



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İvesi koyunlarında Myostatin (GDF8) geni promotor bölgesindeki polimorfizm
ve kuzularda büyüme ile ilişkisinin araştırılması**

BURHAN ATALAR

VETERİNER GENETİK

**Şanlıurfa
2024**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İvesi koyunlarında Myostatin (GDF8) geni promotor bölgesindeki polimorfizm
ve kuzularda büyüme ile ilişkisinin araştırılması**

BURHAN ATALAR

**VETERİNER GENETİK
Tez Danışmanı: Prof. Dr. FARUK BOZKAYA**

**Şanlıurfa
2024**



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS
TEZ ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Faruk BOZKAYA danışmanlığında, Burhan ATALAR'ın hazırladığı “İvesi koyunlarında Myostatin (GDF8) geni promotor bölgesindeki polimorfizm ve kuzularda büyüme ile ilişkisinin araştırılması” konulu bu çalışma 01.06.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Genetiği, Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

☒ Oy birliğiyle / ☐ Oy çokluğu ile

Danışman	: Prof. Dr. Faruk BOZKAYA	İmza
Üye	: Doç. Dr. Akın YİĞİN	
Üye	: Prof. Dr. Şükrü GÜRLER	

Bu tezin Veterinerlik Genetiği Ana Bilim Dalında yapıldığını ve enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylarım.

(Ünvanı, Adı, Soyadı)
Enstitü Müdürü

Bu çalışma: HARRAN ÜNİVERSİTESİ - BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ
Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No : 22066

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

TEZ ÖNERİSİ VE TEZ YAZMA YÖNERGESİNE UYGUNLUK BEYANI

ewrwrew

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

İmza

BURHAN ATALAR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim süresi boyunca akademik bilgi ve tecrübelerini her zaman paylaşan ve tez yazım süresi boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyerek bana yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Faruk BOZKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenim süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan değerli hocam Prof. Dr. Şükrü GÜRLER'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenim süresince ve laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen değerli hocam Doc. Dr. Akın YİĞİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım süresi boyunca istatistiksel analizler konusunda bana destek olan değerli hocam Doc. Dr. Kemal YAZGAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenim süresince her daim bana destek olan ve manevi katkılarını esirgemeyen sevgili eşim Dr. Remziye hanım ile her daim sabır ve anlayışları ile yanımda olan manevi destekçilerim kızım Eslem Meva ve oğlum Osman Taha'ya teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim ve öğrenim hayatım boyunca hiçbir maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bu günlere gelebilmemi sağlayan sevgili anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerinden dolayı TAGEM'e, GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlerimiz Zeyni AKTAŞ ile İbrahim Halil ÇETİNER'e ve çalışmalarında emeği geçen tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasını 22066 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasında Şanlıurfa GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne yürütülen “ İvesi Koyunlarının Seleksiyon Yöntemiyle Süt Veriminin Artırılması “ test projesi olarak yetiştirilen hayvanlardan alınan canlı ağırlık verileri kullanılmıştır.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
KISALTMALAR	v
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Türkiyede Küçükbaş Hayvan Varlığı ve Et Üretimi	3
2.2. İvesi Koyunu	4
2.3. Myostatin Proteinin Yapısı	6
2.3.1. MSTN Proteininin Etki Mekanizması	7
2.3.2. MSTN Geninin (GDF8) Yapısı	9
2.3.3. MSTN Geni Promotörü	10
2.3.4. Koyun MSTN Geni Promotörü	10
2.3.5. MSTN Genindeki Polimorfizm ve Verimlerle İlişkisi	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Gereç	13
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	13
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Muhafazası	13
3.2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	13
3.2.3. PCR Çalışmaları ve Sekans Analizi	15
3.2.4. Allel Spesifik PCR işlemi	17
3.2.5. İstatistiksel Analiz	18
4. BULGULAR	20
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇLAR	27
7. ÖNERİLER	28
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	37

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İvesi koyunlarında Myostatin (GDF8) geni promotor bölgesindeki polimorfizm ve kuzularda büyüme ile ilişkisinin araştırılması

BURHAN ATALAR

**HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER GENETİK**

Tez Danışman: Prof. Dr. FARUK BOZKAYA

Yıl: 2024, Sayfa : 37

Sunulan bu tez çalışmasında Şanlıurfa'da yetiştirilen İvesi ırkı koyunların MSTN geni promotor bölgesindeki polimorfizmin sekans analizi ile belirlenmesi ve tespit edilen polimorfizm ile kuzuların doğum ağırlığı ve farklı dönemlerdeki canlı ağırlıkları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın hayvan materyalini GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün Tektek Dağları istasyonunda test projesi olarak yetiştirilen ivesi ırkı kuzular (n=133) ile kuzuların babalarından (n=7) alınan kan örnekleri oluşturmuştur. Kuzuların doğum, 30., 60., ve 90. gün canlı ağırlıkları kaydedilmiştir. Kan örneklerinden fenol koroform ekstraksiyonu ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örnekleri koyun myostatin (GDF8) geninin promotor bölgesinin çoğaltılması amacıyla polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) kullanılmıştır. Koyun promotor bölgesinin 1132 bp kısmı PCR işlemi ile çoğaltılmış ve sekans analizi ile baz dizisi belirlenmiştir. Tespit edilen polimorfizmin (-783G>A) kuzularda belirlenmesi amacıyla alel spesifik PCR yöntemi kullanılmıştır. Allel spesifik PCR işlemleri sonucunda GG, GA ve AA olmak üzere üç farklı genotip tespit edilmiştir. Bu genotiplerin frekansları sırasıyla 0.59; 0.35 ve 0.06 olarak bulunurken G allelinin frekansı 0.76, A allelinin frekansı ise 0.24 olarak hesaplanmıştır. Kuzuların doğum, 30., 60., ve 90. gün canlı ağırlıkları üzerine cinsiyet ve doğum tipinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken, genotip ve babanın etkisi önemsiz bulunmuştur. Laktasyon sırasının sadece doğum ağırlığına önemli etkisi varken, 30., 60., ve 90. gün canlı ağırlıkları üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur.

Sonuç olarak İvesi koyunlarının GDF8 geni promotor bölgesi -783. nükleotidde bir G>A polimorfizmi tespit edilmiştir. Bu polimorfizmin kuzuların doğum, 30., 60., ve 90. gün canlı ağırlıkları üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı, cinsiyet ve doğum tipinin ise incelenen parametreler üzerine önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Koyun, İvesi, Myostatin, Promotor, Polimorfizm

ABSTRACT

MASTER THESIS

Invstigating the polymorphism at the promoter region of myostatin (GDF8) gene in Awassi sheep and assessing its relationship with growth in lambs

BURHAN ATALAR

**HARRAN UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
VETERINARY GENETICS**

**Thesis Supervisor: Prof. Dr. FARUK BOZKAYA
Year: 2024, Page : 37**

In this thesis, it was aimed to determine the polymorphism in the promoter region of MSTN gene of Ivesi breed sheep raised in Şanlıurfa by sequence analysis and to investigate the relationship between the detected polymorphism and birth weight and live weight of lambs at different periods. The animal material of the study consisted of ivesi lambs (n=133) raised as a test project in Tektek Mountains station of GAP Agricultural Research Institute Directorate and blood samples taken from the fathers of the lambs (n=7). Birth, 30th, 60th, and 90th day live weights of the lambs were recorded. DNA was isolated from blood samples by phenol chloroform extraction. The DNA samples obtained were used in polymerase chain reaction (PCR) to amplify the promoter region of sheep myostatin (GDF8) gene. The 1132 bp fragment of the sheep promoter region was amplified by PCR and the base sequence was determined by sequence analysis. Allele specific PCR method was used to determine the detected polymorphism (-783G>A) in lambs. Three different genotypes (GG, GA, AA) were detected as a result of allele specific PCR. The frequencies of these genotypes were found to be 0.59, 0.35 and 0.06 respectively, while the frequency of G allele was 0.76 and the frequency of A allele was 0.24. The effect of sex and birth type on birth weight, 30th, 60th, and 90th day live weights of lambs was statistically significant, while the effect of genotype and sire was found insignificant. Lactation order had a significant effect only on birth weight, while its effect on 30th, 60th, and 90th day live weights was found to be insignificant.

