

**AFYONKARAHİSAR BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN HOLSTEİN
SIĞIRLARDA SÜT VERİMLİLİĞİ İLE İLİŞKİLİ PIT 1 GENİ
MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Pelin GEZER BİLECEN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Cevdet UĞUZ

Afyonkarahisar

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MEDİKAL BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

AFYONKARAHİSAR BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN HOLSTEİN
SİĞİRLARDA SÜT VERİMLİLİĞİ İLE İLİŞKİLİ PIT 1 GENİ
MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Pelin GEZER BİLECEN

Danışman

Prof. Dr. Cevdet UĞUZ

AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Pelin GEZER BİLECEN

ÖZET

AFYONKARAHISAR BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN HOLSTEIN SIĞIRLARDA SÜT VERİMLİLİĞİ İLE İLİŞKİLİ PIT 1 GENİ MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Bu araştırmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan Holstein sığır ırkına ait kanlardan 81 adet örnek üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada Memeli organizmalarda büyüme hormonu geninin ekspresyonundan sorumlu olan (Renaville vd. 1997) sığırların 1 numaralı kromozomu üzerinde yer aldığı ve Hinfl enzimi kullanılarak da polimorfik varyantlarının saptanabileceği belirlenmiş (Moddy vd. 1995) olan Pit-1 geninin (Pituitary-specific transcription factor) mutasyonu saptanmaya çalışılmıştır. Çalışmada memelilerde büyüme gelişmede rolü olduğu bilinen bunun yanında süt üretimi ile ilişkili olduğu düşünülen Pit-1 genindeki mutasyonlar saptanmaya çalışılmıştır.

Sığırlar üzerinde yapılan ilişkilendirme çalışmalarında, süt verimi ile ilişkili birçok markör genin olduğu bildirilmiştir (Jiang vd. 2010). Bu genin sığırlarda süt üretimini ile ilişkili MAS aday gen olarak görüldüğünden daha kapsamlı incelenmesi mutasyonların tespit edilmesi için daha uzun süreli ve daha kapsamlı bir çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu gen üzerine yapılan farklı ırklar ve farklı coğrafi bölgelerde yetişen popülasyon üzerinde yapılmış çalışmalar ile karşılaştırıldığında genel olarak benzer sonuçlar ortaya koyulduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Pit 1 geni, holstein sığırlar, süt verimliliği

SUMMARY

INVESTIGATION OF PIT 1 GENE MUTATIONS ASSOCIATED WITH MILK FERTILITY IN HOLSTEIN CATTLE RAISED IN AFYONKARAHISAR REGION

In this study, 81 samples of blood from Holstein cattle breed in Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Medical Biology and Genetics were studied. In the study, it was determined that the Pit-1 gene (Pituitary-specific transcription factor), which is responsible for the expression of the growth hormone gene in mammalian organisms (Renaville et al. 1997), is located on the 1st chromosome of cattle and its polymorphic variants can be detected using the HinfI enzyme (Moddy et al., 1995). Mutation was tried to be detected. In the study, mutations in the Pit-1 gene, which is known to have a role in growth and development in mammals, as well as thought to be associated with milk production, were tried to be determined.

In association studies on cattle, it has been reported that there are many marker genes associated with milk yield (Jiang et al., 2010). Since this gene is seen as a MAS candidate gene associated with milk production in cattle, a longer and more comprehensive study is needed to detect mutations. When compared with the studies on this gene on populations grown in different races and different geographical regions, it was seen that generally similar results were revealed.

Keywords: Pit 1 gene, holstein cattle, milk productivity

ÖNSÖZ

Günümüz modern dünyada artan nüfus artışı ve doğal gıda ihtiyacı nedeni ile hayvansal kökenli gıdalar arasında bulunan sütün önemi de artmaktadır. Bir litre inek sütü yetişkin bir insanın ihtiyaç duyduğu günlük kalsiyum, fosfor, B2 ve B12 vitaminleri ihtiyacının tamamını karşılarken, protein ihtiyacının ise yaklaşık yarısını karşıladığı bilinmektedir. Besin açısından bu kadar değerli olan ve birçok gıdanın ham maddesi olan süt üretiminin artması önem arz etmektedir. Ülkemizde uzun yıllardır süre gelen hayvancılık kırsal bölgelerde yapılan geleneksel yöntemler yerini teknolojik tesislere bırakmaya başlamıştır. Son yıllarda teknolojik gelişmeler ışığında gerçekleştirilen Türkiye'deki yıllık süt verimi 2010 yılında hayvan başına 2847 kg iken, 2018 yılında sadece %11'lik artışla 3161 kg'a çıkmıştır. Buna karşın 2010 yılında 3.5 milyon baş olan Türkiye'deki saf sütçü sığır ırkı varlığı, 2018 yılında yaklaşık %37'lik artışla 4.9 milyon başa çıkmıştır. Bu dönemler arasında hayvan sayısındaki artış ile sağılan hayvan başına yıllık süt veriminde ki artışın doğru orantılı olmaması, Türkiye'de süt üretimi için kullanılan hayvanların verimlerinin düşük olduğunun ve süt sığırlarının verimlerinin artırılmasının gerekli olduğunu ortaya koymaktadır. Ülkemizde süt verimi ekonomik olarak sığır yetiştiriciliğinde önemli bir kaynak olarak kullanılmaktadır. Süt veriminin düşmesi nedeni ile sığırlar kesime erken verilmekte böylece ortalama doğum sayısı da bu oran da düşmektedir buna bağlı doğum sayısının azalmasına neden olduğundan dolayı yoldan et verimini de etkilemekte böylece hayvancılıkta ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu durumlar göz önüne alındığında ıslah çalışmalarının önemi daha çok önem kazanmaktadır.

Büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde kırsal da ve yetiştirme tesislerinde farklı ırklar kullanılmaktadır. Bu ırklardan en yaygın olanı süt verimi ile öne çıkan Holstein (Siyah Alaca) ırkıdır. Sürü içinde istenen genlerin frekansını artırmak için yapılacak olan çalışmalarda aday bir gen olması sebebi ile pit1 genin de oluşan mutasyonların incelenmesi amacı ile yapılmıştır.

Bu çalışma ve yüksek lisans eğitim dönemim boyunca tecrübeleri ile yol gösteren her daim desteğini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Cevdet UĞUZ'a, çalışmamın tüm aşamasında bana tecrübe ve bilgi birikimleriyle destek olan Prof. Dr. Metin ERDOĞAN' a, yüksek lisans eğitimim süresince sahip oldukları bilgileri benimle

paylaşan ve değerli vakitlerini bana ayıran bölümümün değerli hocaları Prof. Dr. Mine AKBULUT ve Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk LENGER' e en içten teşekkürlerimi sunarım. Lisans ve yüksek Lisans eğitimim boyunca bana manevi destek olan ve bilgi birikimini paylaşan Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi Doç. Dr. Sevim Feyza ERDOĞMUŞ hocama teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamda finansal destek sağlayarak katkılarını esirgemeyen Afyon Kocatepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim. Ayrıca Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Arş. Gör. Eda DEMİRTAŞ 'a laboratuvar çalışmalarımda ki emeklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım, manevi desteklerinden ötürü yüksek lisans öğrencisi Zeynep Nur ÇİNKAYA teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi eğitimim boyunca yanımda olan çalışmamın her sürecinde maddi manevi desteğini esirgemeyen varlığı ile bana güç veren bölümümün bana en büyük hediyelerinden olan dönem arkadaşım ve sevgili eşim Cihat BİLECEN' e, dünyaya gelmesi ile bana yeni bir hayat veren, yepyeni bir ben tanıtan değerlim, kızım Doğa'ma, bu yolda yanımda olan her düştüğümde elimden tutan babam Musa GEZER, annem Nazlı GEZER ve ablam Berna ÇAM' a sonsuz teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Süt ve Sütün Önemi	2
1.2 Siyah Alaca (Holstein Friesian).....	4
1.2.1. Holştayn Sığırların Özellikleri	6
1.2.2. Süt Verimi Özellikleri	6
1.2.2.1 Laktasyon Süresi	6
1.3.Genetik Yaklaşımlar	8
1.4.PIT-1 (Hipofiz Özel Transkripsiyon Faktörü) Geni ve Süt Üretimine Etkisi.....	9
1.5.DNA Polimorfizmi	12
2.MATERYAL VE METOT	16
2.1. Materyal	16
2.1.1. Hayvan Materyali	16
2.1.2. Kullanılan Teknik Aletler.....	16
2.1.2.1. PCR Cihazı.....	16
2.1.2.2. Yatay Elektroforez Sistemi	16
2.1.2.3. Jel Görüntüleme Sistemi	16
2.2. Metot.....	17

2.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	17
2.2.2. DNA İzolasyonu.....	17
2.2.3 Primer Tasarım.....	18
2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	18
2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi.....	18
2.2.6. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism)	19
2.2.7. İstatistik Analiz	19
3. BULGULAR	21
4. TARTIŞMA.....	23
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	26
6. KAYNAKLAR.....	27
8. EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
9.ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BÇ	Baz çifti
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ESK	Et Ve Süt Kurumu
GH	Growth Hormon (Büyüme Hormonu)
MAS	Markör Destekli Seleksiyon
ml	Mililitre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pit-1	Hipofiz Spesifik Pozitif Transkripsiyon Faktörü 1
PRL	Prolaktin Hormonu
RAPD	Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA
RE	Restriksiyon Endonükleaz
RFLP	Restriksiyon Arttırılmış Polimorfik DNA
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
TSH	Tiroid Uyarıcı Hormon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	PİT-1'in hücredeki bölümü ve görevleri (Koumakis vd., 2019)	10
Şekil 3.1	Pit-1 intron 5- ekzon 6 bölgesinin PCR ürünü ve HinfI kesim bölgesi	21

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1	TÜİK hayvansal üretim istatistikleri, 2015	3
Tablo 1.2	ESK sütün besin değeri	3
Tablo 1.3.	Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan farklı ırkların sütün verimleri (ESK)	4
Tablo 3.1.	Çalışma sonucunda elde frekans değeri ve χ^2 testi	22

