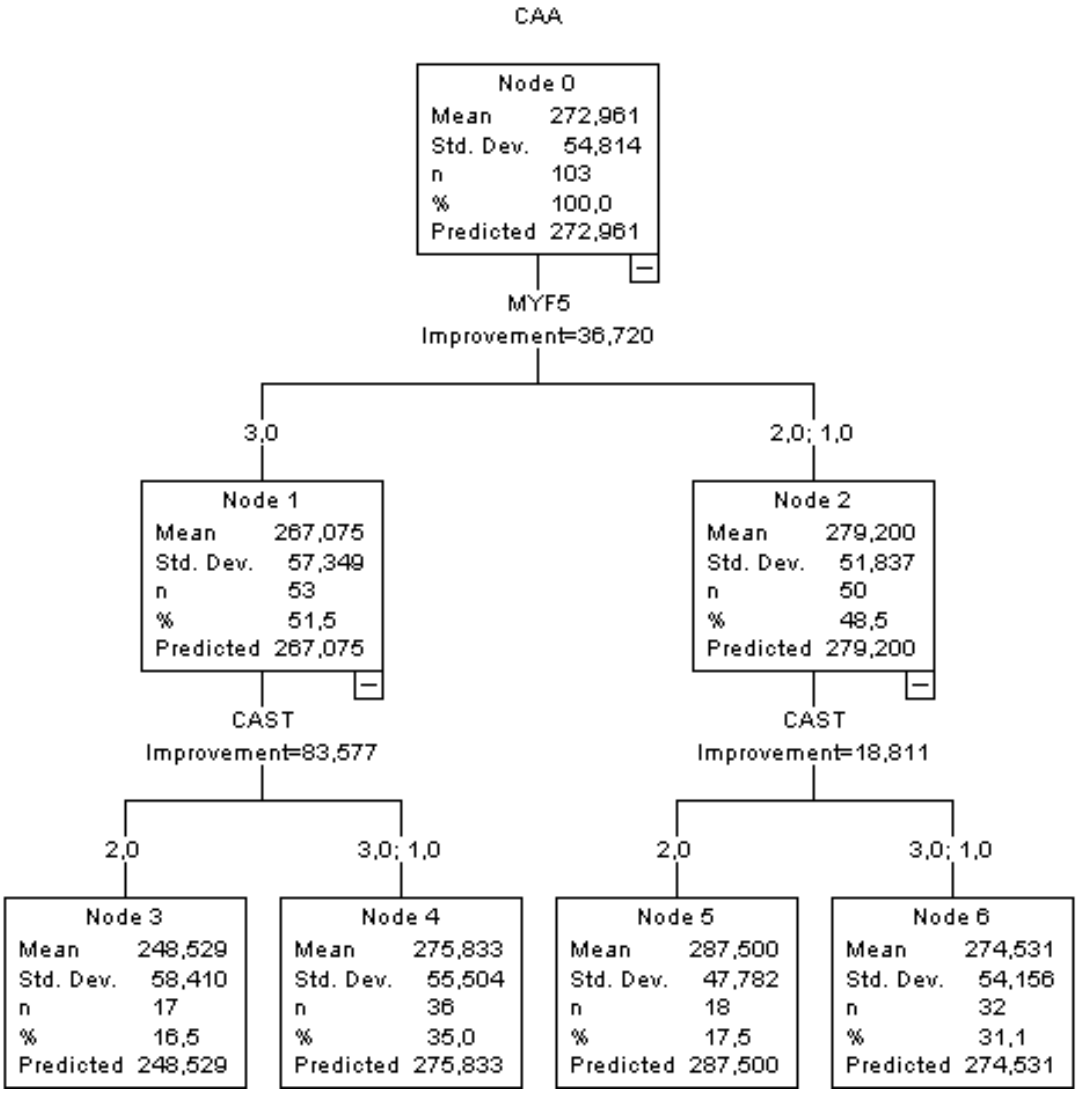
CAA'a etki eden genleri belirlemek amacıyla oluşturulan regresyon ağacı diyagramı Şekil 4.8'de verilmiştir. Düğüm 1 CAA ortalaması 267.075 (S=57.349) kg, Düğüm 2 CAA ortalaması 279.200 (S=51.837) kg, Düğüm 3 CAA ortalaması 248.529 (S=58.410) kg, Düğüm 4 CAA ortalaması 275.833 (S=55.504) kg, Düğüm 5 CAA ortalaması 287.500 (S=47.782) kg ve Düğüm 6 CAA ortalaması 274.531 (S=54.156) kg olarak tespit edilmiştir.

Düğüm 0, ilk ağaç derinliğinde Myf5 geni bakımından Düğüm 1 (Myf5 geni bakımından BB genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 2 (Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır.

Düğüm 1, ikinci ağaç derinliğinde CAST geni bakımından Düğüm 3 (Myf5 geni bakımından BB genotipli, CAST geni bakımından AG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 4 (Myf5 geni bakımından BB genotipli, CAST geni bakımından AA ve GG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır.

Düğüm 2, ikinci ağaç derinliğinde CAST geni bakımından Düğüm 5 (Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli, CAST geni bakımından AG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 6 (Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli, CAST geni bakımından AA ve GG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. En yüksek CAA ortalaması Düğüm 5'i oluşturan hayvanlardan elde edilmiştir. CAST geni bakımından AG genotipli sığırların Myf5 AA ve AB genotiplerini taşıması durumunda en yüksek CAA ortalamasının elde edildiği dikkat çekmektedir. Ancak, CAST geni bakımından GG genotipli hayvanların Myf5 BB genotipli olması en düşük CAA ortalamasının elde edilmesine yol açmıştır.

Regresyon ağacı diyagramından anlaşılacağı üzere, CAST geni bakımından AG genotipli sığırların Myf5 AA ve AB genotiplerini taşıması durumunda en yüksek CAA ortalamasının elde edildiği dikkat çekmektedir. CAA bakımından CAST ile My5 genleri arasında interaksiyonun olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Siyah Alaca besi sığırlarında canlı ağırlık artışı (CAA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

4.4.1.4. Siyah Alaca besi sığırlarında günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

GCAA özelliği üzerinde etkili olan genleri belirlemek amacıyla oluşturulan regresyon ağacı diyagramı Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Regresyon ağacı diyagramına bakıldığında, Düğüm 1 GCAA ortalaması 0.873 (S=0.188) g, Düğüm 2 GCAA ortalaması 0.913 (S=0.169) g, Düğüm 3 GCAA ortalaması 0.813 (S=0.191) g, Düğüm 4 GCAA ortalaması 0.901 (S=0.182) g, Düğüm 5 GCAA ortalaması 0.941 (S=0.157) g ve Düğüm 6 GCAA ortalaması 0.898 (S=0.176) g olarak tespit edilmiştir.

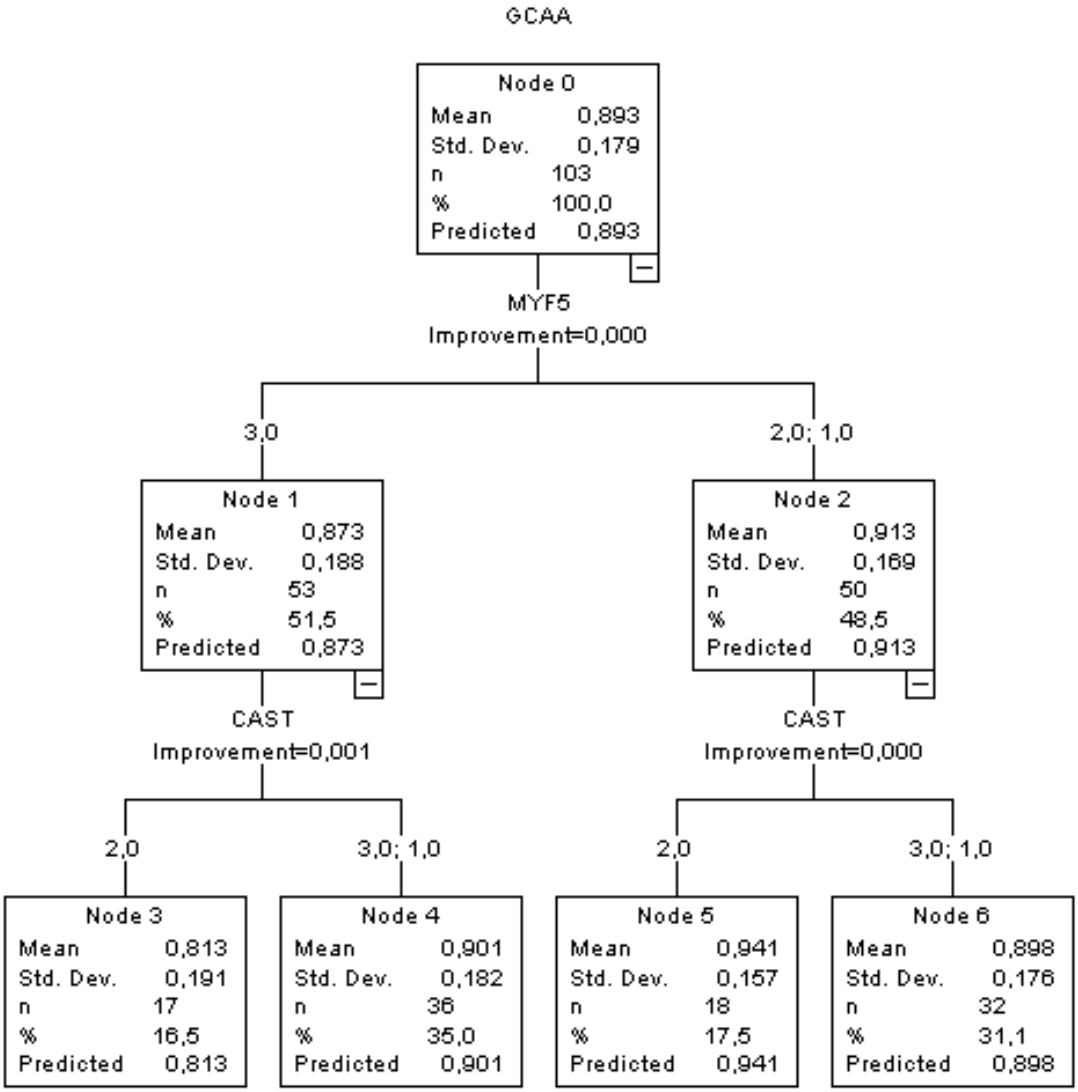
Düğüm 0, ilk ağaç derinliğinde Myf5 geni bakımından Düğüm 1 (Myf5 geni bakımından BB genotipli Siyah Alaca ırkı sığırlardan oluşan alt grup) ve Düğüm 2 (Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli Siyah Alaca sığırlardan oluşan alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır.