In conclusion, a G>A polymorphism was found at nucleotide -783 in the promoter region of the GDF8 gene of Awassi sheep. This polymorphism had no significant effect on birth, 30th, 60th, and 90th day live weights of lambs, but the effect of sex and type of birth was found to be significant.

KEYWORDS: Sheep, Awassi, Myostatin, Promoter, Polymorphism

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. İvesi Koyunu (GAPTAEM Tektok Araştırma İstasyonu – Tektok dağları Şanlıurfa)	5
Şekil 2.2. İnsan Myostatin proteininin üç boyutlu yapısının şematik gösterimi (Cotton ve ark. 2018)	7
Şekil 2.3. İskelet kası gelişimi ve doğum sonrası büyümenin myostatin kontrolünün şematik illüstrasyonu (Rodríguez ve ark. 2014).	9
Şekil 2.4. Protein sentezi ve yıkımlanmasında myostatin rollerinin şematik gösterimi (Rodríguez ve ark. 2014).	9
Şekil 2.5. Sığır MSTN proteininin aminoasit dizisi ve MSTN geninin ekson intron yapısının şematik gösterimi.	10
Şekil 3.1. İzole edilen bir DNA örneğinin spektrofotometrik ölçüm görüntüsü.	15
Şekil 3.2. PCR sonucu elde edilen ürünlerin %2-3 agaroz jelde kontrol edilmesi	16
Şekil 3.3. Sekans analizine gönderilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü	17
Şekil 3.4. Koyun GDF8 geni promotor bölgesinin analizi için kullanılan primerlerin bağlanma bölgeleri (Gen Bankası kayıt no: AY918121.1).	18
Şekil 4.1. GG ve GA genotipine sahip bireylere ait sekans analiz görüntüsü.	20
Şekil 4.2. Bazı kuzulara ait allel-spesifik PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri. Bireylerin genotipleri jel üzerinde gösterilmiştir. M: 100 bp merdiven.	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Türkiye ‘de Küçükbaş hayvan sayısının yıllara göre değişimi (Anonim 2024)	3
Çizelge 2.2.	Yıllara göre kesilen koyun sayısı ve et üretim miktarı (Anonim 2024).	4
Çizelge 3.1.	Kullanılan Primerler	16
Çizelge 4.1.	Farklı genotip gruplarına ait canlı ağırlıklar	21
Çizelge 4.2.	Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine laktasyon sırasının etkisi	22
Çizelge 4.3.	Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine doğum tipinin etkisi	22
Çizelge 4.4.	Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine cinsiyetin etkisi	23
Çizelge 4.5.	Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine koçun etkisi	23

KISALTMALAR

A : Adenin

AKT : Protein Kinaz B

AS : Allel Spesifik

C : Sitozin

CDK : Siklin bağımlı kinaz

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

dNTP : Deoksinükleotid Trifosfat

Ekson : RNA işlemlenmesi sonucu oluşan ergin RNA'da yer alan bir nükleik asit dizisidir.

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)

FOXO : Forkhead box

G : Guanin

GAP TAEM : GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

GDF-8 : Growth Differentiation Faktor Eight (Büyüme ve Farklılaşma Faktörü 8)

GF : Growth Factor

Ghr : Growth Hormon Receptor

İntron : DNA'nın okunmadan atlanan bölümü

kb : kilobaz (Bin Nükleotitten oluşan baz dizilimi)

Lep : Leptin

MAS : Marker Aracılı Seleksiyon

MHC : Miyozin Ağır Zinciri

MRF : Myogenic Regulation Factor

MSTN : Myostatin

mTOR : Rapamisin kompleksinin memeli hedefi

p21 : Siklin kinaz yolu boyunca hücre döngüsünü inhibe ederek hücre proliferasyonunu düzenler.

PAX3/7 : Eşleştirilmiş kutu transkripsiyon Faktörleri

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

QTL : Quantitative Trait Loci (Kantitatif Özelliklerin Gen Bölgesi)

RAPTOR : Düzenleyici ilişkili mTOR proteini

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri)

RNA : Ribonükleik Asit

SNP : Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)

SSCP : Single Strand Conformation Polymorphism (Tek zincir yapısal polimorfizm)

T : Timin

TAGEM : Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü

TGF- β : Transforming Growth Factor Beta

TLR : Toll Like Receptor

TÜİK : Türkiye İstatistik Kurumu

U : Urasil

UTR : Untranslated Region

uv : ultraviyole

1. GİRİŞ

Geçmişte olduğu gibi günümüzde de insanlar yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için gıdaya ihtiyaç duyarlar. Gıda üretiminde önemli bir yere sahip olan et üretimi de özellikle Türkiye’de önem arz etmektedir. Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tahminlerinin resmi verilerine göre, daha büyük, daha kentsel ve daha zengin bir insan nüfusunu beslemek için, 2050 yılına kadar gıda üretimi %70 civarında artırılmalıdır (FAO, 2015). İnsanların sağlıklı bir şekilde beslenmeleri hayvansal ve bitkisel besinlerin yeterli ve dengeli bir şekilde alınmasıyla mümkündür. Et hayvansal protein düzeyi bakımından en zengin bir besin kaynağıdır (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999). Koyun eti tüm dünyada aranan ve sevilerek tüketilen bir besindir (Akçapınar, 2000). Türkiye’de 98 gram olan kişi başı günlük toplam protein tüketiminin sadece 25.8 gramı hayvansal kaynaklıdır. Bu durum Türkiye nüfusunun dengesiz beslendiğini ve yurt içi talebin yeterince karşılanmadığını göstermektedir (FAO, 2001). Bu nedenle Türkiye’de üretilen et miktarının ve kalitesinin artırılması gerekmektedir (Ünal ve Yakan, 2008).

Besicilikte amaç, hayvanların her gün belirli bir düzeyde canlı ağırlık kazanması olduğundan besi amacıyla kullanılan hayvanlar genetik yapılarının izin verdiği ölçüde çok miktarda ve kaliteli et üretmek için özel olarak beslenmek zorundadır. Besicilikte canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranının bir bileşkesi olan “Besi Performansı” ırk, cinsiyet, yaş, vücut kondisyonu, bakım ve besleme gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Et sektöründe karlılığı önemli ölçüde etkileyen karkas kalitesi ve miktarı hayvanın genotipi, beslenme, iklim vb. faktörlerden etkilenmektedir. Günümüzde bu özellikleri geliştirmek amacıyla yürütülen çok sayıda araştırma hayvanların genetik yapılarının geliştirilmesine odaklanmıştır (Kioumars vd., 2008). Ruminantlar ve kanatlı hayvan türlerinde verim özelliklerini önemli ölçüde etkileyen major genlerin varlığı uzun zamandır bilinmektedir. Koyunlarda callipyge geni (Cockett vd., 1993), Avustralya Poll Dorset koyununda carvell geni (Banks, 1997), Belçika Texel koyunlarında çift kaslılık (double muscling) geni (Marcq vd., 2002), kalpastatin , weaver, leptin (Lep), growth hormon receptor (Ghr) ve pituitary-spesifik transkripsiyon faktör genleri et verimini etkilediği tespit edilen genlere örnek olarak verilebilir (Archibald ve Imlah, 1985; Le Roy vd., 1990).