RESİMLER DİZİNİ

Resim.1.1 Holştayn sığır ırkı

5

1.GİRİŞ

Günümüzde dünya mevcut sığır nüfusunun genetik ıslahında diğer ırklara kıyasla tercih edilen sığır ırkları genellikle Avrupa kökenli ırklardır. Bun ırklar arasında Holstein (Siyah Alaca) sığırlar dünyanın farklı bölgelerine uzun zaman önce götürülerek yetiştirilmeye başlanmıştır. Hollanda, Almanya ve Danimarka' nın Kuzey Denizi kıyılarındaki düzlük arazilerde yetiştirilen ata sığırların günümüzde ki aile üyeleri Siyah Alacalar dünyada en çok yetiştiriciliği yapılan sığır ırklarının başındadır, bunun nedeni süt üretim kapasitesinin fazla olmasının yanı sıra farklı iklim şartlarına hızlı uyum sağlama yeteneklerinin de yüksek olmasıdır. Siyah Alacaların fenotipik özelliklerinden kıl rengi siyah beyaz olan varyasyonda en geniş yayılıma sahiptir. Özellikle 1950'li yılların başında başlayan hayvan ıslah programlarının etkisiyle Siyah Alaca sığırlar başta süt verimi olmak üzere birçok yönü ile diğer bakımı ve yetiştiriciliği yapılan ırklardan farkını ortaya koyabilmiştir. Amerikan, Hollanda ve İsrail Siyah Alaca alt ırkları ise yapılan genetik iyileştirme faaliyetleri sonucunda günümüzde olduğu görülmektedir. Süt verimi açısından Amerikan Siyah Alacaları, sütteki yağ ve protein açısından Hollanda Siyah Alacaları, iklimsel koşullardan sıcaklık koşullarına dayanıklılık özelliği ile İsrail Siyah Alacaları öne çıkmaktadır. (Anonim, 2019). Siyah Alacalar süt verimine ek olarak beside yetiştiricilere et verimi ile de gelir getirmesi sayesinde iyi bir besi materyali de ve potansiyeli oluşturmaktadır. Yaşamlarının 15. Aynaya ulaştıklarında erkek danalar beside 1 kg'ın üzerinde canlı ağırlığa ulaşarak 500-600 kg ağırlığa ulaşabilmektedir. Memelilerin doğum anından süt veriminin kesilmesi arasında kalan süt verdiği süre olan laktasyon dönemi, yetiştiricilerin daha az giderle çok kar elde etmeyi hedefledikleri zaman aralığıdır. Çalışmada incelenecek olan Holstein ırkı sığırları, Türkiye'de yetiştiricilerin süt üretiminde yoğun olarak kullanıldığı bilindiğinden çalışmada materyal olarak tercih edilmiştir. Sığırlarda seleksiyon çalışmasının amacı ilk olarak süt ve et verim özelliklerinin ıslahını amaçlamaktadır. Birçok farklı gen tarafından kontrol edilen kantitatif özelliklerde fenotipik değer çoğu kez genotipik değeri iyi bir şekilde yansıtmamakla beraber fenotipe dayalı seleksiyon verimliliği de azaltmaktadır. Bu durum sebebi ile önemli bulunan özelliğin genotipik değerlerinin de biliniyor olması önemlidir. Günümüzde gelişen yeni moleküler genetik yöntemleri, sürü içinde verimli bireylerin belirlenerek bu bireylerin yavrulamada da verimli bireylerin doğumu için önemsenen özelliklerle

yüksek bir korelasyon gösteren, erken dönemlerde ve cinsiyete bağlı kalmaksızın tespit edilebilen genetik markör ya da karakterlerden yararlanmayı mümkün hale getirebilmektedir. Pit 1 (pituitary-specific transcription factor Pit-1);GH faktör-1 ya da POU1F1 olarak da adlandırılmakta ve GH, PRL ve TSH-beta alt birimi ekspresyonlarında pozitif düzenleyici bir rol oynadığı bilinmektedir. PRL ve GH, meme bezi gelişimi ve süt verimi için gerekli olduğu eski çalışmalardan bilindiğinden, Pit-1 geni özellikle sürü hayvanlarının verim özelliklerinde görülen genetik varyasyon için markör olması potansiyelinde olduğu düşünülmektedir. Bu çerçeveden bakıldığında Pit-1 geninin süt, et ve diğer verim özellikleriyle ilişkilerinin tespit edilmesi, MAS programlarında aktif kullanım imkanı için yetiştiricilik ve doğru seleksiyonlama da genetik markörlerin tanımlanmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamız Afyonkarahisar bölgesinde yetiştirilen Holstein sığırlardan 96 başında Pit 1 genin mutasyonlarının araştırılmasını amaçlamaktadır.

1.1 Süt ve Sütün Önemi

Süt ve sütün ham madde olarak kullanılarak üretildiği süt ürünleri insan beslenme sürecinde önemli bir kaynak olduğu bilinmektedir. Beslenme alışkanlıklarımızın önemli bir bölümünü kapsayan süt ve süt kaynaklı besinler dengeli ve sağlıklı beslenebilmek için önemlidir. Süt ve süt ürünleri; protein, kalsiyum, fosfor, B2 vitamini ve B12 vitamini olmak üzere birçok besin ögesinin temel kaynağı olduğu bilinmektedir. Süt, hayvanların meme bezlerinin bir sekresyonu olup asıl amacı yavruyu beslemek olan yağ, protein, mineral madde ve sudan oluşan karmaşık bir yapı olduğu bilinmektedir. Farklı hayvanların sütlerinin bileşimi farklılık gösterse de genel olarak besin değerleri yüksek olduğu bilinmektedir.(Tablo 1.2) .Tüketilen sütler sağlandığı hayvanlar açısından toplumların kültürlerine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Ancak ülkemizde süt söz konusu olduğunda akla ilk gelen inek sütü olmaktadır, buna karşın tüketilmekte olan sütler inek, keçi, koyun ve manda sütü olarak dört çeşittir. (Et ve Süt Kurumu:2017). Buna rağmen 2014-2015 yıllarında ki üretim temel alınarak ASUİD tarafından paylaşılan verilerine göre (tablo1.1) sığırlardan elde edilen süt toplam süt üretiminin %90,8 ini oluşturmaktadır.

Tablo 1.1 Türk Hayvansal Üretim İstatistikleri, 2015

Tür ve ırklara göre süt üretimi 2014-2015		2014			2015		
Hayvan türleri	Miktar (Ton)	Pay(%)	Miktar (Ton)	Pay(%)	Miktar (Ton)	Pay(%)	
Süt üretimi	18630859	100	18654682	100			
Sığır	16998850	91,2	16933520	90,8			
Kültür	9383812	55,2	9672573	57,1			
Kültür melezi	6628337	39,0	6315366	37,3			
Yerli	966701	5,8	945581	5,6			
Koyun	1113937	6,0	1177228	6,3			
Merinos	44496	0,2	47990	0,3			
Yerli	1069441	5,7	1129237	6,1			
Keçi	463270	2,5	481174	2,6			
Kıl keçisi	460518	2,5	477824	2,6			
Tiftik keçisi	2752	0,0	3350	0,0			
Manda	54803	0,3	62761	0,3			

Tablo 1.2 ESK sütün besin değeri

SÜTLER	SU(%)	PROTEİN(%)	YAĞ(%)	LAKTOZ(%)	MİNERAL MADDE(%)
İnek sütü	87,3	3,4	3,5	4,8	0,75
Keçi sütü	87,14	3,71	4,09	4,20	0,78
Koyun sütü	82,90	5,44	6,24	4,29	0,85
Manda sütü	82,09	4,16	7,96	4,86	0,78

İnsan beslenmesinde bu kadar önemli olan süt ekonomik olarak da büyük öneme sahiptir. Ülkemizin coğrafi şartları göz önünde bulundurulduğunda küçük ve büyükbaş hayvancılığı açısından uygun şartlara sahip olduğu görülmektedir. Geçmişte daha geleneksel yöntemlerle kırsalda yapılan hayvancılık günden güne teknolojik gelişmelerin ışığında büyük üretim tesislerine dönüşmektedir. Ülkemizde büyükbaş hayvancılıkta süt üretimi açısından diğer ırklara göre daha önde olan Holstein ırkı sığırların yetiştiriciliği önem kazanmaktadır.

1.2 Siyah Alaca (Holstein Friesian)

Siyah Alaca yetiştiriciliği yapılan ırklar içerisinde süt verimi ile tercih edilen sığır ırklarındandır.(tablo 1.3). Süt üretim kapasitelerinin diğer ırklara göre fazla olmasının yanında farklı iklim özelliklerine adaptasyon kabiliyetlerinin yüksek olmaları nedeniyle son zamanlarda yetiştiriciliği sayısal olarak geniş bir artışa neden olmuştur. Siyah Alaca ırkının ilk olarak görüldüğü yer Hollanda'nın Frizya bölgesi olduğu bilinmektedir. Kıl örtüsünün kırmızı-beyaz veya siyah-beyaz olabildiği bilinmektedir. Renklerin kapladığı alanın büyüklüğünün değişiklik gösterebilmektedir. Boynuz yapılarına bakıldığında erkek ve dişi bireylerde boynuz bulunduğu görülmektedir (Kılınçarslan,2021).(resim 1.1)

Tablo 1.3 Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan farklı ırkların süt verimleri (ESK)

Zavot sığırı	2300-3300 litre
Boz ırk sığırı	1095-2965 litre
Jersey sığırı	2500-3000 litre
Yerli karasığır	400-800 litre
Guernsey sığırı	6300-6650 litre
Shorthorn sığırı	5000-6000 litre
Yerli Güney Sarısı sığırı (YGS)	444-794 litre
Simental sığırı (sarı alaca)	6500 litre
Holstein sığırı (siyah alaca)	5000-9000 litre
Ayrshire sığırı (dunlop)	5800 litre
Doğu Anadolu kırmızısı sığırı(DAK)	939-2247 litre
Güney Anadolu kırmızısı	1875-4675 litre

sığırı(GAK)

Brown Swiss sığırı (Mantofon- 3500-4000 litre esmer)

1950 yılından sonra programlı ve etkili ıslah çalışmaları sayesinde Siyah Alaca sığırların ilk olarak süt verimi olmak üzere diğer farklı verim özellikleri ile diğer sığır ırklarının çok üstünde seviyelere ulaşmıştır.



Resim.1.1 Holştayn sığır ırkı

Dünyanın farklı ülkelerinde belirli hedefler amacıyla yapılmış olan ıslah faaliyetleri sonucunda günümüzde Amerikan, Hollanda ve İsrail Siyah Alaca ırkları var olmuştur. Bu ırklar farklı özellikleri ile öne çıkmışlardır. Bahsi geçen ırklar süt verimi, sütün içeriği ve farklı coğrafi koşullara karşı gösterdikleri dayanıklılık gibi ırklara ait farklı özelliklerini barındırdığı bilinmektedir (Anonim, 2019).