Düğüm 1, ikinci ağaç derinliğinde CAST geni bakımından Düğüm 3 (Myf5 geni bakımından BB genotipli, CAST geni bakımından AG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 4 (Myf5 geni bakımından BB genotipli, CAST geni bakımından AA ve GG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır.

Düğüm 2, ikinci ağaç derinliğinde CAST geni bakımından Düğüm 5 (Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli, CAST geni bakımından AG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 6 (Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli, CAST geni bakımından AA ve GG genotipli Siyah Alaca ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. En yüksek GCAA ortalaması Düğüm 5'i oluşturan hayvanlardan elde edilmiştir. CAST geni bakımından AG genotipli sığırların Myf5 AA ve AB genotiplerine sahip olması ile en yüksek GCAA ortalamasına ulaşılmıştır.

Ancak, CAST geni bakımından GG genotipli hayvanların Myf5 BB genotipli olması en düşük CAA ortalamasının elde edilmesine yol açmıştır.

Regresyon ağacı diyagramı incelendiğinde, CAST geni bakımından AG genotipli sığırların Myf5 AA ve AB genotiplerini taşıması durumunda en yüksek CAA ortalamasının elde edildiği dikkat çekmektedir. Şekil 4.8 ve 4.9'da gösterilen regresyon ağacı diyagramlarının yapısal olarak benzer olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. Siyah Alaca besi sığırlarında günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

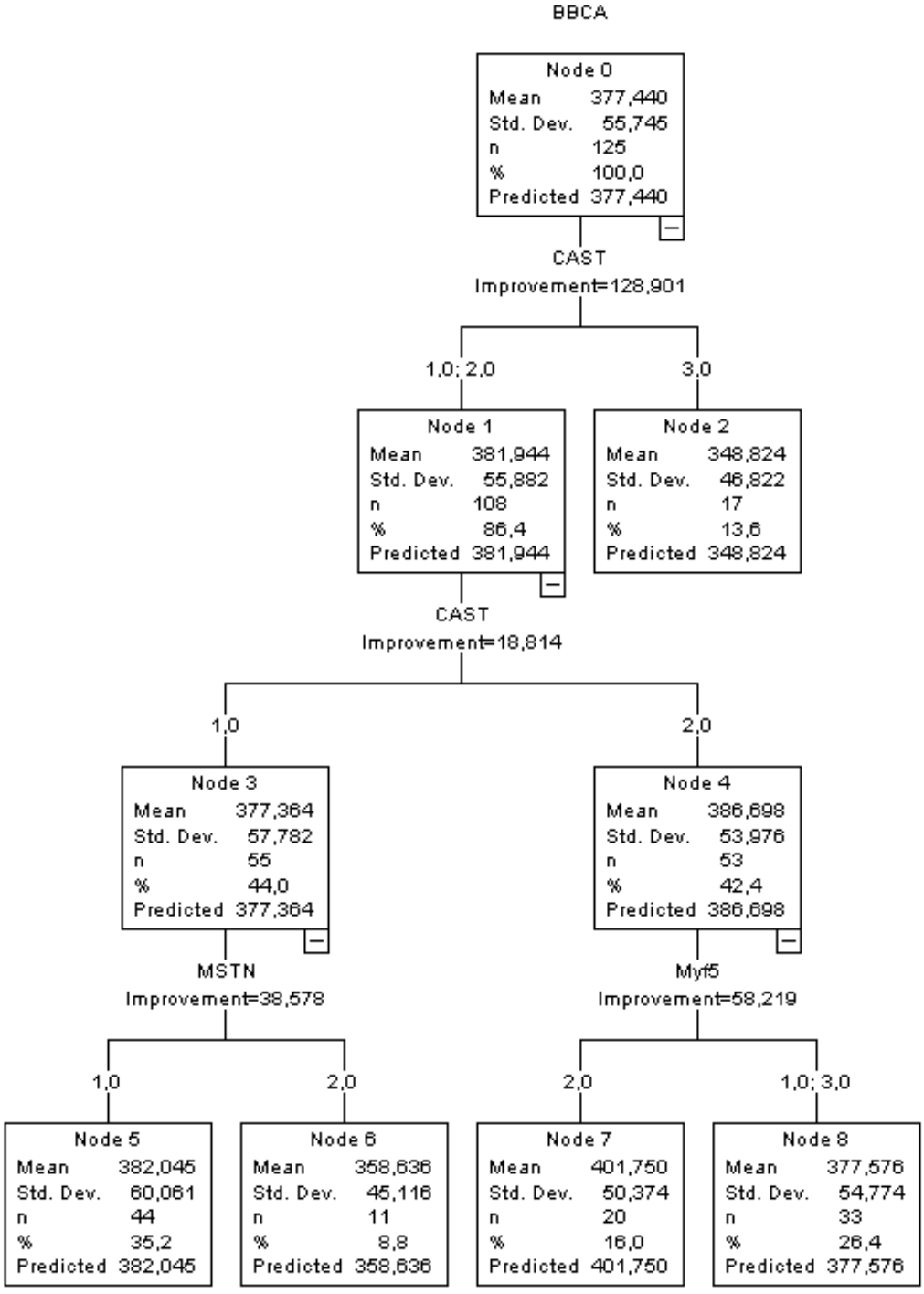
4.4.1.5. Esmer besi sığırlarında besi başı canlı ağırlık (BBCA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

Esmer besi sığırlarında BBCA özelliği üzerinde etkili olan genleri tespit etmek amacıyla CART veri madenciliği algoritması ile oluşturulan regresyon ağaç yapısı Şekil 4.10'da verilmiştir. Regresyon ağacı incelendiğinde, Düğüm 1 BBCA ortalaması 381.944 (S=55.882) kg, Düğüm 2 BBCA ortalaması 348.824 (S=46.822) kg, Düğüm 3 BBCA ortalaması 377.364 (S=57.782) kg, Düğüm 4 BBCA ortalaması 386.698 (S=53.976) kg, Düğüm 5 BBCA ortalaması 382.045 (S=60.061) kg, Düğüm 6 BBCA ortalaması 358.636 (S=45.116) kg, Düğüm 7 BBCA ortalaması 401.750 (S=50.374) kg ve Düğüm 8 BBCA ortalaması 377.576 (S=54.774) kg olarak bulunmuştur.

Düğüm 0, ilk ağaç derinliğinde CAST geni bakımından Düğüm 1 (AA ve AG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 2 (GG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. İlk ağaç derinliğinde, GG genotipli CAST geni taşıyan Esmer sığırlar arasında BBCA bakımından ortalama 33.12 kg'lık bir farkın olduğu tespit edilmiştir. Regresyon ağaç diyagramı incelendiğinde, Düğüm 1 ve Düğüm 4' de bulunan Esmer sığırların BBCA ortalamalarının, genel ortalamadan (377.440) yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

Düğüm 1, CAST geni bakımından ikinci ağaç derinliğinde Düğüm 3 (AA genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 4 (AG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Regresyon ağaç diyagramına bakıldığında, En yüksek BBCA ortalamasına sahip olan Myf5 geni bakımından AB genotipli hayvanlar olmuştur. En düşük BBCA ortalamasına sahip olan CAST geni bakımından GG genotipli hayvanlar olmuştur

Düğüm 2, MSTN geni bakımından Düğüm 5 (GG genotipli CAST ve AA genotipli MSTN genleri taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 6 (GG genotipli CAST ve AB genotipli MSTN genleri taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) iki alt gruba ayrılmıştır. Düğüm 5 ile Düğüm 6 arasında BBCA bakımından 22.417 kg'lık fark olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.10. Esmer besi sığırlarında besi başı canlı ağırlık (BBCA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