Miyostatin geni (MSTN, GDF8) hayvanlarda kas gelişiminin durdurulmasından sorumlu olan bir gendir. Birçok çalışmada bu gendeki polimorfizmin et verimini etkilediği gösterilmiştir. Promotor, genlerin yukarı

kısmında bulunan ve RNA polimeraz enziminin tanıyarak bağlandığı bir bölgedir ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Promotor bölgesi aynı zamanda transkripsiyon hızını arttıran (enhancer) ya da yavaşlatan (silencer) çeşitli transkripsiyon faktörlerinin de bağlandığı bir bölgedir. Promotor bölgesinde bulunan nükleotid farklılıkları bu tür transkripsiyon faktörlerinin promotor bölgesine bağlanma etkinliklerini değiştirerek ilgili genin transkripsiyon hızını etkileyebilirler.

Sunulan bu tez çalışmasında Şanlıurfa’da yetiştirilen İvesi ırkı koyunların MSTN geni promotor bölgesindeki polimorfizmin sekans analizi ile belirlenmesi ve tespit edilen polimorfizm ile kuzuların doğum ağırlığı ve farklı dönemlerdeki canlı ağırlıkları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Türkiye’de Küçükbaş Hayvan Varlığı ve Et Üretimi

Türkiye’de 2001 yılından 2023yılı sonuna küçükbaş hayvan varlığı Çizelge 2.1’de gösterilmiştir. Koyun varlığı 2001-2009 yılları arasında her ne kadar inişli çıkışlı bir durum sergilese de genelde aynı düzeyde seyretmiştir. Koyun varlığı 2009 yılında en düşük seviyede iken bu yıldan sonra 2021 yılına kadar artış gözlenmektedir. 2021 yılından sonra ise azaldığı görülmektedir. Her geçen yıl artan insan nüfusu da göz önünde bulundurulduğunda küçükbaş hayvan sayısının azalması insanların ete ulaşımını da zorlaştıracak için oldukça kritiktir.

Çizelge 2.1. Türkiye ‘de Küçükbaş hayvan sayısının yıllara göre değişimi (Anonim 2024)

Yıllar	Koyun Sayısı	Yıllar	Koyun Sayısı
2001	26,972,000	2013	29,284,247
2002	25,173,706	2014	31,140,244
2003	25,431,539	2015	31,507,934
2004	25,201,155	2016	30,983,933
2005	25,304,325	2017	33,677,636
2006	25,616,912	2018	35,194,972
2007	25,462,293	2019	37,276,050
2008	23,974,591	2020	42,126,781
2009	21,749,508	2021	45,177,690
2010	23,089,691	2022	44,687,888
2011	25,031,565	2023	42,060,470
2012	27,425,233		

Türkiye’de kesilen koyun sayıları ve et üretim miktarları Çizelge 2.2’de gösterilmiştir. TÜİK 2024 verilerine göre Türkiye’de 2023 yılında toplam üretilen kırmızı et miktarı 2 milyon 384 bin 47 tondur. Kırmızı et üretim miktarının yaklaşık % 70’ini sığır eti, % 24’ünü koyun eti, % 5,4’ünü keçi eti, % 0,6’sını ise manda eti oluşturmaktadır. Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği kırmızı et üretimi

bakımından % 29,4 ‘lük bir oranla önemli bir yere sahiptir.

Dünyada 2018 yılı itibariyle 87 milyon ton olan toplam kırmızı et üretiminin %77,1’ini sığır eti, %11,2’sini koyun eti,%6,8’ini keçi eti ve %4,9’unu ise manda eti oluşturmaktadır (TAGEM, 2021).

Çizelge 2.2. Yıllara göre kesilen koyun sayısı ve et üretim miktarı (Anonim 2024).

Yıllar	Kesilen hayvan sayısı (Baş)	Et üretim miktarı (ton)	Yıllar	Kesilen hayvan sayısı (Baş)	Et üretim miktarı (ton)
2001	12,450,811	225,555	2013	11,194,725	236,186
2002	11,755,374	219,311	2014	11,991,640	238,670
2003	11,052,075	204,441	2015	12,808,697	249,863
2004	10,725,580	190,105	2016	13,277,503	266,675
2005	10,731,398	190,539	2017	13,244,903	262,825
2006	10,704,436	187,236	2018	14,133,170	291,179
2007	10,792,554	191,428	2019	14,546,576	316,170
2008	10,826,034	192,647	2020	15,801,021	345,639
2009	10,477,951	188,496	2021	17,125,163	385,933
2010	9,691,041	186,121	2022	21,563,828	489,354
2011	10,700,807	210,171	2023	25,437,813	569,066
2012	10,755,777	220,359			

2.2. İvesi Koyunu

Fırat ve Dicle nehirleri arasında kalan Mezopotamya’dan köken alan İvesi koyunları. Türkiye’de Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yer alan Gaziantep, Şanlıurfa ve Hatay illeri ve çevresinde yayılım gösterir (Kiraz ve Ağar, 2016). Vücudu beyaz yapağı ile örtülüdür baş, boyun ve ayaklar kahverengi, kirli sarı ya da siyahtır (Kaymakçı, 2007). Yağlı kuyruklu bir koyun ırkı olan İvesi koyunu yetersiz çevresel koşullara ve yüksek sıcaklık ortamına çok iyi uyum sağlamıştır. Sürü içgüdüğü güçlü ve yürüme yeteneği çok iyidir. Yerli koyun ırkları arasında süt verimi en yüksek

olanıdır. Kuzuların yoğun beside ağırlık artışı diğer yerli ırklardan yüksektir (Ertuğrul vd., 2009). Yüksek adaptasyon yeteneği nedeniyle Ortadoğu Ülkeleri, İsrail, Avustralya, İngiltere, Yeni Zelanda, İspanya, Amerika Birleşik Devletleri, ve Afrika ülkeleri gibi dünyanın değişik bölgelerinde saf yetiştirme ve melezleme amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Özellikle Türkiye ve Ortadoğu ülkelerinden ithal edilen ivesi koyunlarının ıslah edilmesiyle İsrail’de bir laktasyonda 300–500 litre süt veren sürüler geliştirilmiştir (Gootwine ve Pollot, 2000. Fuente vd., 2006). Yabancı kaynaklarda Awassi olarak adlandırılan İvesi yayılma alanı her yıl artmaktadır (Sönmez, 1974). Türkiye’de İvesi koyunları üzerinde ilk bilimsel çalışma, Ceylanpınar Devlet Üretim Çiftliği’nde 1955 yılında Sönmez tarafından yapılmıştır (Sönmez, 1955).