1.2.1. Holştayn Sığırların Özellikleri

Bu ırk süt verimi yönünden dikkat çekse de hem süt hem de et verimi için beslenebilmektedir. Süt verim özellikleri göz önüne alındığında bir laktasyon döneminde 5.000 ile 7.000 litre arasında verim elde edilebilmektedir. Doğru ıslah çalışmaları ve ırk içerisinde üstün olanların seçimi ile gerçekleştirilmiş çalışmalar sayesinde 10.000 litre ye kadar verimine ulaşabildiği bilinmektedir.

140 ile 155 cm arasında değişen Cidago yüksekliğine sahip oldukları bilinmektedir. Uygun beslenme ile günlük ağırlık artışı 800 ile 1.200 gr arasında olabileceği bilinmektedir. Siyah alacanın sütündeki yağ miktarının % 3 – 3.5 arasında olduğu bildirilmektedir. Canlı ağırlığı 600 ile 1.000 kg arasında dış etkenlere bağlı olarak değişmektedir. İrkin erkek buzağları hızlı gelişim göstermeleri nedeniyle et üretiminde sık kullanıldıkları bilinmektedir. (ESK)

Büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde yetiştiricilerin ekonomik kayıplarına yol açan verim düşüklüğünün sebebine bakıldığında karşılaşılan iki neden genotip özellikleri ve çevresel faktörler olarak açıklanmaktadır (Duru ve Tuncel, 2002; Ünal ve Cebeci, 2004; Akman vd., 2005). Verime olumlu yönde etki sağlayacak olan sürünün maruz kaldığı koşullarda yapılan düzenlemeler de en az genetik iyileştirmeler kadar önemli olduğu bilinmektedir. Verime çevre faktörlerinin etkisi birçok ülkede farklı popülasyonlar üzerinde çalışılmış döl ve süt verimi üzerinde bulunan çevre etkileri ile ilgili çok sayıda kaynak elde edilmiştir (Akbulut vd., 1997). Uygun mevsimlere göre doğumların planlamaması, bu ırkın ortam koşullarına uyum sağlamakta zorluk çekmeleri diğer ırklara nazaran buzağılama aralığının fazla olmasının nedeni olabileceği bildirilmiştir (Akbulut ve Tüzemen, 1992).

1.2.2. Süt Verimi Özellikleri

1.2.2.1 Laktasyon Süresi

İneklerde buzağılamadan, süt veriminin kesildiği ana kadar geçen zamana laktasyon dönemi adı verilir. Süt meme bezlerinden buzağı için en iyi besin maddesi olarak bu

süreç boyunca salgılanmaya devam eder. Laktasyon dönemi farklı ırklar ve aynı ırkın farklı popülasyonları arasında değişiklik gösterebilmektedir. Laktasyon dönemi genetik özellikler dışında çevre şartları, besi ortamı gibi farklı özellikler de ilgili olabilmektedir. Farklı araştırmaların sonuçları göz önünde bulundurulduğunda ırklar arası ve aynı ırkların ayrı popülasyonları arasında laktasyon süresi farklılıkları olduğu gözlenmiştir. Örneğin 1996 yılında Özçelik ve Arpacık iç anadolu’da yetiştirilen siyah alacalarda bu sürenin ortalama 267.8 gün olup, mevsimlere göre en kısa laktasyon süresinin kış mevsiminde 1 gün eksiklikle görülüp en uzun sürenin ise yaz aylarında yavrulayan bireylerde görüldüğünü bildirmişlerdir. Erzurum ili için yapılan çalışma da Akbulut ve arkadaşları (1992) laktasyon süresini 355.5 gün, Tahirova Tarım İşletmesinde ki popülasyonun incelendiği çalışmada Tuna (1997) bu sürenin 304.64 gün ve yılın etkisini önemli, mevsimin etkisini önemsiz olduğunu bildirmiştir. Dillon ve arkadaşları 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada İrlanda’da bulunan Holstein ırkı sığırların laktasyon süresini 301 ile 308 gün arasında olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Ojango ve Pollott (Ojango ve vd.,2002) İngiltere’deki Holstein sığırlarının laktasyon dönemini 334 gün olarak bildirmişlerdir. Haile – Mariam ve arkadaşları (2003) Avustralya’da gerçekleştirdikleri çalışmada ilk laktasyon süresini 303 gün, ikinci laktasyon süresini 294 gün olarak saptamışlardır. Etherington ve arkadaşları (1996) Amerika Birleşik Devletleri’nde yürüttükleri bir çalışmada laktasyon döneminin 341 gün olduğunu bildirmişlerdir. Pelister ve arkadaşları (2000) laktasyon süresini Almanya orijini ve Türkiye orijini grupta karşılaştırarak Almanya grubunda 286.31 gün, Türkiye grubunda ise 287.38 gün olduğunu bildirmişlerdir. Koçaş Tarım İşletmesinde bulunan holstein sığırlarda yaptıkları çalışmada Duru ve Tuncel (2002) bu sürenin 304.4 gün, Gelmen Tarım İşletmesinde Akman ve arkadaşları (2001) nın yaptıkları çalışmada ise 322.6 gün olduğu bildirilmiştir. Kaya ve arkadaşları (2003) Türkiye’de bulunan İtalyan orijinli Holstein’lerin laktasyon süresinin 336 gün olduğunu bildirmişlerdir.

1.3.Genetik Yaklaşımlar

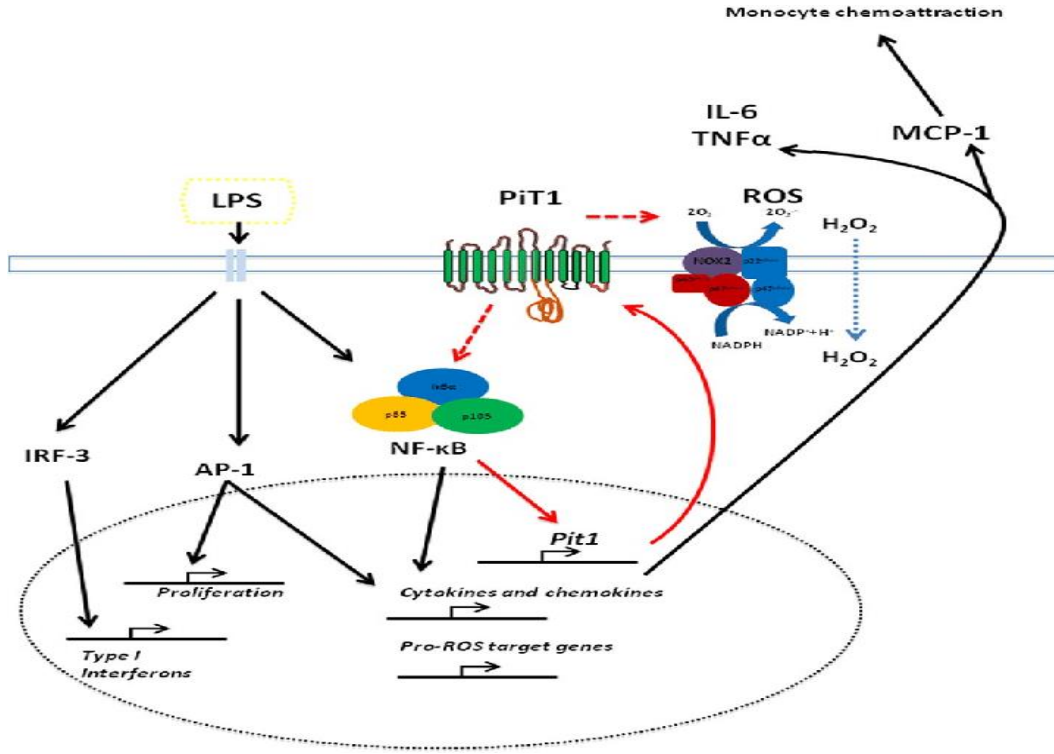
Kırsal veya gelişmiş tesislerde fark etmeksizin hayvan yetiştiriciliğinde yüksek verim eldesi sağlanması ile bu yetiştiriciliği yapılan hayvanların hastalıklara dirençli, diğerlerine göre yüksek ve sağlıklı üreme potansiyeli olan hayvanların sürü içindeki seçimi yetiştiriciler için en önemli konulardandır. Genetik açıdan ırk içinde olumlu yönde yaşanacak ilerleme, bu hayvanların seçiminde doğru tercihlerin yapılması ve bu doğru tercihlerin yaygınlaştırılması ile hızlandırmaktadır. Seleksiyon işleminin istenilen seviye ve etkili bir biçimde gerçekleşebilmesi için önemli noktalar; konu olan gen veya genler açısından çalışmaya dahil edilen toplulukta polimorfizmin olması ve önemli görülüp çalışmaya dahil edilen özellikler arasında ilişki bulunuyor olması gelecek dönemlerde seleksiyonu yapılmak istenen özelliklerin dikkate alınmasında istenilen nitelikteki damızlık tercihinin yardımcı olarak olacaktır. Kullanılan moleküler analiz yöntemlerinin maliyetlerinin yüksek olabilmesi sebebiyle bu tür moleküler yöntemlerle seleksiyon yapılabilmesi güçleşebilmekte bu nedenle et ve süt hayvanları yetiştiricileri tarafından kullanılması zorlaşmakta ve göz ardı edilebilmektedir. İstenilen özelliklere sahip bireylere ulaşmak, sürünün genetik özelliklerini gen veya genler bakımından planlanması damızlık seçimlerine bağlı olduğundan diğer bireylere göre istenilen özellikleri üstün olan hayvanların seçilmesi hayvan yetiştiricilerinin mevcut yapıları iyileştirilmesi ya da muhafazası bakımından önemlidir bu duruma göre planlama yapılması önem arz etmektedir. Hayvanların fenotipik özelliklerine bakarak en iyi allel genleri taşıyan bireylerin saptanmasının zor olduğu bilinmektedir. Tespiti zor ve ekonomik olarak yüksek giderlere neden olabilen niceleyici özellikler bireylerin fenotipine bakılarak tespit edilememektedir (Aytekin ve Boztepe, 2013). Bireylerin genotipleri her zaman fenotipik özellikleri ile uyuşmadığı bilinmektedir. Özellikle süt, et verimi gibi ekonomik değere sahip özelliklerin yanı sıra hastalıklara karşı direnç, döl verimi, doğurganlık gibi kantitatif özellikler ile ilgili yapılan araştırmalarda ilgili allelleri bulduran bireyleri DNA markörleri ile tespit edilebilir hale getirebilmek için yeni çalışmalar yapılmaktadır. Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarında bu yeni veriler damızlık yetiştiriciliği yapan işletmelerce kullanılabilir. Bilhassa sığır, koyun, keçi gibi doğum arasının zaman aldığı türlerde MAS tek başına veya geleneksel ıslah çalışmalarıyla beraber kullanılabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile yetiştiriciliği yapılan hayvanların farklı ekonomik özellikleriyle alakalı MAS

çalışmalarında kullanılabilir pek çok yeni aday gen tespit edilmiştir (Karlı vd., 2013).