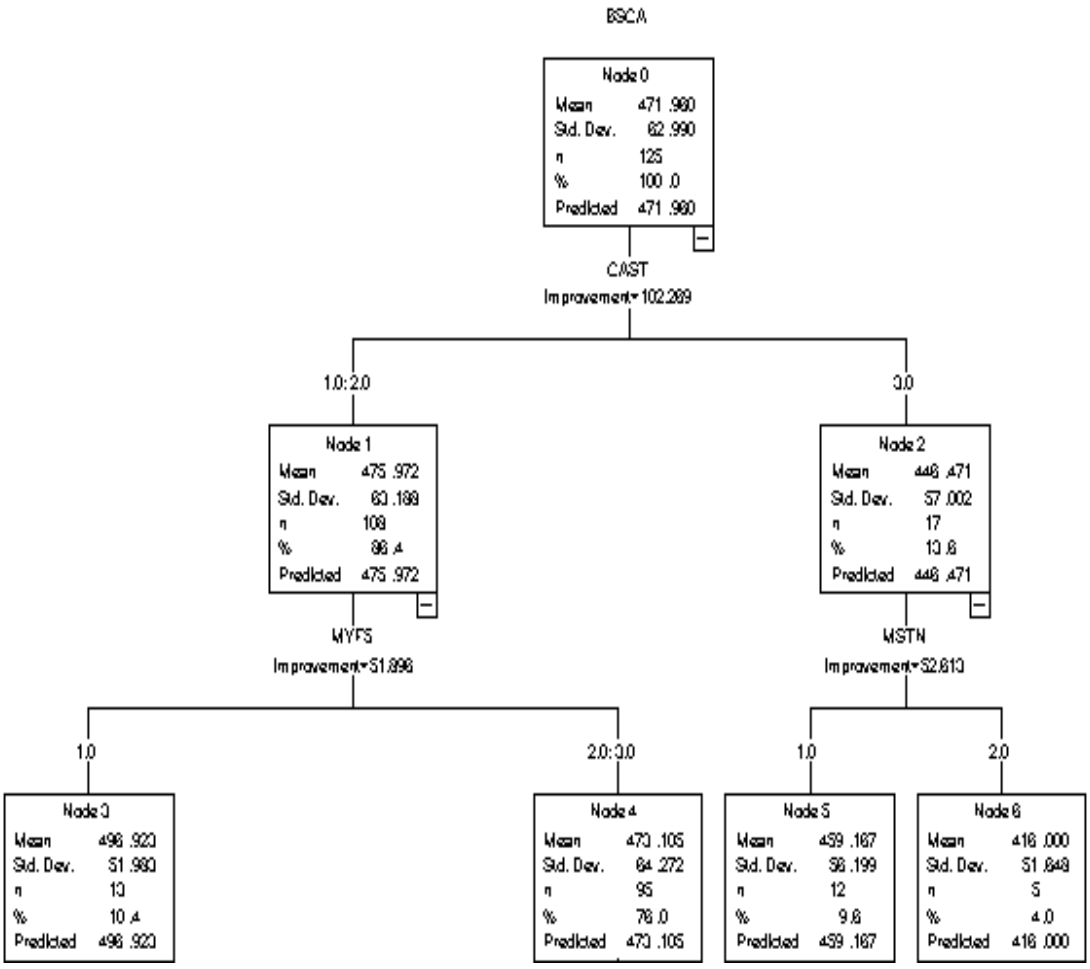
4.4.1.6. Esmer besi sığırlarında besi sonu canlı ağırlık (BSCA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

Esmer besi sığırlarda BSCA'a etki eden genleri belirlemek amacıyla oluşturulan CART regresyon ağacı diyagramı Şekil 4.11'de verilmiştir. Oluşturulan regresyon ağaç diyagramı incelendiğinde, Düğüm 1 BSCA ortalaması 475.972 (S=63.189) kg, Düğüm 2 BSCA ortalaması 446.471 (S=57.002) kg, Düğüm 3 BSCA ortalaması 496.920 (S=51.980) kg, Düğüm 4 BSCA ortalaması 470.105 (S=64.272) kg, Düğüm 5 BSCA ortalaması 459.167 (S=56.199) kg ve Düğüm 6 BSCA ortalaması 416 (S=51.648) kg olarak belirlenmiştir.

Düğüm 0, CAST geni bakımından Düğüm 1 (AA ve AG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 2 (GG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. İlk ağaç derinliğinde oluşan iki alt grup arasında BSCA bakımından Düğüm 1 lehine 29. 501 kg'lık fark olduğu belirlenmiştir.

Düğüm 1 Myf5 geni tarafından Düğüm 3 (AA ve AG genotipli CAST geni ve AA genotipli Myf5 geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 4 (AA ve AG genotipli CAST geni ile birlikte AB ve BB genotipli Myf5 geni taşıyan Esmer ırkı sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere ilk alt gruba bölünmüştür. Düğüm 3'ü oluşturan sığırların en yüksek BSCA ortalamasına sahip olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir ifadeyle, AA ve AG genotipli CAST genine sahip sığırlar arasında Myf5 geninin AA genotipini taşıyan sığırların seçilmesi önerilebilir.

Düğüm 2, MSTN geni bakımından Düğüm 5 (GG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırlar arasında AA genotipli MSTN genini taşıyan sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 6 (GG genotipli CAST geni taşıyan Esmer ırkı sığırlar arasında AB genotipli MSTN genini taşıyan sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba bölünmüştür.



Şekil 4.11. Esmer besi sığırlarında besi sonu canlı ağırlık (BSCA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

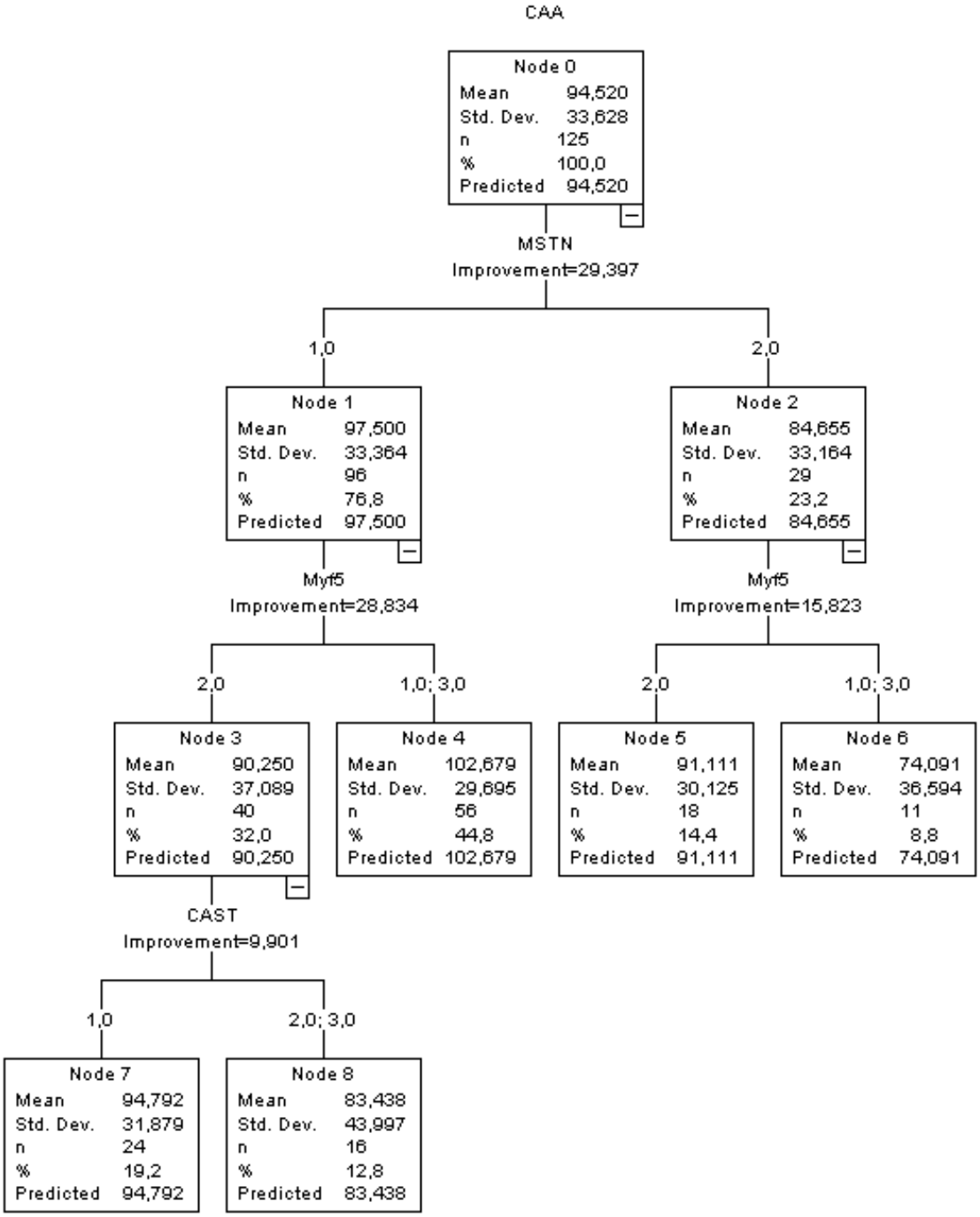
Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

4.4.1.7. Esmer besi sığırlarında canlı ağırlık artışı (CAA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

Esmer sığırlarda CAA özelliğine etki eden genlerin belirlenmesi amacıyla oluşturulan CART regresyon ağacı yapısı Şekil 4.12'de verilmiştir. Düğüm 1 CAA ortalaması 97.5 (S=33.384) kg, Düğüm 2 CAA ortalaması 84.855 (S=33.184) kg, Düğüm 3 CAA ortalaması 90.250 (S=37.089) kg, Düğüm 4 CAA ortalaması 102.679 (S=29.695) kg, Düğüm 5 CAA ortalaması 91.111 (S=30.125) kg, Düğüm 6 CAA ortalaması 74.091 (S=36.594) kg, Düğüm 7 CAA ortalaması 94.792 (S=31.879) kg ve Düğüm 8 CAA ortalaması 83.438 (S=43.997) kg olarak tespit edilmiştir.