Şekil 2.1. İvesi Koyunu (GAPTAEM Tektok Araştırma İstasyonu – Tektok dağları Şanlıurfa)

Hayvancılığın geliştirilmesi, üstün fenotiplere sahip damızlık bireylerin seçimine odaklanmıştır. Koyunculukta klasik ıslah programları çok çaba, zaman ve yatırım gerektirir. Genetik kazanç için seçimi en üst düzeye çıkaran giderek daha gelişmiş istatistiksel yöntemlerin geliştirilmesiyle, bu basit yaklaşım, tarımsal çıktı miktarını ve üretkenliği artırmada son derece başarılı olmuştur. (Gürses ve Bayraktar, 2014; McGill ve Lievaart, 2011).

Genetik kaynakları tanımlamak, korumak ve geliştirmek için yerli ırklara öncelik vermek ve bu ırkların tanımlanması ve karakterizasyonu gereklidir (Soysal vd., 2020). Son zamanlarda, DNA düzeyinde polimorfizm gösteren moleküler belirteçlerin kullanımı, hayvan genetiği çalışmalarında giderek artan bir rol oynamaktadır. Verim özellikleri için kantitatif karakter lokuslarını belirleme stratejileri (QTL: Quantitative Trait Loci) ile major genlerin belirlenmesi, koyun

ırklarının ekonomik özelliklerinin genetik olarak iyileştirilmesine yardımcı olabilir (Cemal ve Karaca, 2006).

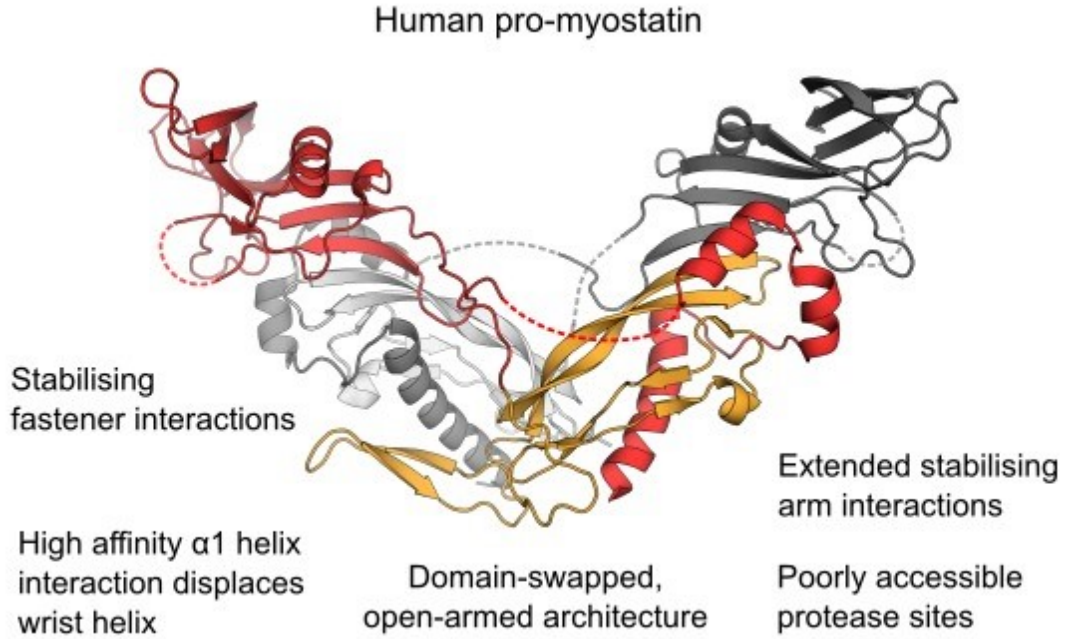
Tarımda birim alandan elde edilen verimin artırılması çok önemli olduğu gibi hayvancılıkta da verimin artırılması çok önemlidir (Ünal ve Yakan, 2008). Küresel iklim değişikliği, kuraklık ve kıtlık gibi konuların çok sık konuşulduğu günümüzde her geçen gün artan dünya nüfusunun, gıda ihtiyacının karşılanması gerekmektedir (FAO, 2015). Bu ihtiyacın karşılanabilmesi açısından et üretiminin artırılmasının önemi bir kez daha ön plana çıkmaktadır (Ünal ve Yakan, 2008). Son yıllarda özellikle kantitatif genetik biliminin de gelişmesiyle tarım ve hayvancılıkta verimin artırılması açısından genetik çalışmalar hız kazanmıştır. Özellikle DNA dizileme yöntemlerinin keşfedilerek PCR tekniklerinin geliştirilmesi ile verimi artırmaya yönelik yapılan çalışmalar moleküler düzeyde yapılabilir hale gelmiştir. Böylelikle bir çok gen tarafından belirlenen kantitatif özelliklere yönelik genetik iyileştirme çalışmalarında moleküler belirteçlerin kullanılabilir olması çok dikkat çekicidir (Abaylı, 2018).

Genetik iyileştirme programları, büyüme, et kalitesi, süt üretimi ve diğerleriyle ilgili ilişkili genleri inceleyerek koyunlarda üretim ve üremeyi artırmada önemli bir rol oynar (Hussein ve Naoman, 2021). Çeşitli ekonomik özellikleri etkileyen önemli genlerin belirlenmesi, özellikle marker destekli seçim (MAS) olmak üzere gelecekteki iyileştirme ve seçim programları için önemli fırsatlar sağlayabilir (Eusebi vd., 2019). Ülkemizde de karkas kalitesinin iyileştirilerek verimin artırılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir (Ekiz vd., 2022; Tekerli vd., 2022; Esen, 2022; Çelikoğlu vd., 2022).

2.3. Myostatin Proteinin Yapısı

Myostatin, dönüştürücü gelişim faktörleri (Transforming growth factor, TGF- β) ailesi içerisinde yer alan ve büyüme ve farklılaşma faktörü 8 (Growth and differentiation factor 8, GDF8) olarak tanımlanan bir proteindir (Sharma vd., 1999). Diğer TGF- β ailesi üyelerinde olduğu gibi myostatin proteini N-terminal ucunu oluşturan bir $\alpha 1$ sarmal-döngü- $\alpha 2$ sarmal (helix-turn-helix) yapısında “önkol” adı verilen bir bölüm ve C-terminal kısmını oluşturan küresel yapıda “kol” adı verilen bir domainden oluşur. Myostatin önkol domaini TGF- $\beta 1$ ve pro-aktivin A proteinlerinin yapısına benzer olmakla birlikte $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ sarmalları birbirine bağlayan “saklı kement” (latency lasso) adı verilen zincirde kısa bir α -sarmal yapısı oluşturan beş amino asitlik bir ek taşır. $\alpha 1$ -sarmal gelişim faktörü (GF) domaininin içbükey

yüzeyinde hidrofobik bir çukuru doldururarak tip I reseptör bağlanma bölgesini bloke eder. α 1-sarmalı saklı kement takip eder GF domaininin “parmak uçları” arasına sarılarak ön ve GF domainleri arasında bir ara yüz oluşturur. Proteinin diğer ucundaki α 2 sarmal GF domaininin dışbükey yüzeyi boyunca uzanarak tip II reseptör bağlanma bölgesini kapatır (Cotton vd., 2018).