1.4.PIT-1 (Hipofiz Özel Transkripsiyon Faktörü) Geni ve Süt Üretimine Etkisi

Pit-1 ve GATA-2 isimleri ile 3 ana değişme kanalının ön hipofiz bezinde olduğu bilinmektedir. Büyüme hormonu, GH üreten somatotrop hücreler, prolaktin üreten laktotrop hücreler ve tiroid uyarıcı hormon üreten triotrop hücrelerinin gelişimleri Pit-1 ekspresyon eden hücreler sayesinde gerçekleştiği bildirilmiştir (Söylemezoğlu ve Aydın, 2014). Pit-1 memelilerde hormon ekspresyonunda ve hipofiz gelişiminden yükümlü olan bir genidir (Doosti vd., 2011). Ön hipofizin gelişiminde görevli olan Pit-1 geni, hepatik progenitor hücrelerin prolaktin üreten hücrelere farklılaşmasına neden olur ve insanda buluş çağı olarak da adlandırılan ergenlik başlangıcı sürecini geciktirir (Li ve ark., 1990; Lee ve ark., 2005; Taha vd., 2005). Bu sebeplerle hayvanların büyümesi ve gelişmesinin düzenlenmesinde başrollerden olan Pit-1 genindeki mutasyonlar insanlarda görülen hasarlarla ilişkisi önemlidir (Sobrier, 2016). Et üretim tavukları üzerinde yapılan son çalışmalarda Pit-1 geninin gelişim ve büyüme ilişkisinin varlığı ortaya koyulmuştur (Chen vd., 2018). Çin sığırlarında yapılan bir çalışmada Pit-1 intron 5'teki polimorfizimlerin vücut ağırlığı, ortalama günlük kazanç ve 6, 12, 18, 24 aylık göğüs çevresi ile arasında anlamlı ilişki olduğunu ve A allelinin bu ırk üzerinde büyüme özellikleri açısından avantajlı olabileceğini göstermiştir (Tang, 2012). Memeli gelişimini düzenleyen POU transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir.

Memelilerde GH, PRL, TSH β ekspresyonundan sorumlu olarak bildirilen Pit-1 geni sınıf 1 hipofiz transkripsiyon faktörü olarak adlandırılmaktadır (McCormick vd, 1990; Haugen, 1993; Renaville vd., 1997b; Kopp ve Jameson, 1998; Miyai vd., 2005). Pit-1 genindeki herhangi bir olumsuzluk hormonların ekspresyonunu bozabildiği bilinmektedir (McCormick vd., 1990).



Şekil 1.1 PİT-1'in hücredeki bölümü ve görevleri (Koumakis vd., 2019)

İnsan plasentasında, meme adenokarsinom hücre hattında, hematopoetik ve lenfoid dokular. gibi diğer hücre dizilerinde ve dokularında Pit-1 in varlığı bildirilmiştir (Li vd., 1990; Gill-Puig vd., 2005). Meme kanseri hücrelerinde Pit-1'in tümör büyümesi ve metastazı ile ilişkili olduğu ortaya koyulan bir çalışmada Pit-1 geninin varlığı belirlenen bu dokularda anormal ekspresyonun tümör ilerlemesi ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir. Meme kanseri prognostik değeri ise henüz tespit edilememiştir (Ben-Batalla vd., 2010; Lisboa vd., 2013; Seoane vd., 2015). Aday bir gen olarak bildirilen Pit-1, 129 amino grup asitten oluşan ve sıgırlarda 1. kromozomun sentromerik kısmına (1q21-22) sınırlandırılmış olan 282315 numaralı (Moody vd., 1995) 6 ekzon ve 5 introndan oluştuğu bildirilmiştir. Woollard vd. (1994), ilk olarak ifade ettiği Pit1 geni *HinfI* polimorfizmi, *HinfI* restriksiyon enzimi ile 451 bç'lik gen bölgesinin kesimi sonucu A→G baz değişikliği ile, BB genotiplilerde 244 bç ve 207 bç'nde olmak üzere 2 kesim bölgesine sahip olduğunu AA genotiplilerin ise 451 bç'de tek bir bant verdiği bildirilmiştir. Sığırlarda Moody vd. (1995) yaptıkları çalışmada Pit-1 geninde bulunan *HinfI* kesim yerini tanımlamak için RFLP yöntemini kullanmışlardır. Yaptıkları

çalışmada linkage analizi sonucunda kesim bölgesinin sığırlarda 1. kromozomun sentromerik bölgesine sublokalize olduğunu, bildirmişlerdir.

Pit-1 geninin 6. Ekzonunda bulunan nokta mutasyonunun (G → A) polimorfizmin baz değişikliğinin nedeni olduğunu Dierkes vd. (1998) bildirmişlerdir. Bu genin intron 5'inde bir SSCP polimorfizminin mevcut olduğunu Zhao vd. (2000), bildirmişlerdir. Daha sonra ise Zhao vd. (2004), çalışmalarına genin intron3, intron 4, intron 5 ve ekzon 6'daki polimorfik alanlarla ilgili araştırmalarla devam etmişlerdir. PRL ve GH meme hücrelerinin gelişmesi ve süt verimi için gerekli olmakla birlikte (Oprzadek vd., 2003) somatotropik hücrelerin proliferasyonunda etkili olmalarından dolayı (Castrillo vd., 1991) büyüme ve gelişimin organizasyonunda memelilerde Pit-1 geninin aday gen olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2009). Pit-1 geninin ilgili olduğu bilinen süt verimi, et verimi, büyüme gelişme özellikleri ve bunların yanında döl verimi gibi niceleyici özellikler üzerinde oldukça yoğun çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir (Gökcan,2019).

Memeli canlılar için yaşamın yeni doğan döneminden itibaren en önemli besin kaynağı olarak bilinen sütün canlı gelişiminde gerekli görülen temel besin kaynaklarını içerdiği bilinmektedir (Javed vd., 2012). Geviş getiren hayvanlarda meme bezi, yavru için doğumdan sonra süt salgısı yapabilmek için gelişen karmaşık yapıda bir organizasyondur, süt veren alveol hücrelerin aracılığıyla hücrelerin salgı yapması ve gebelikte doğum sonrası yavruyu doyurmak için süt üretmek adına farklılaşan epitelyum kısmı ve stroma kısmı olarak iki dokudan oluştuğu bildirilmiştir. (Li vd., 2012).

Genetik faktörler, beslenme, ırk ve epigenetik faktörlerin etkileriyle meme bezinin üretkenliği değişkenlik göstermekte olduğu bilinmektedir (Qiang vd., 2014). Fakat sütün sentezi ve salgılanması laktasyon süreci ile de ilişkili olduğu bilinirken, Moleküler seviyede ki farklılıkların dışında beslenme, bakım şartları gibi dış etkenlerinde bu sürece etkisi olduğu bilinmektedir. Moleküler seviyede ki farklılıkların ortaya çıkışı genetik ve epigenetik farklılaşmaların neticesinde oluştuğu bilinmektedir. Fenotipik olarak ortaya çıkan bir değişimin genotipik bir değişim gerçekleşmeden oluşmasına epigenetik adı verilmektedir. Meme bezi gelişiminde epigenetik etkinin

rolünün büyük olduğu öngörülmüş ve bu konuda yapılan çalışmalar Pit-1'in bu süreçte yapılacak olan yeni çalışmalara dahil olacağını göstermiştir (Dinçel, 2018).

1.5.DNA Polimorfizmi

Evrimsel süreçte genetik çeşitlilik ;ayrı türlerin farklılaşmasından ve aynı türün üyeleri arasında meydana gelen yeni farklılıklardan sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe sebep olan bu farklılaşmalardan biri polimorfizmdir. Hayvansal tüketim ürünlerin temini için yapılan hayvan yetiştiriciliğinde genetik çeşitlilik, ıslah çalışmalarının temel taşını oluşturmaktadır. İklimsel özellikler açısından bir coğrafi bölgeye uyum göstermiş, bölgede popülasyonu yoğun olup sıklıkla yetiştiriciliği yapılan türlerin, bu türlere ait ırkların genetik vasıflarını ve dahil oldukları ekosistemde birbirleri ile ilişkilerinin durumlarını genetik çeşitliliğin açıkladığı bilinmektedir (Ekmekçi vd., 2008).

DNA markörleri, belirli tek bir türün içinde farklı bireylerde dizi polimorfizmi gösteren DNA bölgeleridir ve günümüzde değişimlerin belirlenmesinde sıklıkla başvurulan yöntemdir (Liu, 1998). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) buluşunun ardından PCR temelli markörler genetik alanında gerçekleştirilen araştırmalarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. PCR teknolojisi Karry Mullis tarafından 1985 yılında ilk defa ortaya konulmuştur. Genomun kendine has bölgelerini in vitro ortamda çoğaltılarak elektroforez teknikleri ile görüntülenebilmesini sağlayan bu keşif o yıllarda oldukça gelişmiş bir teknoloji olduğu bilinmektedir. PCR temelli DNA markör sistemleri moleküler biyoloji ve DNA teknolojisindeki hızlı gelişmelerle beraber daha ekonomik, kolay ve polimorfik olmalarından dolayı yaygın olarak kullanılmaya başlandığı bildirilmiştir. Özellikle RFLP, RAPD, EST, STS, SSCP, AFLP, STR ve SNP en sık kullanılan yöntemler olduğu bilinmektedir (Weber ve May, 1989; Liu, 1998).