Düğüm 0, ilk ağaç derinliğinde, MSTN geni bakımından Düğüm 1 (MSTN geninin AA genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 2 (MSTN geninin AB genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. İlk ağaç derinliğinde en yüksek CAA ortalaması, MSTN geninin AA genotipini taşıyan Esmer sığırlardan elde edilmiştir. Regresyon ağaç diyagramına bakıldığında, ikinci ağaç derinliğinde Myf5 geni etkili olduğu dikkat çekmiştir. MSTN ve Myf5 genlerinin interaksiyona girdiği, Myf5 geni için oluşturulan genotip grup ortalamaları arasındaki farkın MSTN geninin AA genotipinde başka Düğüm 3 (90.250 kg) ve Düğüm 4 (102.679 kg), AB (Düğüm 5 (91.111 kg) ve Düğüm 6 (74.091) genotipinde bambaşka olduğu aşikârdır.

Düğüm 1 ve Düğüm 2, Myf5 geni bakımından Düğüm 3, 4, 5 ve 6 olmak üzere ikişer alt gruba ayrılmıştır. Düğüm 3, MSTN geninin AA genotipini ve Myf5 geninin AB genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu; Düğüm 4, MSTN geninin AA genotipini ve Myf5 geninin AA ve BB genotiplerini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu; Düğüm 5, MSTN geninin AB genotipini ve Myf55 geninin AB genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu ve Düğüm 6, MSTN geninin AB genotipini ve Myf5 geninin AA ve BB genotiplerini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu temsil etmektedir. Regresyon ağaç diyagramına bakıldığında, En yüksek CAA ortalamasına sahip olan Myf5 geni bakımından AA ve BB genotipli hayvanlar olmuştur.



Şekil 4.12. Esmer besi sığırlarında canlı ağırlık artışı (CAA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

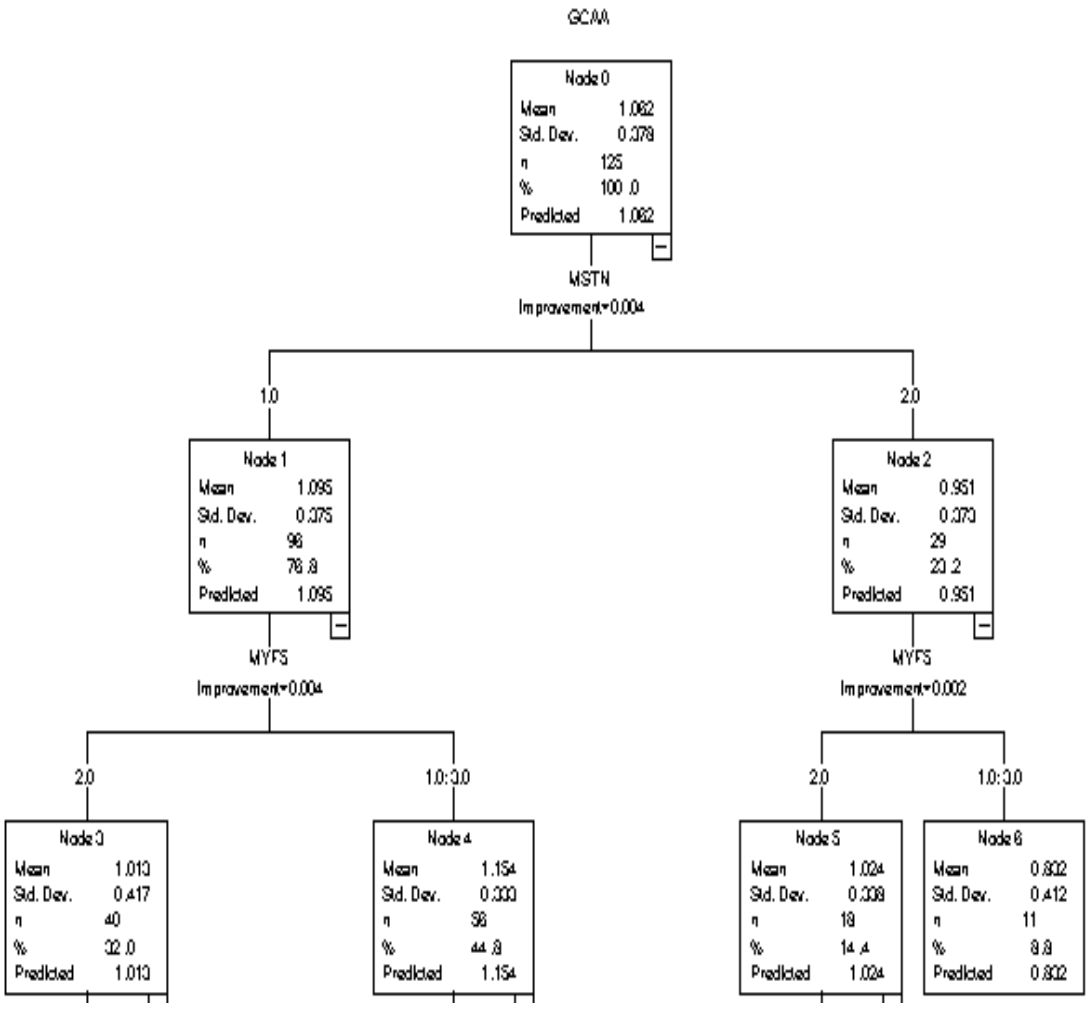
Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

4.4.1.8. Esmer besi sığırlarında günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ile CAST, Myf5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkiler

Esmer sığırlarda GCAA üzerine etkili olan genleri belirlemek amacıyla oluşturulan regresyon ağacı diyagramı Şekil 4.13'te sunulmuştur. Düğüm 1 GCAA ortalaması 1.095 (S=0.375) kg, Düğüm 2 GCAA ortalaması 0.951 (S=0.373) g, Düğüm 3 GCAA ortalaması 1.013 (S=0.417) g, Düğüm 4 GCAA ortalaması 1.154 (S=0.333) g, Düğüm 5 GCAA ortalaması 1.024 (S=0.338) g ve Düğüm 6 GCAA ortalaması 0.832 (S=0.412) g olarak tespit edilmiştir.

Düğüm 0, ilk ağaç derinliğinde, MSTN geni bakımından Düğüm 1 (MSTN geninin AA genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grup) ve Düğüm 2 (MSTN geninin AB genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grup) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. İlk ağaç derinliğinde en yüksek GCAA ortalaması, MSTN geninin AA genotipini taşıyan Esmer sığırlardan elde edilmiştir. Regresyon ağaç diyagramı incelendiğinde, ikinci ağaç derinliğinde Myf5 geninin etkili olduğu dikkat çekmiştir. MSTN ve Myf5 genlerinin interaksiyona girdiği, Myf5 geni için oluşturulan genotip grup ortalamaları arasındaki farkın MSTN geninin AA genotipinde başka Düğüm 3 (90.250 kg) ve Düğüm 4 (102.679 kg), AB (Düğüm 5 (91.111 kg) ve Düğüm 6 (74.091) genotipinde bambaşka olduğu aşikardır.

Düğüm 1 ve Düğüm 2, Myf5 geni bakımından Düğüm 3, 4, 5 ve 6 olmak üzere ikişer alt gruba bölünmüştür. Regresyon ağaç diyagramına bakıldığında, Düğüm 3, MSTN geninin AA genotipini ve Myf5 geninin AB genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu; Düğüm 4, MSTN geninin AA genotipini ve Myf5 geninin AA ve BB genotiplerini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu; Düğüm 5, MSTN geninin AB genotipini ve Myf5 geninin AB genotipini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu ve Düğüm 6, MSTN geninin AB genotipini ve Myf5 geninin AA ve BB genotiplerini taşıyan Esmer sığırların oluşturduğu alt grubu olduğu görülmektedir. En yüksek GCAA ortalaması, Düğüm 4'de bulunan Esmer sığırlardan elde edilmiştir.