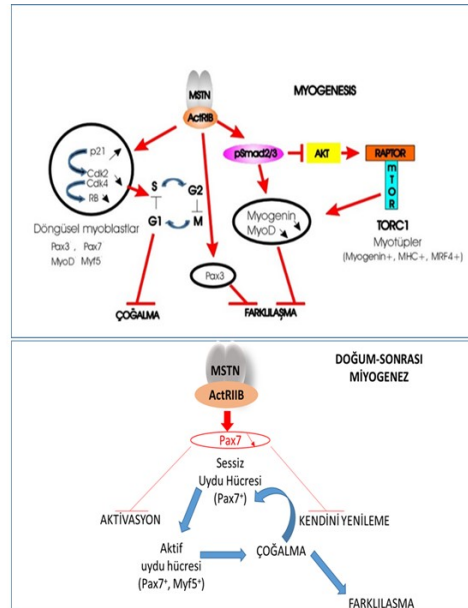
Şekil 2.2. İnsan Myostatin proteininin üç boyutlu yapısının şematik gösterimi (Cotton ve ark. 2018)

2.3.1. MSTN Proteininin Etki Mekanizması

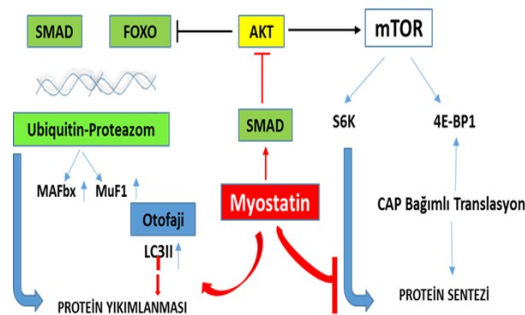
TGF β ailesi üyeleri (büyüme farklılaşma faktörleri, kemik morfogenetik proteinleri, aktivinleri ve inhibitörleri) büyüme, gelişme, doku homeostazı, hücre bölünmesi, embriyogenezis, kan hücrelerinin oluşumu, immün ve inflamatuvar yanıtlar gibi hücrelerin düzenlenmesinde temel rol oynar (Fabre vd., 2006). Myostatin kas gelişimini güçlü şekilde engeller. Nitekim farelerde myostatin geninin çeşitli şekillerde etkisizleştirilmesinin aşırı kas gelişimi ile sonuçlandığı gözlenmiştir (McPherron, 1997; Grobet vd., 2003; Whittemore vd., 2003). Kas hücrelerinin sayısal olarak çoğalması (hiperplazi) ve hacimlerinin artması (hipertrofi) nedeniyle myostatin geni susturulmuş 5 aylık homozigot farelerin canlı ağırlıkları normal farelere göre %260 oranında daha yüksek olarak bulunmuştur (McPherron, 1997). Ayrıca follistatin gibi myostatin inhibitörlerinin aşırı ekspresyonu benzer bir fenotipin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Lee ve McPherron, 2001).

İskelet kası, omurgalıların vücudundaki en bol dokudur. Metabolizması tüm organizmanın metabolik dengesini etkiler ve vücudun ana protein rezervuarıdır. Kullanılma veya kullanılmama durumuna bağlı olarak çeşitli dış uyaranlara sürekli bir şekilde uyum sağlayabilen esnek bir dokudur. Kas kütlesi, protein sentezi ve bozunma arasındaki dinamik dengenin sonucudur. (Ruegg vd., 2011; Sandri vd., 2008). Bu denge, AKT sinyal yollarının iki ana Dalı tarafından işbirliği içerisinde düzenlenir: Bu yollar protein sentezini kontrol eden AKT (protein kinaz B olarak da bilinir)-mTOR yolu ve protein yıkımını kontrol eden AKT/forkhead box O (FOXO) yollarıdır. Myostatin kas gelişimini durdurduğundan bu proteinin engellenmesi iskelet kasında aşırı gelişime (hiperplazi ve hipertrofi) neden olurken aşırı düzeyde sentezlenmesi veya sistemik olarak uygulaması kaslarda atrofiye neden olmaktadır. Myostatin ayrıca protein sentezi ve yıkımını süreçlerinde de merkezi bir rol oynar. Myostatin, protein sentezini teşvik eden Akt yolunun aktivitesini olumsuz olarak düzenler ve ubiquitin-proteazom sisteminin aktivitesini arttırarak kas gelişimini durdurur. (Rodriguez vd., 2014).

İskelet kası hücre döngüsü geri çekilmesi ve farklılaşmanın her aşaması, siklin bağımlı kinazların (CDK), CDK inhibitörlerinin (CDKI) ve miyozin ağır zincirleri (MHC) gibi kas düzenleyici faktörlerin (MRF 'ler) aktivasyonu ile koordine edilir. Proliferasyon fazı sırasında, myostatin p21'i (CDKI) yukarı doğru düzenleyebilir ve sonuç olarak CDK2 ve CDK4 ve fosforile RB seviyeleri azalır ve hücre döngüsünün durmasına neden olur. Myostatin, MRF 'leri (Miyod ve miyogenin gibi) ve transkripsiyon faktörü PAX3'Ü aşağı düzenleyerek farklılaşmayı daha da inhibe eder. RAPTOR blokajı ayrıca kas farklılaşmasının myostatin inhibisyonunu kolaylaştırır. Myostatin ayrıca, transkripsiyon faktörü PAX7'yi aşağı düzenleyerek olgun kas hücrelerinde uydu hücre aktivasyonunun ve kendi kendini yenilemenin engellenmesine katkıda bulunur (Rodriguez vd., 2014).



Şekil 2.3. İskelet kası gelişimi ve doğum sonrası büyümenin myostatin kontrolünün şematik illüstrasyonu (Rodriguez ve ark. 2014).

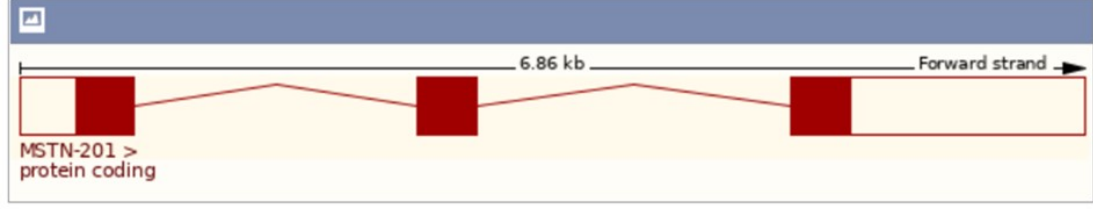


Şekil 2.4. Protein sentezi ve yıkımlanmasında myostatin rollerinin şematik gösterimi (Rodriguez ve ark. 2014).

2.3.2. MSTN Geninin (GDF8) Yapısı

Koyun, sığır ve keçide yaklaşık 6.7 kb büyüklüğünde olan MSTN geni 375 aminoasit uzunluğunda bir proteini kodlamaktadır ve uzunlukları 373, 374 ve 381 bp olan üç eksondan oluşmaktadır (Boman vd., 2009).

MQKLQISVYIYLFMLIVAGPVDLNENSEQKENVEKEGLCNACLWRENTTSSRLAIIKIQI
 LSKLRLETAPNISKDAIRQLLPKAPPLLELIDQFDVQRDASSDGSLEDDDYHARTETVIT
 MPTE~~SDLLTQVEGKPKCCFFKFSSKIQYNKLKVAQLWIYLRPVKTPATVFVQILRLIKPM~~
~~KDGTRYTGIRSLKLDMPGTGIWQSIDVKTVLQNLKQPE SNLGIEIKALDENGHD LAVT~~
~~FPEPGEDGLTPFLEVKVTDTPKRSRRDFGLDCDEHSTESRCCRYPLTVDFEAFGWDWIIA~~
 PKRYKANYCSGECEVFVLQKYPHTLHVQANPRGSAGPCCTPTKMSPINMLYFNNEGQII
 YGKI PAMVVDRCGCS



Şekil 2.5. Sığır MSTN proteininin aminoasit dizisi ve MSTN geninin ekson intron yapısının şematik gösterimi.