RFLP-“Restriction fragment length polymorphism” olarak adlandırılan farklı uzunluktaki DNA parçalarının restriksiyon endonükleaz (RE) enzim kesimleri ile oluşturulduğu ve bu farklı uzunluktaki DNA parçaları restriksiyon parça uzunluk polimorfizmlerinin belirlenebildiği yöntem olarak bilinmektedir. Her bir RE'nin DNA üzerinde kendine özgü bir kesim bölgesi bulunmaktadır bu RE'ler kendisine özel bölgeyi tanıyarak bu kısımdan DNA'yı ikiye kesmektedir. Bu yöntemi sayesinde dizilim farklılıkları DNA dizisi üzerinde başarılı ve kolay bir şekilde belirlenebilir

olduğu bildirilmiştir. RFLP'lerin belirlenmesi yönteminde DNA parçacıkları agaroz jel elektroforezinde ayrıştırılmak için RE enzimi ile DNA kesimi gerçekleştirilir. Aynı tür içinde DNA fragman profilleri oluşturmaya olanak sağlayan ve dizilim farklılıklarına göre genom bölgesinde farklı RE kesim bölgeleri çalışılabilir. Southern blot yöntemi ile nitroselüloz kâğıdı üzerine jelde denatüre olmuş DNA fragmanları alınır. DNA fragmanları ve profili tespit etmek için radyoaktif işaretli bir DNA probu kullanılır (Botstein vd., 1980). Özgün bir diziye ihtiyaç kalmadan işlemin yapılabilmesi bu RFLP markörlerin en önemli avantajı olduğu bilinmektedir. Bu yöntem türlerin ve cinslerin analizlerinde kullanılabilmesi dışında büyük popülasyonların analizinde de kullanılabilir olması nedeniyle kullanım alanı açısından geniştir ve çalışma da kolaylık sağlar. Tercih edilen markör sistemi olması nedeni polimorfizm oranı çok yüksek olması sebebiyle özellikle aile ağacı ve haritalama analizlerinde kullanılabilir olmasıdır. Pahalı bir yöntem olmasının yanında uzun ve yorucu bir işlem olması, çalışma için yeterli DNA miktarına ihtiyaç duyulması dezavantajı olarak görülebilmektedir (Botstein vd., 1980).

SSCP- “Single-strand conformational polymorphism” markörleri, tek zincir konformasyon polimorfizmleri, nokta mutasyonları ve dizi varyantlarını 1000 baz çiftinden kısa bir DNA dizilim bölgesinde belirleyebilen bir markör sistemidir (Orita vd., 1989). Uygun ısıda denatürasyona uğratılan, PCR ürünün mutasyon bölgesinde II. ve III. DNA konformasyonlarının oluşturulması temeline dayanan bir yöntem olduğu bilinmektedir. II. ve III. Konformasyondaki, varyasyona bağlı olarak oluşan DNA molekülleri jel elektroforezinde farklı bantlar oluşturmasıyla varyantların tespitine olanak sağladığı bilinmektedir. Bu yöntemin en büyük dezavantajı basit bir teknoloji olmasına karşın her mutasyon için farklı ortamların oluşturulması gerekmesi olarak bildirilmiştir (Liu, 1998).

RAPD- “Randomly amplified polymorphic DNA” Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA markörleri, ilk kez Williams vd., (1990) tarafından geliştirildiği bilinmektedir. PCR temellidir. Herhangi bir nükleotid dizilimi olan bir primerin çalıştırılmasıyla DNA parçaları çoğaltılmakta ve oluşan farklı bant profiline göre DNA polimorfizmi tespiti gerçekleştirilmektedir. Bu markör kullanılarak yapılan çalışmalarda, aynı lokustaki iki farklı alel belirli büyüklükteki bantların varlığıyla ya da yokluğuyla ayırt edilebilmektedir (Liu, 1998). Avantajı DNA dizi bilgisine ihtiyaç duyulmadan, diğer

markörlerle karşılaştırıldığında daha ekonomik ve daha az miktarda DNA ile kısa sürede sonuçlar alınabilmesi olduğu bildirilmiştir. Dezavantajı ise RFLP'ye göre güvenilirliğinin daha düşük olmasıdır (Williams vd., 1990).

AFLP- "Amplified fragment length polymorphism" yöntemi çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi, RE enzimleri sayesinde kesilen DNA'nın genomik DNA kısımlarının seçici PCR ile çoğaltılması prensibiyle yapılabilmektedir. DNA'nın enzimler yardımıyla kesilip, oligonükleotid adaptörlerin bağlanması ardından kesilmiş olan bölgelerin seçici PCR yöntemiyle çoğaltılması ardından çoğaltılan bu bölgenin poliakrilamid jelde analiz edilmesi olarak üç temel adımdan oluşmaktadır. Genellikle parmak izi analizlerinde yaygın olarak kullanılan bu markör sistemi, jel elektroforez yöntemi ile görüntülenen RE ile kesilen parça bölgeleri nükleotid dizilimi bilinmeden görüntü verebildiği bilinmektedir. RFLP'ye göre analizi, markörüne benzer özelliklere sahip olmakla birlikte daha kolaydır ve daha az miktarda DNA ile çalışma gerçekleştirilebildiği bilinmektedir (Vos vd., 1995).

SNP-"Single nucleotide polymorphism" tek nükleotid polimorfizmleri, tek nükleotid dizilimi farklılıklarının genomun rastgele bir bölgesinde olmasıdır. Bu markörlerin intron ve ekzon bölgelerinde, 500-1000 bç sıklıkta genomda oldukça yaygın buldukları bilinmektedir (Wang vd., 1998). SNP markörlerinin polimorfizmleri açıklanırken veri tabanı ve polimorfizm dizi bilgisine ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir. Genellikle iki alele sahiptirler (Smigielski vd., 2000). Dizinin konumu, fonksiyonu, türler arası homoloji ve heterozigotluk derecesi olmak üzere 4 büyük bilgi eksenini tek veya daha fazlası bir arada olmak üzere düzenlenebilen SNP'ler araştırmacıların çalışmaları kolaylaştırmakta oldukları bilinmektedir (Smigielski vd., 2000). Genomda bilinen 1.42 milyon SNP'nin her 1.91 Kbç başına 1 SNP yoğunlukta bulunduğu bilinmesinin yanında ekson gen bölgelerinde 60 000 SNP varlığı ve eksonun %85'inin SNP'nin 5 Kbç yakınında yer aldığı bildirilmiştir (The International SNP Map Working Group, 2001). Farklı kaynaklardan edinilen bilgilerle (GenBank, PubMed, LocusLink ve Genome Sequence) NCBI veri tabanındaki bilgiler kullanılarak SNP bilgilerine ulaşılabilmektedir (Smigielski vd., 2000). Günümüzde kullanılan moleküler biyoloji teknikleri birçok SNP analizi çabuk ve daha az harcama ile yapılabilmesine imkan tanımıştır. Popülasyonların genetik yapısı, kantitatif özellik lokusları, MAS

alışmaları ve atasal ilişkilerin araştırılmasında kullanılan SNP'ler sıklıkla kullanılmaya devam edilmektedir.

2.MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali

Hayvan materyali temini bu tez çalışmasında Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Medikal Biyoloji ve Genetik ABD Laboratuvarı'ndan sağlanmıştır. Laboratuvar da mevcut bulunan 81 baş Holstein ırk sığıra ait kan örnekleri kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Teknik Aletler

2.1.2.1. PCR Cihazı

Applied Biosystem Veriti 96-Well Thermal Cycler marka PCR cihazı

Pit-1 genine ait bölgenin çoğaltılması ve sekans PCR'ı yapılması için kullanılmıştır.

2.1.2.2. Yatay Elektroforez Sistemi

Thermo midicell primo EC 320 ve Thermo midicell primo EC 330 elektroforez jel sistemi kan örneklerinden izole edilen DNA ve PCR için kullanılacak ürünleri görüntülemek için kullanılmıştır.

2.1.2.3. Jel Görüntüleme Sistemi

PCR işlemi izole edilen DNA ile gerçekleştirildikten sonra, PCR sonucunda oluşan ürünler elektroforez sisteminde agaroz jelde yürütülmüştür. Elde edilen ürünlerin görüntülemek için Vilber Lourmat BIO-VISION cihazı kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Örneklerin Eldesi ve Saklanması

Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Medikal Biyoloji ve Genetik A.B.D. laboratuvarında, -20 °C'de cryo tüplerde numuneler çalışma da DNA izolasyon işlemi yapılmasına kadar saklanmıştır.

2.2.2. DNA İzolasyonu

Araştırma sırasında kan örneklerinden, spin kolon yöntemi kullanılarak DNA izole edilmiştir. 10 µl Proteinaz-K (20mg/ml), 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplere konulmuş ve 200 µl kan numuneleri tüplere eklenmiştir. Bu karışımın üzerine 200 µl miktarında ekstraksiyon çözültisi eklenmiştir ve 15 sn. kuvvetli şekilde vortekslenip, 56°C'de 15 dk. etüvde bekletilmiştir. Süre bittikten sonra etüvden çıkarılıp kapakta damlacık kalmasını önlemek amacıyla kısa zamanlı santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra üzerlerine 210 µl binding buffer eklenerek 15 sn. vortekslenmiştir. Kapakta örnek parçası kalmaması amacıyla yeniden kısa süreli santrifüj işlemi uygulanmış ve spin kolon tüplerine lizatlar aktarılmıştır. Ardından tüplerin kapalı hale getirilerek 1 dk. 8.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünün alt kısmında kalan sıvı atılmıştır, 1 dakika 8.000 rpm' de santrifüj edilmek için yıkama solüsyonu-I den 650 µl spin kolonların üzerine ilave edilip santrifüj edilmiştir. Daha sonra toplama tüpünün altındaki sıvı dökülmüştür. 500 µl yıkama solüsyonu-II spin kolonlara eklendikten sonra 1 dk. 8.000 rpm'de santrifüj işlemi yapılmış ve toplama tüpünün altında kalan sıvı yine atılmıştır. Daha sonra, tekrar 250 µl yıkama solüsyonu-II spin kolonlara ilave edilerek 3 dk. 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Yeni mikrosantrifüj tüplere, spin kolon aktarılmış ve üzerlerine 200 µl TE buffer (10mM Tris, 1 mM EDTA pH 8,0) solüsyonu eklenerek 5 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme

süresi bittikten sonra tüpler, 1 dk. daha 8.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve elde edilen DNA'lar daha sonra kullanılmak için - 20°C'de saklanmıştır.