Şekil 4.13. Esmer besi sığırlarında günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) regresyon ağaç diyagramı

Kodlama

Myf5; AA(1), AB(2), BB(3)
CAST; AA(1), AG(2), GG(3)
MSTN; AA(1), AB(2)

4.4.1.9. Besi performansı ile genler arasındaki ilişkiler

MYF5 geni memelilerin büyüme ve gelişmesinde önemli bir rol oynadığı sayılır. Kapsamlı araştırmalar sonucu, sığırlarda Myf5 genindeki çeşitli polimorfizmler ortaya çıkmıştır. Ancak, ilişki analizleri farklı ırklarda çelişkili sonuçlar ortaya çıkarmış aynı zamanda verim özellikleri ile herhangi bir ilişki gösterememiştir (Klosowska ve ark. 2004; Carmo ve ark. 2005; Zhang ve ark. 2007). Zhang ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada, Nanyang ve Jiaxian sığır ırklarında Myf5 geni bakımından AB ve BB genotipli olan hayvanlar büyüme ve gelişme özellikleri üzerine istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada Nanyang sığır ırkında Myf5 geni ile günlük canlı ağırlık artışı arasında ilişki olmadığı görülmüştür. Ancak Li ve ark. (2004) ve Chung ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmalarda, sığırlarda Myf5 geni ile günlük canlı ağırlık artışı arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Mevcut çalışmada ise, Myf5 geni Esmer ırkında AA ve BB genotipli hayvanlar GCAA, CAA ve BSCA'na etki ettiği tespit edilmiştir.

Myostatin geni, iskelet kasların büyümesinde negatif düzenleyicisi olarak görev yapar ve iskelet kas sistemine muhafaza etmektedir. Domuzlarda yapılan bir çalışmada, MSTN geni bakımında AB genotipli hayvan AA genotipli hayvanlara göre daha fazla günlük canlı ağırlık artışına ulaşmışlardır (Jiang ve ark., 2002). Crisa ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada, dokuz sığır ırkında MSTN geni ile besi performansı arasında herhangi bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir. Zhang ve ark. (2007)'nın yaptıkları çalışmada, Jiaxian sığır ırkında MSTN geni bakımından AA ve AB genotipli hayvanlar ile büyüme özellikleri arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Ancak, Nanyang sığır ırkında MSTN geni bakımında AA, AB ve BB genotipli hayvanlar ile büyüme özellikleri arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada, Siyah Alaca sığırlarda MSTN geni *Dra*I polimorfizmi bakımından AB genotipli hayvanların BSCA'na daha fazla etki ettiği görülmüştür. Bu bakımdan yapılacak bir seleksiyonda bu gen zaviyesinden AB genotipli hayvanların sürüde nisbi frekanslarının artırılması yetiştiricilere daha fazla gelir sağlayacaktır.

Kalpastatin geni kas proteini yıkımının bir inhibitörü olarak bilinmekte ve kas büyümesi ve et yumuşaklığını kontrol etmektedir. Putri ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada, Bali sığır ırkında CAST geni bakımında AG ve GG genotipli hayvanlar göz kası alanı (longissimus dorsi) ve sırt bölgesi yağlılığı (back-fat thickness) üzerine etki ettiği belirlenmiştir. Ancak AG ve GG ile büyüme özellikleri arasında bir ilişki olmadığı

tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada ise, Siyah Alacalarda BBCA'a CSAT geni bakımından AG genotipli, BSCA'a MSTN geni bakımından AB genotipli, CAA'a Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli ve GCAA'a CAST geni bakımından AG genotipli olan hayvanlar besi performansları üzerin etki ettikleri ortaya konulmuştur. Esmerlerde ise; BBCA'aMyf5 geni bakımından AB genotipli, BSCA'a Myf5geni bakımından AA genotipli, CAA'a MSTNgeni bakımından AA genotipli ve GCAA'a Myf5 geni bakımından AA ve BB genotipli olan hayvanlar besi performansları üzerin etki ettikleri ortaya konulmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hayvancılık alanında verimlerin artırılmasında ya da ıslahında yegâne yol seleksiyondur. Hayvancılık pratiğinde ekonomik özelliklerin tümü eklemeli ve etkileri küçük olan çok sayıda gen çifti tarafından determine edilmekte ve bu özellikler çevreden yoğun bir şekilde etkilenen kantitatif karakterlerdir. Bu özelliklerin çevreden etkilenmeleri seleksiyonun başarısını önemli ölçüde etkilemektedir. Dolayısıyla bu özelliklere etkili çevre faktörlerinin belirlenerek bu etkilerin ortadan kaldırılarak damızlık seçiminin yapılması seleksiyonun başarısını önemli ölçüde artıracaktır. Son zamanlarda moleküler genetik alanında yaşanan gelişmelerden dolayı kantitatif karakterleri kontrol eden genleri belirlemek mümkün hale gelmiştir. Günümüzde Türkiye'de et ihtiyacı için hayvan materyali genellikle yurt içinden temin edilse de zaman zaman tüketim ihtiyaçlarından dolayı yurt dışından bazen canlı bazen de direk karkaslar temin edilmektedir. Bu sebeple bu gen bölgeleri bakımından genetik yapının yurt dışından getirilen sığır ırklarında da belirlenmesi hem yetiştiricilik faaliyetlerinin etkinliğinin artırılması hem de ithal edilen hayvanların genetik kapasitelerinden daha fazla istifade edilmesinde önem arz etmektedir. Türkiye'de son zamanlarda özellikle sığır ırklarının ekonomik özelliklerini etkileyen genlerdeki polimorfizmi konu alan çalışma sayısında bir artış gözlenmiştir. Ancak bu araştırmalar verimle ilişkilendirildiğinde ekonomik açıdan bir değer kazanacaktır. Ekonomik değere sahip özellikler ile CAST, Myf 5 ve MSTN genleri arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, Siyah Alacaların ve Esmer sığırların allel frekansları MSTN geni bakımından sırasıyla A: 0.97, B: 0.03; A:0.88, B:0.12 olarak belirlenmiştir. Siyah Alacaların ve Esmer sığırların allel frekansları Myf5 geni bakımından sırasıyla A:0.30, B: 0.70; A:0.36, B:0.64 olarak bulunmuştur. Siyah Alacaların ve Esmer sığırların allel frekansları CAST geni bakımından sırasıyla A:0.43, G:0.56; A:0.65, G:0.35 olarak tespit edilmiştir. Her üç gen iki sığır ırkında da dikkate alındıklarında polimofik oldukları ortaya çıkmıştır.

CART analizine göre, Siyah Alacalarda BBCA'a CSAT geni bakımından AG genotipli, BSCA'a MSTN geni bakımından AB genotipli, CAA'a Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli ve GCAA'a CAST geni bakımından AG genotipli olan hayvanlar besi performansları üzerin etki ettikleri ortaya konulmuştur. Esmerlerde ise; BBCA'aMyf5 geni bakımından AB genotipli, BSCA'a Myf5geni bakımından AA

genotipli, CAA'a MSTNgeni bakımından AA genotipli ve GCAA'a Myf5 geni bakımından AA ve BB genotipli olan hayvanlar besi performansları üzerin etki ettikleri ortaya konulmuştur. Siyah Alaca ırkında CAST geni bakımından AG genotipli olan hayvanlar BBCA ve GCAA üzerine etkileri ortaya çıkmıştır. Esmer ırkında ise, Myf5 geni bakımından AA ve AB genotipli olan hayvanlar BBCA, BSCA ve GCAA üzerine etkileri belirlenmiştir. Bu bağlamda Myf5 ve CAST genleri besi performansı üzerine etkileri öne sürmüştür. Yapılacak olan seleksiyon programlarında bu genlerin pay alması önerilebilir.

İleride yapılacak olan çalışmalarda bu genlerin daha farklı bölgelerini incelemek ve sekanslarını araştırıp verimle ilişkili olan mutasyonları araştırılmalıdır.

Bu bakımdan yapılacak bir seleksiyon ya da beside ele alınan besi performans özelliklerine etkili olan bu genler yetiştiriciye maliyet açısından bir kazanç sağlayacaktır. Ayrıca bu çalışmada ele alınan besi performans özellikleri ile ilgili literatürde kaynağa rastlanılmamıştır. Bu bakımdan mevcut çalışma sonuçlarının bu genler bakımından gelecekte yapılacak çalışmalara kaynak oluşturması açısından katkı sağlayacaktır. Bu konuda yapılacak diğer çalışmalarla elde edilecek sonuçlar kıyaslanarak daha değerli veriler elde edilebilir. Bu nedenle bu konuda daha fazla çalışma yapılmalı ve sonuçlar pratiğe aktarılarak üreticilerin kazanç sağlamaları temin edilmelidir. Sadece kültür ırkı sığırlarda değil, yerli ırklarımızın da bu genler bakımından değerlendirilmesi, yapılacak seleksiyon çalışmalarına ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

Abd Manap, M. N., 2012, Functional polymorphisms : bovine calpastatin gene and meat tenderness. PhD thesis, University of Nottingham.

Agrawal, V. K., Gahlot, G., GuptA, S., PrakasH, S., Yadav, M. A. ve Thakur, S., 2017, Molecular Characterızatıon Of Myostatın Gene Affectıng Muscle Growth In Kankrej Cattle, *Haryana Vet.*, 56 (1), 25-28

Ağaoğlu, Ö. K., Akyüz, B., Kul, B. C., Bilgen, N. ve Ertuğrul, O., 2015, Genetic polymorphism of five genes associated with meat production traits in five cattle breeds in Turkey, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 21 (4), 489-497.

Akşahan, R. ve Keskin, İ., 2015, Sığırlarda Besi Sonu Canlı Ağırlığını Etkileyen Bazı Vücut Ölçülerinin Regresyon Ağacı Yöntemi ile Belirlenmesi, Selçuk Tar Bil Der, 2(1):53-59.

Anonim, 2015, Kırmızı et stratejisi. Ankara, Gıda tarım ve hayvancılık bakanlığı 43-51.

Anonim, 2017, Etbir kırmızı, 10.