2.3.3. MSTN Geni Promotörü

Gen promotörleri, RNA polimeraz ve bazal transkripsiyon faktörlerinin gen ifadesini yönlendirmek için bağlandığı spesifik DNA dizileridir (Wilt ve Hake, 2004). Promotörler, etkileri altındaki genlerin 5' bölgesinde bulunur ve genellikle RNA polimeraz enziminin tanıyarak bağlandığı ve transkripsiyonun başlaması için gerekli bilgileri içeren çekirdek promotör ve çekirdek promotörün yukarısında bulunan ve dokuya özgü transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını sağlayan kritik dizileri içeren proksimal promotörden oluşur (Heintzman ve Ren, 2007). Bu, MSTN promotör bölgesinde tanımlanan E-box motifleri bu genin transkripsiyonunda kritik role sahiptir; Bu motifler temel sarmal-ilmek-sarmal transkripsiyon faktörleri için bağlanma bölgeleri oluşturmaktadır (Hu vd., 2013).

MSTN aktivitesini bloke etmeye veya düzenlemeye yönelik planlamaların çoğu proteinine veya reseptörüne odaklanmış olsa da, MSTN ifadesinin farklı seviyelerde de düzenlendiği bildirilmiştir. Örneğin, mikroRNA miR-27b, 3' kodlanmayan bölgedeki varsayılan bir tanıma dizisi aracılığıyla MSTN ifadesini transkripsiyon sonrasında zayıflatabilmektedir (Allen, 2011). Bu, gen promotörü gibi unsurlar aracılığıyla transkripsiyonel düzenleme de dahil olmak üzere diğer düzenleme seviyelerinin de önemli olduğunu göstermektedir (Grade vd., 2019).

2.3.4. Koyun MSTN Geni Promotörü

Koyun 5' düzenleyici bölgesinin yaklaşık 1,5 kb'lık kısmının analizi, bu bölgenin keçi (%98,1), sığır (%95,8), domuz (%86,9), insan (%80,2) ve fare (%67,7) ile yüksek derecede korunmuş olduğunu göstermiştir (Du vd., 2005). Üç farklı TATA kutusu ve bir CAAT kutusu tanımlanmıştır (sırasıyla - 139, - 163, - 523 ve -

206 bp). TATA kutuları 1, 2 ve CAAT kutuları koyun, keçi, domuz ve sığır arasında hem pozisyon hem de sekans olarak korunurken, TATA kutusu 3 domuz MSTN promotöründe korunmamıştır (Du vd., 2005). Song ve diğerleri (2016) yaptıkları bir çalışmada üç farklı yazılım kullanarak koyun MSTN çekirdek promotörünün başlangıç kodonunun 150 ila 220 bp yukarısındaki bölgeyle sınırlı olduğu sonucuna varmış ve bu bölgede TATA kutusunu (156-165 bp'den oluşur) ve CAAT kutusunu (başlangıç kodonundan 202-207 pozisyonunda) tanımlayabilmişler ve bu bölgede birkaç kasa özgü bağlanma bölgesi de tahmin etmişlerdir (Du vd., 2005; Song vd., 2016).

Promotörün yaklaşık 1,2 kb'lik kısmında sekiz E-kutusu bulunmuştur (Şekil 1.6); bunlardan yedisi (E5 hariç) koyun ve keçi arasında pozisyon ve sekans olarak korunmuştur ve domuz E-kutularıyla da örtüşmektedir. Altı E-kutusu (E4 ve E5 hariç) sığır promotörünün E1, E2, E3, E4, E5 ve E7'si ile neredeyse aynı konumdadır (Du vd., 2005). Silme deneyleri, E-kutusu 3, 4, 5 ve 7'deki değişikliklerin promotör aktivitesi üzerinde önemli etkileri olduğunu ve E-kutusu 7'nin tüm bölgeler arasında en önemlisi olduğunu ortaya koymuştur. E-kutusu 3, 4 ve 5, muhtemelen DNA-protein bağlanmasının daha iyi stabilitesi için önemli olan bir küme halinde düzenlenmiştir. E-kutusu 3, 5 ve 7 muhtemelen miyoblastların miyotüplere farklılaşmasında rol oynar, çünkü bu üç bağlanma bölgesinde mutasyon içeren bir yapı, hücreler farklılaşmaya tabi tutulduğunda 1,2 kb 5' düzenleyici bölgenin tamamı için gözlemlenen artışın aksine promotör aktivitesini etkilememiştir (Du vd., 2007).

2.3.5. MSTN Genindeki Polimorfizm ve Verimlerle İlişkisi

MSTN geninde mutasyon taşıyan ve artmış kas yapısı gösteren bir insan çocuğunun da tespit edilmesi geçtiğimiz yıllarda bu genin incelenmesine olan ilgiyi daha da artırmıştır (Schuelke vd., 2004). MSTN, iskelet kası oluşumu sırasındaki rolüne ek olarak, doğumdan sonra bu dokunun homeostazını da düzenler. Aslında, kaşeksi, kas distrofileri ve diğer kas bozuklukları gibi kas kaybı veya erimesi süreçlerinden muzdarip hastaların kan akışında veya kas liflerinde daha yüksek MSTN proteini seviyeleri gözlenmektedir (Jespersen vd., 2006; Joulia-Ekaza ve Cabello, 2007; Wójcik vd., 2005). Daha da önemlisi, spesifik antikorlarla MSTN inhibisyonunun distrofik farelerin kas kütlesini önemli ölçüde artırdığı görülmektedir, bu da bu molekülü kas erimesi hastalıklarının potansiyel tedavileri için önemli bir hedef haline getirmektedir (Bogdanovich vd., 2002). Aslında, çeşitli yaklaşımlar MSTN protein aktivitesini in vivo olarak azaltmaya çalışmıştır. Örneğin, bir DNA aşısının kan biyokimyasını değiştirmeden veya belirgin yan etkilere neden

olmadan vücut ağırlığını ve iskelet kası kütlesini artırdığı gösterilmiştir (Tang vd., 2007). MSTN protein fonksiyonunu bloke etmek için nötralize edici bir antikor ve dominant-negatif bir reseptör de kullanılmıştır (Takata vd., 2007). Bu nedenle, MSTN aktivitesini düzenleyebilecek teknolojilerin geliştirilmesi, hem insan sağlığı hem de çiftlik hayvanlarının geliştirilmesinde uygulama için büyük bir potansiyele sahip olacaktır.

Myostatin geninde doğal olarak meydana gelen mutasyonlar sığır (Grobet vd., 1997; Kambadur vd., 1997), koyun (Cloup vd., 2006), köpek (Mosher vd., 2007), fare (Szabo, 1998) ve insanda da (Schuelke vd., 2004) aşırı kas gelişimi ile sonuçlanmaktadır. Yüksek et verimi ile karakterize Belçika Mavisi ırkı sığırlarda myostatin geninin (MSTN) 3. eksonundaki 11 nükleotitlik bir delesyonun bu geni tamamen etkisizleştiren bir çerçeve kaymasına neden olduğu bildirilmiştir (Sharma vd., 1999).