2.2.3 Primer Tasarım

Çalışma da , Woollard vd. (1994)'nın bildirdiği primer çifti Pit-1 geninin hedef bölgesi intron 5 - ekzon 6 olup çalışmada kullanılmıştır. NCBI kullanılarak ve FastPCR Professional 6.1.2 paket programından yararlanılarak Pit-1 gen dizisi için primer tasarlama işlemi yapılmıştır. Primerlerin arasında hairpin ve dimer oluşma durumu programda kontrol edilmiştir. Bu araştırmada kullanılan primer çifti

Forward 5' -AAACCATCATCTCCCTTCTT-3'

Reverse 5' -AATGTACAATGTGCCTTCTGAG-3' dir.

2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Primerlerin bağlanma sıcaklığının (T_m, Melting Tempature) belirlenebilmesi için Gradient PCR kullanılmıştır. 1 µl 1xPCR, 3 mM 0,7 µl MgCl₂, 2,2 µl 5Q solüsyonu (Qiagen) 2 mM 0,2 µl dNTP, 2,5 mM 0,25 µl forward 1 ve 0,25 µl revers 1 Platinum Taq polimeraz (Invitrogen), 1 µl DNA (20 ng/µl) ve 4,4 µl ultra distile su ilave edilip toplam hacmin 10 µl olması sağlanmış ve bir PCR karışımı hazırlanmıştır. Pit-1 primeri için optimum T_m derecesi 56 °C olduğu belirlenmiştir.

2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Elde edilen PCR ürünlerinin görüntülenebilmesi için (% 1'lik) agaroz jel hazırlanmıştır . Bunun için 1 gr Agaroz tozu ile 100 ml TAE (TrisAsetat- EDTA) solüsyonu karıştırıldı ve mikrodalga fırında agaroz tozu eritilmiştir. Homojen bir sıvı halin gelen jelin içine 1 µl kadar RedSafe boya solüsyonu eklenmiştir. Oluşan karışımın sıcaklığının azalması fakat soğuyup donmadan ılık bir hale gelmesi beklenmiş sonrasında elektroforez tepsisine dökülmüştür. Elde edilen jel 30 dk. oda sıcaklığında ve 30 dk. da buzdolabı içinde +4 derecede donması için bekletilmiş , ardından elektroforezin içinde

bulunan taraklar tepside kuyucuklara zarar vermeden uzaklaştırılmıştır. Tepsi, elektroforez tankına alınmıştır. Elektroforez tankına jelin üzerini geçecek şekilde TAE solüsyonu eklenmiştir. Oluşan her bir kuyucuğa 8,5 µl kadar yükleme boyası (Loading Dye) ile 2,5 µl miktarında PCR ürünü içeren karışım ilave edilmiştir. Kuyucuklara örnek yükleme işlemi tamamlandıktan sonra 30 dk. boyunca örnekler 90 Voltta jelde yürütülmüştür. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra Vilber Lourmat BIO-VISION jel görüntüleme sisteminden yararlanılarak jel görüntülemesi yapılmıştır. Görüntünün gözlenmediği bantlar negatif olarak değerlendirilirken görüntünün olduğu bantlar ise pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.6. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism)

Jelde görüntüleme işleminin ardından aranan mutasyonunun belirlenmesi için Pit-1 PCR ürünleri, HinfI (Thermo, ER0801) restriksiyon enzimiyle kesilerek RFLP gerçekleştirilmiştir.

Bu enzim ile protokolde belirtilen oranlarda karıştırılan PCR ürünleri, thermal cycler cihazında inkube edilmiştir (95°C de 5 dk 1 defa, 95°C de 30 sn , 56 °C de 30 sn 72°C de 1 dk 40 defa , 72°C de 5 dk 1 defa, 72°C de 8 dk 1 defa) Ardından restriksiyon enzimiyle kesilerek oluşturulan fragmentler boyutlarına göre ayrılarak polimorfizmlerin belirlenmesi için 40 dakika %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bu işlem esnasında fragmentlerin uzunluklarının belirlenebilmesi için DNA ladder kullanılmıştır.

2.2.7. İstatistik Analiz

PCR aşaması sonucu ürünler RFLP ile görüntülenmiştir. Popülasyonların genotip frekanslarına göre allel frekansları

$$f(A)=p=(2n_{AA} + n_{AG})/2N$$

$$f(G)=q=(2n_{GG}+ n_{AG})/2N$$

$p+q=1$ eşitliğine göre

Eşitliklerde ;

$f(A) = p = A$ allelinin frekansı

$f(G) = q = G$ allelinin frekansı

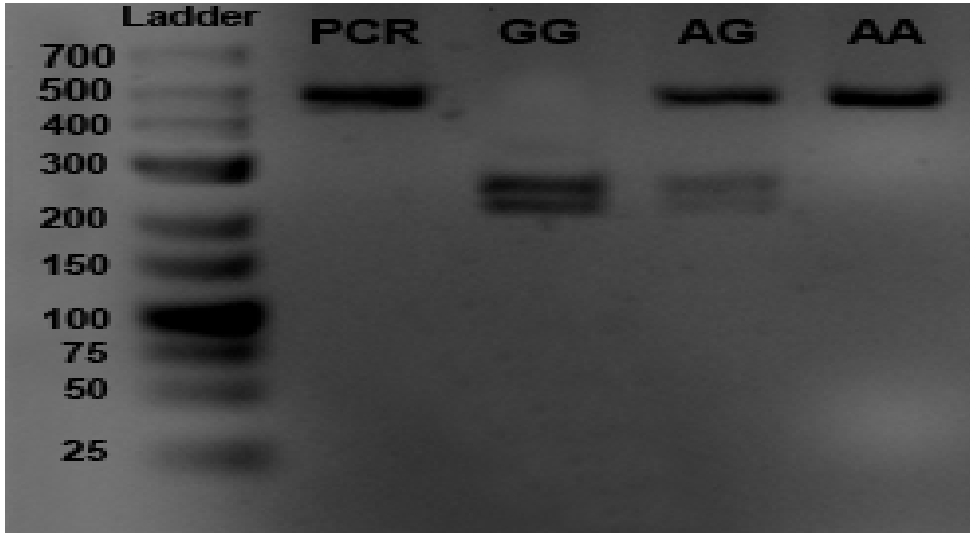
N: çalışmaya dahil edilen toplam birey sayısı

Formülüne göre hesaplanmıştır.

Daha sonra Khi kare testine göre gözlenen ve beklenen değerler arasındaki kıyaslama belirlenmiştir.

3. BULGULAR

Pit-1 geni intron 5- ekzon 6 bölgesi bakımından PCR ile çoğaltılan 451 bç'lik gen bölgesinin *HinfI* restriksiyon enzim kesimi ve % 1'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra elde edilen kesim ürünleri jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir. DNA ladder kullanılarak elde edilen genotipler Woollard ve ark. (1994)'nın bildirdiği gibi skorlanmıştır. AA genotipliler *HinfI* restriksiyon enziminin herhangi bir kesim bölgesi olmadığından aynı PCR ürününe olduğu gibi yalnız 451 bç bölgede bir bant, AG genotipliler 451 bç, 244 bç ve 207 bç bölgelerinde olmak üzere üç bant, GG genotipliler ise hem 244 bç hem de 207 bç'nde olan iki bant oluşturduğu gözlemlenmiş ve populasyonun genotiplendirilmesi bu kesim ürünleri temelinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Pit-1 intron 5- ekzon 6 bölgesinin PCR ürünü ve *HinfI* kesim bölgesi

Çalışmaya dahil edilen Afyonkarahisar bölgesinde yetiştirilen 81 adet Holstein sığırdan elde edilen DNA örneklerinden yürütülen çalışmada Pit-1/*HinfI* polimorfizmi allel gen frekansları bakımından incelendiğinde A allelinin 0.24 ve G allelinin 0.75 frekansında olduğu belirlenmiştir. Irkta G allelinin yüksek frekansta görüldüğü gözlemlenirken,

genel olarak AA genotipi % 6,17, AG genotipi %37,03 ve GG genotipi %56,79 oranında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.1 Çalışma sonucunda elde frekans değerleri ve χ^2 testi

Siyah Alaca	N	Genotipler			Allel frekansları		Genotip frekansları			χ^2 0,049
		AA	AG	GG	A	G	AA	AG	GG	
Gözlenen	81	5	30	46	0,246	0,753	6,17	37,03	56,76	
Beklenen	81	4,9	30,0	45,92			0,060	0,370	0,567	

Gözlenen ve beklenen genotip frekansları dikkate alınarak yapılan hesaplamalardan sonra ortaya koyulan χ^2 testi sonucunda 0.049 değeri elde edildi ve bu değer χ^2 dağılım tablosundaki 1 serbestlik dereceli 0.05 önem seviyesinin (TD1:0.05= 3.841) altında olduğu görülmüştür. Çalışmaya dahil edilen popülasyonun bu gen bölgesi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu sonucu görülmüştür (P>0.05) (Tablo 3.1).