Ardicli, S., Dincel, D., Samli, H. ve Balci, F., 2017, Effects of polymorphisms at LEP, CAST, CAPN1, GHR, FABP4 and DGAT1 genes on fattening performance and carcass traits in Simmental bulls, *Archives Animal Breeding*, 60 (2), 61-70.

Ata, N., 2012, Çine Çaparı ve Karya koyunlarda Calpastatin gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi, *Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Avanus, K., 2015, Genetic Variability of CAST Gene in Native Sheep Breeds of Turkey, Kafkas Univ Vet Fak Derg 21 (6): 789-794, 2015.

Aytekin, İ., 2011, Konuklar tarım işletmesinde yetiştirilen esmer sığırlarda leptin ve pit-1 geni polimorfizmleri ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkiler, Fen bilimleri enstitüsü, Konya.

Balcıoğlu, M., KARSLI, T., ŞAHİN, E., ULUTAŞ, Z. ve AKSOY, Y., 2013, Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Yerli Koyun Irklarında Kalpastatin (CAST) Geni Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20 (4), 427-433.

Bellinge, R., Liberles, D. A., Iaschi, S., O'brien, P. ve Tay, G., 2005, Myostatin and its implications on animal breeding: a review, *Animal genetics*, 36 (1), 1-6.

Bhuiyan, M., Kim, N., Cho, Y., Yoon, D., Kim, K. S., Jeon, J. ve Lee, J., 2009, Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle, *Livestock Science*, 126 (1), 292-297.

Bishop, M., Koohmaraie, M., Killefer, J. ve Kappes, S., 1993, Rapid communication: restriction fragment length polymorphisms in the bovine calpastatin gene, *Journal of animal science*, 71 (8), 2277.

Boman, I., Klemetsdal, G., Blichfeldt, T., Nafstad, O. ve Våge, D., 2009, A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (MSTN) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (Ovis aries), *Animal genetics*, 40 (4), 418-422.

Boman, I. A., Klemetsdal, G., Nafstad, O., Blichfeldt, T. ve Våge, D. I., 2010, Impact of two myostatin (MSTN) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White Sheep (Ovis aries), *Genetics Selection Evolution*, 42 (1), 4.

Bozhılova, S., M, DIMITROVA, I., TENEVA, A. ve PETROV, N., 2016, PCR-RFLP anaLysis oF MsTn gene in KaRaKaChan sheeP bReed, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22 (1), 115-117.

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

Cemal, İ. ve Karaca, O., 2012, ÇİftlİK Hayvanlarinda Major GenlerİN Belİrlenmesİ Ve GenotİP Ayrimi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21 (1), 105-115.

Cheville, N. F., 1999, Introduction to veterinary pathology, Wiley-Blackwell., p.

Chisada, S.-i., Okamoto, H., Taniguchi, Y., Kimori, Y., Toyoda, A., Sakaki, Y., Takeda, S. ve Yoshiura, Y., 2011, Myostatin-deficient medaka exhibit a double-muscling phenotype with hyperplasia and hypertrophy, which occur sequentially during post-hatch development, *Developmental biology*, 359 (1), 82-94.

Chung, E. ve Kim, W., 2005, Association of SNP marker in IGF-I and MYF5 candidate genes with growth traits in Korean cattle, *Asıan Australasıan Journal Of Anımal Scıences*, 18 (8), 1061.

Chung, H., Davis, M. ve Hines, H., 2001, Genetic variants detected by PCR–RFLP in intron 6 of the bovine calpastatin gene, *Animal genetics*, 32 (1), 53-53.

Cieslak, D., Kuryl, J., Kapelanski, W., Pierzchala, M., Grajewska, S. ve Bocian, M., 2002, Relationship between genotypes at at MYOG, MYF3 and MYF5 loci and

carcass meat and fat deposition traits in pigs, *Animal Science Papers and Reports (Poland)*.

Clop, A., Marcq, F., Takeda, H., Pirottin, D., Tordoir, X., Bibé, B., Bouix, J., Caiment, F., Elsen, J.-M. ve Eychenne, F., 2006, A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep, *Nature genetics*, 38 (7), 813.

Crisa, A., Marchitelli, C., Savarese, M. ve Valentini, A., 2003, Sequence analysis of myostatin promoter in cattle, *Cytogenetic and genome research*, 102 (1-4), 48-52.

Culley, G., 1807, Observations in Livestock. G. Woodfall, London.

Curi, R. A., Krauskopf, M. M., Hadlich, J. C., Fortes, M. R. S., Vankan, D. M., Silva, J. A. I., Oliveira, H. N. d. ve Mota, M. D. S. d., 2012, Candidate SNPs for carcass and meat traits in Nelore animals and in their crosses with Bos taurus, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47 (2), 294-301.

Daş, H., 2015, QTL Tespiti İçin Hayvanlarda Kullanılan Populasyonlar Ve İstatistiksel Metodlar, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4 (2), 270-291.

David, P. C., 2005, Molecular Biology: Understanding the genetic revolution, Amsterdam: Elsevier Academic Press.

De Smet, S., 2004, Double-muscled animals, In: Encyclopedia of meat sciences, Eds: Elsevier, p. 397-402.

Dehnavi, E., Ahani Azari, M., Hasani, S., Nassiry, M. R., Mohajer, M., Khan Ahmadi, A., Shahmohamadi, L. ve Yousefi, S., 2012, Polymorphism of myostatin gene in Intron 1 and 2 and Exon 3, and their associations with yearling weight, using PCR-RFLP and PCR-SSCP techniques in Zel sheep, *Biotechnology research international*, 2012.

Dekkers, J. C., 2004, Commercial application of marker-and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons, *Journal of animal science*, 82 (suppl_13), E313-E328.

Doğan, İ., 2003, Holştayn ırkı ineklerde süt verimine etki eden faktörlerin CHAID anaIİzi ile incelenmesi.

Dunner, S., Miranda, M. E., Amigues, Y., Cañón, J., Georges, M., Hanset, R., Williams, J. ve Ménissier, F., 2003, Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattlebreeds, *Genetics Selection Evolution*, 35 (1), 103.

Edyta, J.-K., Rosochacki, S., Krystyna Wicińska, Tomasz Szreder ve Sakowski, T., 2004, A novel RFLP/AluI polymorphism of the bovine calpastatin (CAST) gene and its association with selected traits of beef, Animal Science Papers and Reports vol. 22 (2004) no. 2, 195-204

Ekerljung, M., 2012, Candidate gene effects on beef quality, p.

Freking, B. A., Murphy, S. K., Wylie, A. A., Rhodes, S. J., Keele, J. W., Leymaster, K. A., Jirtle, R. L. ve Smith, T. P., 2002, Identification of the single base change causing the callipyge muscle hypertrophy phenotype, the only known example of polar overdominance in mammals, *Genome research*, 12 (10), 1496-1506.

Fujisawa-Sehara, A., Nabeshima, Y., Hosoda, Y. ve Obinata, T., 1990, Myogenin contains two domains conserved among myogenic factors, *Journal of Biological Chemistry*, 265 (25), 15219-15223.

Genxi, Z., Ying, T., Tao, Z., Jinyu, W. ve Yongjuan, W., 2014, Expression profiles and association analysis with growth traits of the MyoG and Myf5 genes in the Jinghai yellow chicken, *Molecular biology reports*, 41 (11), 7331-7338.

Gill, J., Bishop, S., McCorquodale, C., Williams, J. ve Wiener, P., 2009, Associations between the 11-bp deletion in the myostatin gene and carcass quality in Angus-sired cattle, *Animal genetics*, 40 (1), 97-100.

Grobet, L., Martin, L. J. R., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J., Schoeberlein, A., Dunner, S., Ménissier, F. ve Massabanda, J., 1997, A deletion in the bovine myostatin gene causes the double–muscled phenotype in cattle, *Nature genetics*, 17 (1), 71.

Grobet, L., Poncelet, D., Royo, L. J., Brouwers, B., Pirottin, D., Michaux, C., Ménissier, F., Zanotti, M., Dunner, S. ve Georges, M., 1998, Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle, *Mammalian Genome*, 9 (3), 210-213.

Guimaraes, S. E., Stahl, C. H., Lonergan, S. M., Geiger, B. ve Rothschild, M. F., 2007, Myostatin promoter analysis and expression pattern in pigs, *Livestock Science*, 112 (1), 143-150.

Gürses, M. ve Bayraktar, M., 2014, Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı, *Fırat Üniv Sağlık Bil Vet Derg*, 28 (2), 99-106.

Han, S.-H., Cho, I.-C., Ko, M.-S., Kim, E.-Y., Park, S.-P., Lee, S.-S. ve Oh, H.-S., 2012, A promoter polymorphism of MSTN g.− 371T> A and its associations

with carcass traits in Korean cattle, *Molecular biology reports*, 39 (4), 3767-3772.

Hanset, R., 1991, Breeding for disease resistance in farm animals, pp. 467–78. Axford, Wallingford, UK.

Hedayat-Evrigh, N., Miraei-Ashtiani, S., Shahrebabak, M. M., Vahedi, V. ve Abdi, H., 2016, Allelic Variation of MYF5 Gene Detected in the Camelus bactrianus, *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6 (2).

Hickford, J., Forrest, R., Zhou, H., Fang, Q., Han, J., Frampton, C. ve Horrell, A., 2010, Polymorphisms in the ovine myostatin gene (MSTN) and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney sheep, *Animal genetics*, 41 (1), 64-72.