Birkaç farklı türde, promotör bölgedeki SNP 'lerin vücut yapısıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Crisà vd., 2003; Sarti vd., 2014; Han vd., 2012; Guimaraes vd., 2007; Jiang Y-L vd., 2002; Stinckens vd., 2008; Yu vd., 2007; Tu P-A vd., 2014; Wang vd., 2016; Dall'Olio vd., 2010; Stefaniuk vd., 2014; Qiao vd., 2014; Paswan vd., 2014; Lu vd., 2011; Peñaloza vd., 2013; Li vd., 2012; Fan vd., 2017; Li vd., 2016). Bu da bunun özellikle ıslah amaçlı olası müdahale için potansiyel bir ilgi bölgesi olduğunu göstermektedir (Grade vd., 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmanın hayvan materyalini GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünün Tektek dağları eteğindeki istasyonda test projesi olarak yetiştirilen ivesi ırkı kuzular (n=133) ile bu kuzuların babalarından (n=7) alınan kan örnekleri oluşturmuştur. Kan örnekleri toplanan kuzuların doğum ve süten kesim ağırlıklarına ilişkin veriler işletme kayıtlarından temin edilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan soğutmalı santrifüj (Sanyo Harrier - 18/80), gradient özellikli termocycler (Takara – TP600), mikro-hacim spektrofotometre (Denovix), buzdolabı (BOSCH - KSU496221 NE), derin dondurucu (BOSCH –GSD30410NE), distile su cihazı (GFL – 2004), hassas terazi (RADWAG – WAS220/X), manyetik karıştırıcı (VELP ARE), pH metre (THERMO Orion Star), horizontal elektroforez ünitesi (ATTO – AE6110), UV. Transilluminatör (UVP 3UV), vortex (VELP 10.0176), ETÜV (NÜVE) çalışmanın yürütüldüğü Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anabilim Dalı Genetik Laboratuvarları'nda hazır bulunmaktadır.

3.2. Yöntem

Laboratuvar çalışmaları Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı'nda bulunan Genetik Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Muhafazası

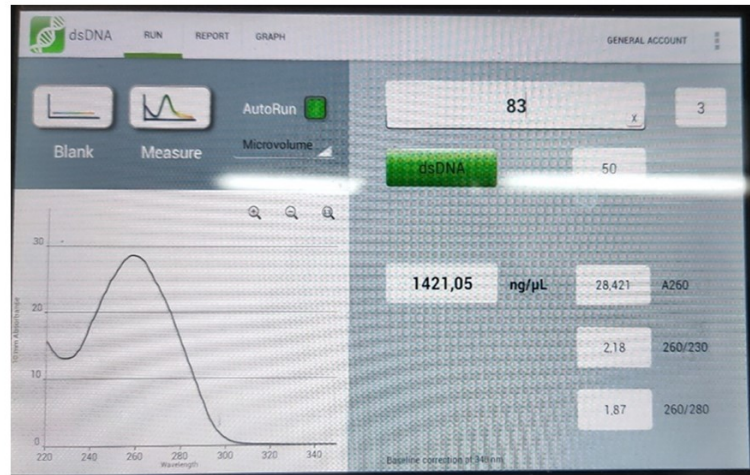
Çalışma kapsamında yer alan Enstitüsü Müdürlüğünün Tektek dağları eteğindeki istasyonda yetiştiriciliği yapılan ivesi ırkı kuzuların ve babaların Vena jugularis'ten (boyun toplardamarı) 3 ml kan örneği antikoagülant olarak EDTA K3 içeren vakumlu tüplere alınarak numaralandırılmışlardır.

Alınan kan örnekleri kuru buz ile birlikte plastik termos içinde laboratuvara taşınmış soğuk zincir bozulmamıştır ve DNA izolasyonu basamağına kadar buzdolabında -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Kan örneklerinde Fenol Kloform ekstraksiyon yöntemiyle Aşağıda belirtilen protokol ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Steril eppendorf tüplerine 600 µl

kan örneği, 900 µl Tris (20 milimolar 500 µl) eklenip homojenize edilerek karışım 10000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Süre sonunda tüplerin üzerindeki kısım atılarak üzerine 900 µl % 2 NaCl içeren Tris ilave edilerek vortex işlemi ile homojenize edildikten sonra 5 dakika süreyle 10000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süre sonunda tüplerin üzerindeki kısım üzerine 650 µl Lysis çözeltisi, 20 µl Proteinaz K eklenerek vortex işlemi ile homojenize edilmiştir. Karışım 56 °C'ye ayarlı Etüvde her yarım saatte bir kontrol edilmek suretiyle 6 saat süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda etüvden çıkarılan karışımın üzerine 50 µl 1 Molar Tris, 400 µl Fenol, ilavesinden sonra homojenize edilerek 10 dakika süreyle 12000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süre sonunda tüplerin üstündeki kısım pipet yardımıyla 700 µl alınarak steril eppendorf tüplerine aktarılarak, üzerine 700 µl Kloroform ilave edip homjenize edildikten sonra 5 dakika süreyle 12000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süre sonunda santrifüjden çıkarılan tüplerin üzerinde kalan DNA içeren kısım pipet yardımıyla 500 µl alınarak steril eppendorf tüplerine aktarıldıktan sonra üzerine 500 µl 3 Molar Na Asetat, 500 µl İsoopropanol ilave edildikten sonra homojenize edilerek 10 dakika süreyle 14000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süre sonunda tüplerin üzerindeki kısım atılarak üzerine 750 µl %75'lik Etanol İlave edildikten sonra 2 dakika süreyle 14000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süre sonunda tüpteki sıvı kısım atılarak boşaltıldıktan sonra tüplerin ağzı açık olacak şekilde 56 °C'ye ayarlı Etüvde yatay olarak 10 dk. süreyle kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda Etüvden alınan tüplerin üzerine 100 µl TE Buffer çözeltisi ilave edilerek elde edilen DNA çözdürülmüştür. Eppendorf tüpü içinde elde edilen DNA örneği daha sonra kullanılmak üzere -20°C'ye kaldırılarak muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. İzole edilen bir DNA örneğinin spektrofotometrik ölçüm görüntüsü.

3.2.3. PCR Çalışmaları ve Sekans Analizi

Koyun GDF8 geninin promotor bölgesinin analizi amacıyla kullanılan primer çiftlerinin baz dizisi Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Sekans analizi amacıyla GDF8 geninin promotor bölgesinin 1133 bp uzunluğundaki kısmı OAMST-F ve OAMST-R adlı primerler kullanılarak PCR işlemi ile çoğaltılmıştır. Primerler internet tabanlı Primer3 programı kullanılarak dizayn edilmiştir.

Sekans analizine gönderilecek olan örnekler için 25 μl hacminde PCR reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 2.5 μl 10X reaksiyon buffer, 2.5 mM MgCl₂, her bir primerden 0.8 μM, her bir dNTP 0.2 mM, 2.5 U Taq Polimeraz ve 100 ng genomic DNA olacak şekilde oluşturulmuştur.