4. TARTIŞMA

Siyah Alaca sığır ırklarında yapılan geçmiş çalışmalarda Woollard vd. 1994 yılında yaptıkları çalışmada A allel frekansını 0.15, B allel frekansını ise 0.85 olarak bildirmiştir. Moody vd. 1995 yılında A allel frekansını 0.26, B allel frekansını 0.74, Renaville vd. 1997 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada A allel frekansını 0.188 ve B allel frekansını 0.812, Hori-Oshima ve Barreras-Serrano 2003 yılında gerçekleştirdikleri çalışma sonucunu A allel frekans değeri 0.155, B allel frekans değeri ise 0.845, Oprzadek vd.. aynı yıl yaptıkları çalışmada A allel frekans 0.247 ve B allel frekans 0.753 olarak bildirmişlerdir. Vargas vd. 2004 yılında A allel frekansını 0.283, B allel frekansını 0.717 bildirirken Dybus vd. aynı yıl A allel frekansını 0.243, B allel frekans değeri ise 0.757 bildirmişlerdir. Bu çalışmalardan birkaç yıl sonra Yan vd. 2006 yılında A allel frekansını 0.132, B allel frekans değeri ise 0.868 olarak bildirmişlerdir ertesini yıl Zakizadeh vd. A allel frekans değeri 0.208 B allel frekans değeri ise 0.792 olduğunu belirtmişlerdir. Edriss vd. 2008 yılında yaptıkları çalışmanın sonucu olarak A allel frekans değeri 0.256, B allel frekans değeri 0.744, bir başka çalışmada Jawasreh vd. 2009 yılında A allel frekans değeri 0.174 B allel frekans değeri 0.826 olarak ortaya koymuşlardır. Misrianti vd. 2010 yılında A allel frekans değeri 0.244 B allel frekans değeri 0.756 olarak bildirdikleri aynı yıl Yang vd. A allel frekans değeri 0.475 B allel frekans değeri de 0.525 olarak bildirmişlerdir. Yan vd. 2011 yılında A allel frekans değeri 0.132, B allel frekans değeri 0.868 bildirmişlerdir. Doosti vd. 2011 yılında farklı bir popülasyon üzerinde yaptıkları çalışmada A allel frekans değeri 0.298, B allel frekans değeri 0.701 olarak bildirmişlerdir. Özdemir ise 2002 yılında yaptığı çalışmada A allel frekans değeri 0.20, B allel frekans değeri 0.80, Heidari vd. aynı yıl farklı bir popülasyonda A allel frekans değeri 0.170 B allel frekans değeri 0.830 olarak bildirmişlerdir. Khaizaran ve Al-Razem 2014 yılında ki çalışmalarının sonucunu A allel frekans değeri 0.683 B allel frekans değeri 0.317, Trakovická vd. aynı yıl A allel frekansının değeri 0.185, B allel frekansının ise değeri 0.815 olarak bildirmişlerdir. Ebrahimi Hoseinzadeh vd. (2015a,b) A allel frekans değeri 0.26 ve B allel frekans değeri 0.74, Ahmadi vd. (2015) A allel frekans değeri 0.22, B allel frekans değeri 0.78, Öner vd. 2017 de A allel frekans değeri 0.253 ve B allel frekans değeri 0.747 olarak bildirmişlerdir. Bayram vd. 2017 yılında A allel frekansını 0.32, B allel frekans değeri ise 0.68, bir sonraki yıl yapılan

bir başka çalışma da Thuy vd. A allel frekans değerini 0.216, B allel frekans değerini 0.784, Gökcan 2019 yılında yaptığı çalışmada A allel frekans değerini 0.1346, B allel frekans değerini 0.8654 olarak ortaya koymuşlardır. A ve B allel frekansları göz önüne alınarak literatürde bildirilen değerler ile yapılan mevcut araştırmada ortaya koyulan değerler karşılaştırıldığında Khaizaran ve Al-Razem (2014)'in ortaya koyduğu A (0.683) ve B (0.317) değerleri göz ardı edildiğinde benzer sonuçlara ulaşıldığı fikrine varılmıştır. Günümüzde gelişen moleküler genetik metotları ve mevcut çalışmalar göz önünde bulundurularak hedeflenen ve geliştirmek istenilen özellikler ile ilgili MAS çalışmalarının artırılması yetiştiricinin faydasına olacaktır.

Afyonkarahisar ilinde yetiştirilen holstein ırkı sığırlardan toplanarak mevcut anabilim dalı laboratuvarında muhafaza edilen kan örnekleri üzerinden gerçekleştirilen , PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, Pit-1/HinfI polimorfizmine (AA, AG ve GG genotipleri) ve ait genotipler tespit edilmiştir. Popülasyondaki Pit-1/HinfI polimorfizmi için AA, AG ve GG genotip frekansları sırasıyla %6,17, % 37,03 ve % 56,79, A allelinin frekansı 0.24 ve G allelinin frekansı 0.75 olarak bulunmuştur.

Pit-1/HinfI polimorfizmleri açısından belirlenen genotip ve allel frekansları ırkın genotip çeşitliliğinin ortaya çıkabilmesinde yeterli oranda çalışma sonucunda görülmüştür.

Bu konuda her işletme yada coğrafi popülasyon da benzeri çalışmalar yapılarak tespit edilen polimorfik yapıların, farklı iklim özelliklerinin ve besi şartlarının bulunduğu farklı bölgelerde, farklı ırklar üzerinde ve çok yönlü performans özellikleriyle ilişkilendirilmesiyle hayvan ıslahında kullanılabilirliğinin belirlenmesi önerilmektedir. Ülkemiz toplam hayvan yetiştiriciliği hacmi ve üretimi gerçekleştirilen ürünler göz önüne alındığında süt sığırcılığı açısından belirli bir seviyeye geldiği kabul edilse de bu konuda üretimi ve kapasitesini geliştirmiş ülkeler ile kıyaslandığında laktasyon süresi boyunca verimlerin düşük olduğu bilinen bir gerçektir. Bahsi geçen verimlerin düşük olması ilk olarak var olan popülasyonların genotipik özelliklerinin verimi olumlu yönde etkileyecek seviyelere çıkarılamıyor olmasıdır. Yetiştiriciler için ekonomik öneme sahip ve sektörün sürdürülebilirliğini etkileyen süt ve et gibi temel özellikler birçok genin kalıtımıyla ortaya çıkması, bu özellikleri çok sayıda genin etkilemesine sebep olmaktadır. Bu genlere çevre şartlarının etkileri ile fenotipler ortaya çıkmaktadır.

Fenotip sadece genetik yapıdan oluşmayıp çevre şartlarından da etkilenmesi sebebi ile genotipik yapı üzerinde istenilen özellikler üzerine yoğunlaşılırken bakım ve besleme gibi çevre şartlarının da düzenlenmesinin önemi göz ardı edilmemelidir. Kantitatif özelliklerden olup süt verimi ve elde edilen sütün içeriğindeki bileşenlerini etkilediği düşünülen genler mevcut çalışmalar ışığında tam anlamı ile açıklanamamaktadır. Ancak bu özelliklerin varyasyonlarında en çok paya sahip olduğu düşünülen majör genler üzerinde son yıllarda gelişen moleküler yöntemler yardımıyla yapılan çalışmalar hız kazanmıştır. Günümüzde moleküler genetik metotları ve mevcut çalışmalar göz önünde bulundurularak popülasyonlarda kazanç açısından etkili olan özellikleri etkileyen genler ile ilgili MAS çalışmalarının gerçekleştirilmesi faydalı olacaktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gelişen günümüz dünyasında her geçen gün artan nüfus ve uzayan insan ömrü dikkate alındığında bazı ülkeler de yaşam standartları hızla artarken, birçok ülke de aynı hızla azalmaktadır. Buna bağlı olarak artan gıda ihtiyacı, gelişen yeni yetiştiricilik yöntemlerinin maliyetinin artması gibi nedenler le birim hayvan başına elde edilen verimin artış göstermesi gerekmektedir. Bu sebepler ile özellikle insan yaşamında hayvansal proteinin temel kaynağı olan sığırlar ve sığırlardan elde edilen temel maddelerden olan süt ve süt ile üretilen diğer gıdalar önemini arttırmıştır. Yetiştiriciler etçi ırkların yanında birçok gıdanın ham maddesinin sütün elde edildiği ırklara da yönelmeye başlamışlardır. Bazı gelişmiş ülkelerde ise hem süt hem de et verimi yönünden geliri zengin ırklar tercih edilmeye başlanmıştır. Çalışmamıza dahil edilen siyah alaca ülkemizin yanında dünyanın da birçok ülkesine yayılma fırsatı bulmuş ve bu özellikleri sayesinde halen tercih edilmektedirler. Pit-1 geni yakın geçmişte başlayan ve günümüzde halen devam eden çalışmalar sayesinde yetiştiriciliği yapılan hayvanların farklı ekonomik özellikleriyle alakalı MAS çalışmalarında kullanılabilecek pek çok yeni tespiti yapılan birçok önemli aday gen den biridir. Bu gen deki bir olumsuzluk hormonların ekspresyonunu ve buna bağlı büyüme gelişme, süt üretimi, döl verimi gibi farklı açıdan bozulmalara neden olabildiği geçmişteki ortaya koyulan çalışmalarca bildirilmiştir. Memelilerde GH, PRL, TSH β ekspresyonundan sorumlu olduğu bilinen ve hakkında daha geniş popülasyonlarda farklı coğrafi bölgelerde yoğun çalışmalar yapılması gereken bunun yanında uzun süreli çalışmalara dahil edilip yavru bireylerinde dahil olduğu çalışmalar yapılmasının gerektiği düşünülmektedir. Bunun yanında ırk içindeki öne çıkmış veya diğer özelliklerinin performansının Pit-1 geni ile ilişkileri de yeni gerçekleştirilecek çalışmalarda ortaya koyulmalıdır.

Gerçekleştirilen çalışmanın sonucunda çalışmaya konu edilen Pit-1 geni *Hinf*I polimorfizminin sonucunda ortaya çıkan genotipler ortalamaları bakımından GG genotiplilerin AG genotiplilerle karşılaştırıldığında GG genotiplilerin popülasyondaki değerlerinin AG genotiplere göre yüksek değerlerde oldukları görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

- Akbulut Ö, Tüzemen N, Yanar M. Erzurum şartlarında siyah alaca sığırların verimi 1: döl ve süt verim özellikleri. *Türk veterinerlik ve hayvancılık dergisi*, 16(3): 523-533, 1992
- Akbulut Ö., Tüzemen n. (1992). Sığırlarda döl verimi ölçüleri. *Atatürk Üniversitesi ziraat fakültesi dergisi*, 23(1): 104-110
- Akman N, Ulutaş Z, Efil H, Biçer S. Gelemen tarım işletmesinde yetiştirilen siyah alaca sürüsünde süt ve döl verimi özellikleri. *Atatürk üniversitesi ziraat fakültesi dergisi*, 32(2): 173-179, 2001.
- Anonim, 2019. Serap göncü. Siyah alaca süt sığırı özellikleri. <http://www.muratgorgulu.com.tr/altekrans.asp?id=103>
- Aytekin, I. ve Boztepe, S., 2013, Associations of Pit-1 gene polymorphism with milk yield and composition traits in brown swiss cattle, *J Anim Plant Sci*, 23 (5), 1281-1289.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 32: 314-331, 1980.
- Castrillo, J.-L., Theill, L.E., Karin, M., 1991 . Function of the homeodomain protein GHF1 in pituitary cell proliferation(Article) *Genomics Current Opinion In Plnat Biology*,5(2)107. Volume 253, Issue 5016, 1991, Pages 197-199.
- Chen, X., Jin, S., He, T., Yang, L., Tong, Y., Chen, X., Geng, Z., 2018. Association of polymorphisms in Pit-1 gene with growth and feed efficiency in meat-type chickens *Asian-Australas J Anim Sci.* 2018 Nov; 31(11): 1685-1690 .
- Daşkaya A. Uludağ Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Zootekni Ana Bilim Dalı doktora tezi 2007 Özel bir damızlık işletmesinde yetiştirilen holstein ineklerin döl ve süt verimi özellikleri değişik mevsimlerin süt ve döl verimi üzerine etkisi. *Lalahan Zootekni Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 36(2) : 18-41,1996.
- Dierkes, B., Kriegesmann, B., Baumgartner, B. ve Brenig, B., 1998, Partial genomic structure of the bovine PIT1 gene and characterization of a HinfI transition polymorphism in exon 6, *Animal Genetics*, 29 (5), 405-405.
- Dillon P, Buckley F, Snijders S, Crosse S, The effect of cow genetic index and grass-based feeding system on performance of spring-calving Holstein Friesian cows in second lactation. *British Society of Animal Science, Occasional Publications*, 24 : 141-146, 1999
- Dinçel, D., 2018. Genetic polymorphism of PROP1 gene in Karacabey Merino sheep Uludağ univestity.
- Doosti, A., Arshi, A. ve Momeni, B., 2011, Molecular study of PIT1 gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle, *African Journal of Agricultural Research*, 6 (19), 4467-4470.
- Duru S, Tuncel E. Koçuş Tarım İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca sığırların süt ve döl verimleri üzerine bir araştırma : 1. Süt verim özellikleri. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 26 : 1, 97-101, 2002