Jeanplong, F., Sharma, M., Somers, W. G., Bass, J. J. ve Kambadur, R., 2001, Genomic organization and neonatal expression of the bovine myostatin gene, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 220 (1-2), 31-37.

Jiang, Y.-L., Li, N., Wu, C.-X. ve Du, L., 2001, Analysis on single nucleotide polymorphisms of porcine myostatin gene in different breeds, *Yi chuan xue bao= Acta genetica Sinica*, 28 (9), 840-845.

Jiang, Y.-L., Li, N., Du, L. ve Wu, C., 2002, Relationship of T--> A mutation in the promoter region of myostatin gene with growth traits in swine, *Yi chuan xue bao= Acta genetica Sinica*, 29 (5), 413-416.

Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T. P. ve Bass, J. J., 1997, Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle, *Genome research*, 7 (9), 910-915.

Karakaya, E., ÇELİK, Ş. ve TAYSİ, M. R., 2018, CHAID Algoritması ile Balık Eti Tüketimini Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Journal of AgriculturalFaculty of Gaziosmanpasa University, (2018) 35 (2), 85-93.

Kijas, J. W., McCulloch, R., Edwards, J. E. H., Oddy, V. H., Lee, S. H. ve Van der Werf, J., 2007, Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the ovine GDF8 locus, *BMC genetics*, 8 (1), 80.

Killefer, J. ve Koohmaraie, M., 1994, Bovine skeletal muscle calpastatin: cloning, sequence analysis, and steady-state mRNA expression, *Journal of animal science*, 72 (3), 606-614.

Kısacova, J., KÚBEK, A., MELUŠ, V., ČANAKYOVÁ, Z. ve ŘEHOUT, V., 2009, Genetic polymorphism of Myf-5 and myostatin in Charolais breed, *Journal of Agrobiology*, 26 (1), 7-11.

Korstanje, R. ve Paigen, B., 2002, From QTL to gene: the harvest begins, *Nature genetics*, 31 (3), 235-237.

Kök, S., Atalay, S., Savaşçı, M. ve Eken, H. S., 2013, Characterization of calpastatin gene in purebred and crossbred Turkish Grey Steppe cattle, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19 (2), 203-206.

Kunhareang, S., Zhou, H. ve Hickford, J. G., 2009, Allelic variation in the porcine MYF5 gene detected by PCR–SSCP, *Molecular biotechnology*, 41 (3), 208-212.

Leveau, C., 2008, Candidate Genes for Beef Quality: Allele Frequencies in Swedish Beef Cattle, *Sveriges lantbruksuniversitet*.

Li, C., Basarab, J., Snelling, W., Benkel, B., Murdoch, B., Kneeland, J., Hansen, C. ve Moore, S., 2002a, Identical by descent haplotype sharing analysis: application in fine mapping of QTLs for birth weight in commercial lines of Bos taurus, *Proc. 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. Montpellier, France*, 481-484.

Li, C., Basarab, J., Snelling, W., Benkel, B., Murdoch, B., Hansen, C. ve Moore, S., 2004, Assessment of positional candidate genes 5 and 1 for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of, *Journal of animal science*, 82 (1), 1-7.

Li, J., Lu-Pei Zhang, Qian-Fu Gan, J.-Y. L., Hui-Jiang Gao, Zheng-Rong Yuan, ve Xue Gao, J.-B. C. a. S.-Z. X., 2010, Association of CAST Gene Polymorphisms with Carcass and Meat Quality Traits in Chinese Commercial Cattle Herds, Asian-Aust. J. Anim. Sci.Vol. 23, No. 11 : 1405 - 1411.

Li, S., Xiong, Y., Zheng, R., Li, A., Deng, C., Jiang, S., Lei, M., Wen, Y. ve Cao, G., 2002b, Polymorphism of porcine myostatin gene, *Yi chuan xue bao= Acta genetica Sinica*, 29 (4), 326-331.

Liu, M., Peng, J., Xu, D., Zheng, R., Li, J., Zuo, B., Lei, M., Xiong, Y., Deng, C. ve Jiang, S., 2007, Associations of MYF5 gene polymorphisms with meat quality traits in different domestic pig (Sus scrofa) populations, *Genetics and Molecular Biology*, 30 (2), 370-374.

Liu, M., Peng, J., Xu, D.-Q., Zheng, R., Li, F.-E., Li, J.-L., Zuo, B., Lei, M.-G., Xiong, Y.-Z. ve Deng, C.-Y., 2008, Association of MYF5 and MYOD1 gene polymorphisms and meat quality traits in Large White× Meishan F2 pig populations, *Biochemical genetics*, 46 (11-12), 720-732.

Lonergan, S. M., Ernst, C., Bishop, M., Calkins, C. R. ve Koohmaraie, M., 1995, Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness, *Journal of animal science*, 73 (12), 3608-3612.

Maak, S., Neumann, K. ve Swalve, H., 2006, Identification and analysis of putative regulatory sequences for the MYF5/MYF6 locus in different vertebrate species, *Gene*, 379, 141-147.

Majidi, A., Jothi Malar Panandam, and, A. Q. S. ve Siraj, S. S., 2009, Characterization of Bovine Calpastatin Gene in Nelore Cattle Using Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphisms, American Journal of Animal and Veterinary Sciences 4 (4): 92-94, 2009

McPherron, A. C. ve Lee, S.-J., 1997a, Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94 (23), 12457-12461.

McPherron, A. C., Lawler, A. M. ve Lee, S.-J., 1997b, Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-p superfamily member, *Nature*, 387 (6628), 83.

Miranda, M., Dunner, S., Amigues, Y., Bosher, M., Bourgeois-Bossaert, F., Cañón, J., Cortés, O., Georges, M., Grobet, L. ve Hanset, R., 2000, SNP screening at the myostatin gene level in European cattle breeds, *Proceedings of 27th International Conference on Animal Genetics Minneapolis, USA*.

Moghadam, H., Ferguson, M., Rexroad, C., Coulibaly, I. ve Danzmann, R., 2007, Genomic organization of the IGF1, IGF2, MYF5, MYF6 and GRF/PACAP genes across Salmoninae genera, *Animal genetics*, 38 (5), 527-532.

Mosher, D. S., Quignon, P., Bustamante, C. D., Sutter, N. B., Mellersh, C. S., Parker, H. G. ve Ostrander, E. A., 2007, A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs, *PLoS genetics*, 3 (5), e79.

Nasr, S., Ateya, A., Sadek, K. ve Radwan, H., 2016, Effect of Genetic Polymorphisms in GH/Hpa II and MSTN/Dra I Loci on Body Weight in Friesian Bull Calves, *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 19 (8-9), 338.

Nattrass, G., Quigley, S., Gardner, G., Bawden, C., McLaughlan, C., Hegarty, R. ve Greenwood, P., 2006, Genotypic and nutritional regulation of gene expression in two sheep hindlimb muscles with distinct myofibre and metabolic characteristics, *Australian Journal of Agricultural Research*, 57 (6), 691-698.

Nguyen, T. K. K. ve Nguyen, T. N., 2013, Effects of myogenic factor 5 (MYF5) gene on carcass and meat quality of Mong Cai pigs, *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 43 (2), 213-218.

Nugroho, H., Busono, W. ve Maylinda, S., 2017, Polymorphisms of the Myostatin gene (MSTN) and its associationwith growth traits in Bali cattle, *Indian Journal of Animal Research*, 51 (5), 817-820.

O'Rourke, B. A., 2010, Genetic variation in the bovine myostatin gene and its effect on muscularity.

Othman, O. E., Balabel, E. A. ve Mahfouz, E. R., 2016, Genetic characterization of myostatin and callipyge genes in Egyptian small ruminant breeds, *Biotechnology*, 15 (1/2), 44.

Önenç, A., 2013, Etbir kırmızı, Et verim yönlü sığır ırklarının önemi 30-32.

Öz, A., 2009, Yerli sığır ırklarında myostatin gen polimorfizminin araştırılması, *Yüksek lisans tezi. ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış), Zootekni …*.

Park, S.-J., Ha, J., Kim, I.-S., Kwon, S. G., Hwang, J. H., Park, D. H., Kang, D. G., Kim, T. W., Kim, S. W. ve Kim, C. W., 2015, Effects of LEP, GYS1, MYOD1, and MYF5 polymorphisms on pig economic traits, *Annals of Animal Science*, 15 (3), 629-640.

Putri, R., Priyanto, R. ve Gunawan, A., 2015, Association of Calpastatin (CAST) Gene with Growth Traits and Carcass Characteristics in Bali Cattle, *Media Peternakan*, 38 (3), 145-149.

Reece, R. J., 2004, Analysis of genes & genomes. (Chapter 9). West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd.

Robakowska-Hyżorek, D., Oprządek, J., Żelazowska, B., Olbromski, R. ve Zwierzchowski, L., 2010, Effect of the g.–723G→ T polymorphism in the bovine myogenic factor 5 (Myf5) gene promoter region on gene transcript level in the longissimus dorsi muscle and on meat traits of polish Holstein-Friesian cattle, *Biochemical genetics*, 48 (5-6), 450-464.

Sabourin, L. A. ve Rudnicki, M. A., 2000, The molecular regulation of myogenesis, *Clinical genetics*, 57 (1), 16-25.