- Dybus, A., Szatkowska, I., Czerniawska-Platkowska, E., Grzesiak, W., Wojcik, J., Rzewucka, E., Zych, S., 2004. PIT1-HinfI gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle, *Aech. Tierz.*, 47, 557- 563
- Ekmekçi A., Konaç E., Önen H.Ğ. (2008). Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, 21(3): 282-295
- Etherington WG, Kinsel ML, Marsh WE. Relationship of production to reproductive performance Ontario dairy cows: Herd level and individual animal descriptive statistics. *Theriogenology*, 46(6) : 935-959, 1996.
- Gökcan Göksel, Siyah Alaca Sığırlarında Bazı Besi Performans Özellikleri İle Pitüiter Spesifik Transkripsiyon Faktörü-1 (Pit-1/ HiNFI) Geni Polimorfizmi Arasındaki İlişkiler, yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı 2019
- Güneş H. Kumkale Tarım işletmesinde 10 Yıllık Siyah Alaca Sığır Yetiştiriciliği Üzerine Araştırmalar. 2. Süt Verim Özellikleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(2): 225-240, 1999
- Güneş H. Kumkale Tarım İşletmesinde 10 Yıllık Siyah Alaca Sığır Yetiştiriciliği Üzerine Araştırmalar. 2. Süt Verim Özellikleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner* 30.
- Haile-Mariam M, Bowman Pj, Goddard Me. Genetic and environmental relationship among calving interval, survival, persistency of milk yield and somatic cell count in dairy cattle, *Livestock Production Science*, 80: 189-200, 2003
- Haugen, B., Wood, W., Gordon, D. ve Ridgway, E., 1993, A thyrotrope-specific variant of Pit-1 transactivates the thyrotropin beta promoter, *Journal of Biological Chemistry*, 268 (28), 20818-20824.
- <https://www.esk.gov.tr/tr/10887/HOLSTEIN-SIGIR-IRKI-SIYAH-ALACA>
- Javed, M., Munis, S., Naadeem, A., Babai, M., 2012. Identification of Pit-1 gene variants in Sahiwa cattle. *Pakistan Journal of zoology* 49(4):1315-1319.
- Karlı, T., Karabağ, K. ve Balcıoğlu, M. S., 2013, Çiftlik hayvanlarında DNA teknolojileri ve biyoteknoloji kullanımı. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi. Cilt III (Hayvansal Üretim), 46-52, 2-4 Ekim, Niğde.
- Kaya İ, Uzmay C, Kaya A, Akbas Y. Comparative analysis of milk yield and reproductive traits of Holstein Friesian cows born in Turkey or imported from Italy and kept on farms under the Turkish-ANAFI project. *Italian Journal of Animal Science*, 2: 2, 141-150, 2003.
- Khaizaran, Z. A., Al-Razem, F., 2014. Analysis of selected milk traits in Palestinian Holstein- Friesian cattle in relation to genetic polymorphism, *Journal of Cell and Animal Biology*, 8(5),74-85.
- Kopp, P. ve Jameson, J. L., 1998, Thyroid Disorders, In: Jameson JL and Collins FS. eds. Principles of Molecular Medicine. Humana Press, Totowa. NJ, pp. 459-473.
- Lee, E.J., Russel, T., Jameson, J.L., 2005. Pituitary transcription factor-1 İnduces Transient Differentiation of Adult Hepatic Stem Cells into Prolactin-Producing Cell İnvivo *Mol Endocrinol*.

- Li, S., Crenshaw, E.B., Rawson, E.I., Simmons, D.M., Rosenfel, M.G., 1990. Dwarf Locus Mutant Lacking three Pituitary Cells Types Result from Mutation in the POU-Domain Gene pit-1.
- Liu BH. Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press LLC, Boca Raton New York. 1998.
- McCormick, A., Brady, H., Theill, L. E. ve Karin, M., 1990, Regulation of the pituitary-specific homeobox gene GHF1 by *cell-autonomous and environmental cues*, *Nature*, 345 (6278), 829.
- Miyai, S., Yoshimura, S., Iwasaki, Y., Takekoshi, S., Lloyd, R. V. ve Osamura, R. Y., 2005, Induction of GH, PRL, and TSH β mRNA by transfection of Pit-1 in a human pituitary adenoma-derived cell line, *Cell and tissue research*, 322 (2), 269-277.
- Ojango JMK, Pollott GE. The relationship between Holstein bull breeding values for milk yield derived in both the UK and Kenya. *Livestock Production Science*, 74 : 1 12, 2002
- Oprzadek, J., Flisikowski, K., Zwierzchowski, L., Dymnicki, E., 2003. Polymorphisms at loci of Leptin (LEP), Pit1 and STAT5A and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black-and White bulls. *Animal Science Paper and Reports*, 21(3), 135,145.
- Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA*. 86: 2766–2770, 1989.
- Orman A. Tahirova Tarım işletmesindeki Holstein ineklerin Başlıca Verim Özellikleri ve Bu Özelliklere Etki eden Bazı Çevre Faktörleri. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Bursa, 2003.
- Othman, O. E., Zayed, F. A., El Gawead, A. A., El-Rahman, M. R. A., 2011. Genetic polymorphism of three genes associated with milk trait in Egyptian buffalo, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9, 97-102.
- Özcan M. Siyah Alaca sığırlarda yaşama gücü, döl verimi ve süt verimi özelliklerini etkileyen bazı çevresel faktörler üzerinde araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. İstanbul, 1994.
- Özçelik M, Arpacık R. İç Anadolu şartlarında yetiştirilen Holstain ineklerde değişik mevsimlerin süt ve döl verimi üzerine etkisi. *Lalahan Zootekni Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 36(2) : 18-41,1996.
- Pelister B, Altinel A, Güneş H. Özel işletme koşullarında yetiştirilen değişik orijinli siyah alaca sığırların döl ve süt verimi özellikleri üzerinde bazı çevresel faktörlerin etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(2) : 543-559, 2000.
- Pryce JE, Veerkamp RF, Thompsonr, Hill WG, Simm G. Genetic aspects of common health disorders and measures of fertility in Holstein Friesian dairy cattle. *Animal Science*, 65 : 353-360, 2003.
- Qing, Y., Zhoua F., Chuzhao L., Hong C., Xianyong L., 2014. Relationship between genetic variants of POU1F1, PROP1, IGF3 genes and milk performance in Guanzhong dairy goats *Small Ruminant Research Volume 140*, Pages 40-45.

- Selvaggi, M., Dario, C., Normanno, G., Dambrosio, A. ve Dario, M., 2011, Analysis of two pit-1 gene polymorphisms and relationships with growth performance traits in Podolica young bulls, *Livestock Science*, 138 (1-3), 308-312.
- Smigielski EM, Sirotkin K, Ward M, Sherry ST. dbSNP: a database of single nucleotide polymorphisms. *Nucl Acids Res.* 28(1): 352- 355, 2000.
- Sobrier, M., Tsai C., Perez, C., Leheup, B., Bouceba, T., Copin, B., Sizova, D., Penzo, A., Stanger, B., Cooke, N., Amselem, S., 2016. Functional characterization of human POU1F1 mutation associated with isolated growth hormon edifficiency a novel etiology for IGHD :1;25(3):47283.
- Söylemezoğlu, F., ve Aydın, Ç., 2014. Sellar Lezyonların Patolojisi ,Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı ,Ankara.
- Taha, D., Mullis, P.E., İbanez, L., 2005. Absent or Delayed Adrearche in Pit-1/POU-1 Dificiency. *Horm Res.*
- Tang, L., Yang, D., Ouyang, W., Zhang, L., Lan, X., Zhang, C., Zhang, R., Zhang, A., Zhang, L., Chen, H., 2012. Association of polymorphisms in the PIT-1 intron 5 with body measurements in *Chinese Cattle, Afr. J. Biotech*, 11(42), 9906-9910.
- The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature.* 409: 928-933, 2001.
- Tuna YT. Tahirova Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah Alaca Süt Sığırlarının Bazı Döl ve Süt Verim Özellikleri Bakımından Genetik Yapısı Üzerine Araştırmalar. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tekirdağ, 1997
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acids Res.* 23(21): 4407–4414, 1995.
- Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Spencer J, Kruglyak L, Stein L, Hsie L, Topaloglou T, Hubbell E, Robinson E, Mittmann M, Morris MS, Shen N, Kilburn D, Rioux J, Nusbaum C, Rozen S, Hudson TJ, Lipshutz R, Chee M, Lander ES. Largescale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science.* 280(5366): 1077–1082, 1998.
- Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet.* 44: 388–396, 1989.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res.* 18(22): 6531–6535, 1990.
- Zhang, C., Liu, B., Chen, H., Lan, X., Lei, C., Zhang, Z. ve Zhang, R., 2009, Associations of a Hinf I PCR-RFLP of POU1F1 gene with growth traits in Qinchuan cattle, *Animal biotechnology*, 20 (2), 71-74.
- Zhao, Q., Davis, M. ve Hines, H., 2000, Association of two Pit-1 gene polymorphisms with growth rate in beef cattle, *Journal of animal science*, 78, 77.
- Zhao, Q., Davis, M. ve Hines, H., 2004, Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle, *Journal of animal science*, 82 (8), 2229-2233.