Sahu, A. R., Jeichitra, V., Rajendran, R. ve Raja, A., 2017, Polymorphism in exon 3 of myostatin (MSTN) gene and its association with growth traits in Indian sheep breeds, *Small Ruminant Research*, 149, 81-84.

Saunders, M. A., Good, J. M., Lawrence, E. C., Ferrell, R. E., Li, W.-H. ve Nachman, M. W., 2006, Human adaptive evolution at Myostatin (GDF8), a regulator of muscle growth, *The American Journal of Human Genetics*, 79 (6), 1089-1097.

Savaşçı, M., 2014, Bazı yerli sığır ırklarında kalpastatin ve thyroglobulin gen polimorfizmlerinin araştırılması, doktora tezi, sağlık bilimleri enstitüsü, Ankara.

Schenkel, F., Miller, S., Jiang, Z., Mandell, I., Ye, X., Li, H. ve Wilton, J., 2006, Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle, *Journal of animal science*, 84 (2), 291-299.

Schuelke, M., Wagner, K. R., Stolz, L. E., Hübner, C., Riebel, T., Kömen, W., Braun, T., Tobin, J. F. ve Lee, S.-J., 2004, Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child, *New England Journal of Medicine*, 350 (26), 2682-2688.

Seong, J., Oh, J. D., Cheong, I. C., Lee, K. W., Lee, H. K., Suh, D. S., Jeon, G. J., Do Park, K. ve Kong, H. S., 2011, Association between polymorphisms of Myf5 and POU1F1 genes with growth and carcass traits in Hanwoo (Korean cattle), *Genes & Genomics*, 33 (4), 425-430.

Shah, M., Qureshi, A., Reissmann, M. ve Schwartz, H., 2007, Single nucleotide polymorphism in the coding region of MYF5 gene of the camel (Camelus dromedarius), *Pakistan Veterinary journal*, 27 (4), 163.

Smith, J., Lewis, A., Wiener, P. ve Williams, J., 2000, Genetic variation in the bovine myostatin gene in UK beef cattle: allele frequencies and haplotype analysis in the South Devon, *Animal genetics*, 31 (5), 306-309.

Söbeli, C. ve Kayaardı, S., 2014, Et Kalitesini Belirlemede Yeni Teknikler, *GIDA/THE JOURNAL OF FOOD*, 39 (4).

Stinckens, A., Bijttebier, J., Luyten, T., Van Den Maagdenberg, K., Harmegnies, N., De Smet, S., Georges, M. ve Buys, N., 2005, Detection of polymorphisms in the myostatin gene in Belgian Pietrain pigs, *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 70 (2), 37.

Stinckens, A., Luyten, T., Bijttebier, J., Van den Maagdenberg, K., Dieltiens, D., Janssens, S., De Smet, S., Georges, M. ve Buys, N., 2008, Characterization of the complete porcine MSTN gene and expression levels in pig breeds differing in muscularity, *Animal genetics*, 39 (6), 586-596.

Şahin, C. ve Akyüz, B., 2017, Türkiye'de yetiştirilen beş sığır ırkında MYF5 gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi.

Tang, Y., Zhang, T., Zhang, G., Wang, J., Fan, Q., Chen, X., Wei, Y., Han, K. ve Wang, Y., 2014, Eight SNPs of the Myf5 gene and diplotypes associated with growth and reproductive traits in Jinghai yellow chicken, *Molecular biology reports*, 41 (10), 6837-6844.

Te Pas, M., Soumillion, A., Harders, F., Verburg, F., Van den Bosch, T., Galesloot, P. ve Meuwissen, T., 1999a, Influences of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness, and lean weight of pigs, *Journal of animal science*, 77 (9), 2352-2356.

Te Pas, M., Harders, F., Soumillion, A., Born, L. ve Buist, W., 1999b, Genetic variation at the porcine MYF-5 gene locus. Lack of association with meat production traits, *Mammalian Genome*, 10 (2), 123-127.

Te Pas, M., Verburg, F., Gerritsen, C. ve De Greef, K., 2000, Messenger ribonucleic acid expression of the MyoD gene family in muscle tissue at slaughter in relation to selection for porcine growth rate, *Journal of animal science*, 78 (1), 69-77.

te Pas, M. F., Hulsegge, I., Coster, A., Pool, M. H., Heuven, H. H. ve Janss, L. L., 2007, Biochemical pathways analysis of microarray results: regulation of myogenesis in pigs, *BMC Developmental Biology*, 7 (1), 66.

Ujan, J., Zan, L., Ujan, S., Adoligbe, C. ve Wang, H., 2011a, Back fat thickness and meat tenderness are associated with a 526 T> A mutation in the exon 1 promoter region of the MYF-5 gene in Chinese Bos taurus, *Genetics and Molecular Research*, 10 (7), 3070-3079.

Ujan, J., Zan, L., Wang, H. ve Ujan, S., 2011b, The effect of myogenic factor 5 polymorphism on the meat quality in chinese Bos Taurus, *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*, 76 (4), 373-377.

Verner, J., Humpolíček, P. ve Knoll, A., 2007, Impact of MYOD family genes on pork traits in Large White and Landrace pigs, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124 (2), 81-85.

Wang, J., Hu, Y., Elzo, M. A., Shi, Y., Jia, X., Chen, S. ve Lai, S., 2017, Genetic effect of Myf5 gene in rabbit meat quality traits, *Journal of Genetics*, 96 (4), 673-679.

Wendt, A., Thompson, V. F. ve Goll, D. E., 2004, Interaction of calpastatin with calpain: a review, *Biological chemistry*, 385 (6), 465-472.

Wiener, P., Smith, J. A., Lewis, A. M., Woolliams, J. A. ve Williams, J. L., 2002, Muscle-related traits in cattle: the role of the myostatin gene in the South Devon breed, *Genetics Selection Evolution*, 34 (2), 221.

Wu, J., Cao, L., Li, M., Du, N., Huang, H. ve Jin, Y., 2013, Myf5 gene polymorphisms and production performance traits in Songliao white geese, *Genetics and Molecular Research*, 12 (4), 6052-6058.

Xing-ping, Zhuo-ma L, Feng, L., De-cai, ve LI, X., D,, 2014, Identification of SNPs in Myf5 and Pax7 Genes and Association Analysis with Body Measurement Traits in Xiangxi Cattle, *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 1531-1537.

Yin, H., Zhang, Z., Lan, X., Zhao, X., Wang, Y. ve Zhu, Q., 2011, Association of Myf5, MyF6 and MyOG gene polymorphisms with carcass traits in Chinese Meat Type Quality chicken populations, *J Anim Vet Adv*, 10 (10), 704-708.

Yin, Z., Dong, X., Dong, D. ve Ma, Y., 2016, Association of MYF5 and KLF15 gene polymorphisms with carcass traits in domestic pigeons (Columba livia), *British poultry science*, 57 (5), 612-618.

Zhang, R., Chen, H., Lei, C., Zhang, C., Lan, X., Zhang, Y., Zhang, H., Bao, B., Niu, H. ve Wang, X., 2007, Association between polymorphisms of MSTN and MYF5 genes and growth traits in three Chinese cattle breeds, *ASIAN AUSTRALASIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCES*, 20 (12), 1798.

Zhu, M. ve Zhao, S., 2007, Candidate gene identification approach: progress and challenges, *International journal of biological sciences*, 3 (7), 420.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Marwan FADHIL
Uyruğu : IRAK
Doğum Yeri ve Tarihi : KERKÜK 26/12/1988
e-mail : Mervan.bayraktar@gmail.com

EĞİTİM

Derece

Üniversite : **Kerkük üniversitesi**
Yüksek Lisans : **Ondokuz mayıs üniversitesi**
Doktora : **Şelçuk üniversitesi**

UZMANLIK ALANI

Moleküler genetik, Hayvan yetiştirme, Hayvan ıslahı

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

AKADEMİK YAYINLAR

1. **FADHIL**, Marwan; MERCAN, Levent. Molecular characterization of Mx gene polymorphism in Gerze chicken breed and pure line chicken breed. *Animal Research International*, 2016, 13.3: 2540.
2. HASSAN, Husain Fadhil; **FADHIL**, Marwan Hussein; FADHIL, Zeynab Hussein. Molecular characterization of Echinococcus granulosus isolated from human and domestic animals in Kirkuk, Iraq. *Animal Research International*, 2016, 13.3.
3. **FADHIL**, Marwan; ZÜLKADIR, Uğur. Molecular Characterization of MSTN Gene in Holstein Friesians and Brown Swiss Cattle Breeds. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 2017, 31.3: 151-153.

4. **FADHIL**, Marwan; ZÜLKADİR, Uğur; AYTEKİN, İbrahim. Genetic Diversity in Farm Animals. *Elixir International Journal*, 2018, 50032-50037.

Kongre bildirisi

MERCAN, Levent; **FADHIL**, Marwan; OKUMUŞ, Ahmet. Gerze Tavuğu'nda Mx Geni Polimorfizminin Moleküler Karakterizasyonu. *8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi,* 2013.

YÜRÜTÜLEN PROJELER

1. Yerli Kara ve Siyah Alaca sığırlarda Süt verimi ile İlgili Bazı Genlerin Karakterizasyonu, Selçuk üniversitesi bilimsel araştırma projeleri koordinatörlüğü (Yardımcı Araştırmacı).