Hedef bölgenin çoğaltılması amacıyla 5 dakika 94 °C’lik başlangıç denatürasyon adımından sonra 35 döngü olacak şekilde 30 saniye 94 °C, 30 saniye 56 °C ve 60 saniye 72 °C sıcaklık uygulamasının ardından 72 °C de 7 dakikalık son ekstensiyon adımı uygulanmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 μl’si %2’lik agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuş ve agaroz jelde net bantlar veren örnekler sekans analizine gönderilmiştir.

Tespit edilen polimorfizme göre sürünün kuzuların genotiplemesi alel spesifik PCR yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla hedef bölgeyi içerecek şekilde yeniden primer dizayn edilmiştir. Alel spesifik PCR sonucu elde edilen ürünlerin kontrolü %2-3 agaroz jel elektroforezi ile gerçekleştirilmiştir.

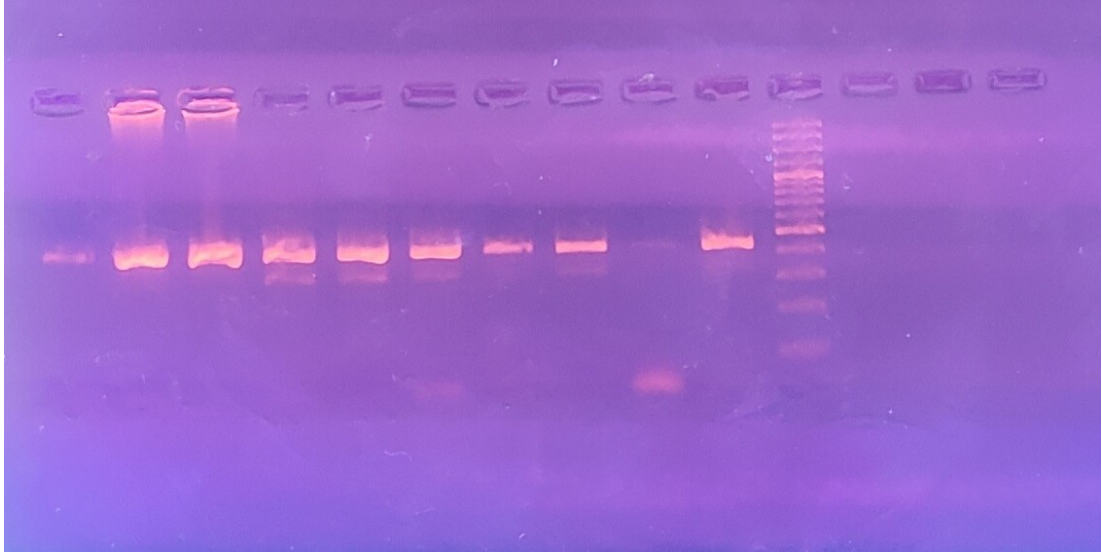
Çizelge 3.1. Kullanılan Primerler

	Primer Adı	Baz dizisi (5'-3')
Sekans Analizinde Kullanılan Primerler	OAMST-F	ACCTTACCCCAAATCCCTGC
	OAMST R	AGCCAAACGTTAATGCCTGC
Allel spesifik PCR için kullanılan primerler	BAMST-A1:	GTAGTCAATCGAAACTGACATG
	BAMST-A2:	GTAGTCAATCGAAACTGACATA
İnternal Kontrol Primerleri	TLR1-890-F	TCCAGTGTGCAGTCAATCAC
	TLR1-890-R	AGAACCTTGATCTGAGGAGGT

Sekans analizine gönderilen PCR ürünleri spin kolon saflaştırma yöntemiyle diğer reaksiyon bileşenlerinden temizlenmiştir. PCR ürünlerinin baz dizileri ABI PRISM 3130XL (Applied Biosystems) otomatik sekans analiz cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Sekans analizi özel bir firmaya hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.



Şekil 3.2. PCR sonucu elde edilen ürünlerin %2-3 agaroz jelde kontrol edilmesi



Şekil 3.3. Sekans analizine gönderilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

3.2.4. Allel Spesifik PCR işlemi

GDF8 geninin promotor bölgesindeki -783G/A polimorfizmini tespit etmek amacıyla BAMST-A1 ve BAMST-A2 adlı primerler 3' uçlarında sırasıyla G ve A nükleotidi bulunacak şekilde dizayn edilmiştir. Primerlerin spesifikliğini arttırmak amacıyla 3' ucundan itibaren dördüncü nükleotid olan A yerine C nükleotidi dejenere nükleotid olarak belirenmiştir (Çizelge 3.1). Allel spesifik PCR işleminde -783G allelini tespit etmek amacıyla BAMST-A1 ve OAMST-R, -783A allelini tespit etmek amacıyla BAMST-A2 ve OAMST-R primerleri kullanılmıştır. Her bir örnek için iki PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek için PCR reaksiyonunda ayrıca internal kontrol lokusu olarak TLR1 geninin 890 bç'lik kısmını çoğaltmak amacıyla TLR1-890-F ve TLR1-890-R primerleri kullanılmıştır (Seabury vd., 2007). Koyun GDF8 geninin promotor bölgesinin analizi amacıyla kullanılan primerlerin bağlanma bölgeleri Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

Allel spesifik PCR işlemi amacıyla kullanılan PCR reaksiyon karışımı 12.5 µl olacak şekilde 1.25 µl 10X reaksiyon buffer, 2.5 mM MgCl₂, her bir allel spesifik PCR primerinden primerden 0.4 µM, her bir TLR1-890 primerinden 0.2 µM, her bir dNTP 0.2 mM, 1.25 U Taq Polimeraz ve 100 ng genomic DNA olacak şekilde oluşturulmuştur.

Allel spesifik PCR işlemi için Touchdown uygulaması yapılmıştır. Bu amaçla 5 dakika 94 °C'lik başlangıç denatürasyon adımından sonra 62 °C'den 56 °C'ye her bir adımda 1 °C düşecek şekilde 20 saniye 6 döngü, daha sonra 25 döngü olacak şekilde 15 saniye 94 °C, 20 saniye 56 °C ve 60 saniye 72 °C sıcaklık uygulamasının

ardından 72 °C de 5 dakikalık son ekstensiyon adımı uygulanmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin 4 µl'si %2'lik agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

```
AGACCTTACCCCAATCCCTGCAGGAGTCTGCCCTCCGGTCAAATGAGAACTTCAAAGGAAGTACTAGGAAGTGG
CACAGTATTAGAAAGGAGAAAAATGTACCAGCACAGTAGTGAGAAGCAGAAAAATGGAACATAAAGAACACCTTTATG
ACGGCGTTCCTTTCTTTCTGTGTTTCAATGTTTGGATATAATTTACAGAGAGTAGGTAACGTTTTTTCTTTT
ACCGCTGGAAAGCTGAGGAAATGTTTGTACCCATCATAAAATTCATATCTTCTAAGTCATTCTAAGTTATTCTAAG
ATCAAATTGCTGACAATATCCTCTTTGTAACAAACAATGAAAAACACATCCTCTAAGCCACATTAATCTGCAACTTT
GATAGGAAGTAATCAATAGTAGTCAATCGAACTGAATG/ACAATTTTCATATGAATAAAGATATTATTTAAAAG
TAATTCATGAGCAATTTAATATTAAAGTAGGATTTTCATTATGTGCTAAGAATTTATTTCAGGGGAACAAGTTTCTCA
AATTATAGCAGAAAAATCTTTTACTAGTATCACAATCTTTTCATTTAAGTCTTCCTGAATAAATCTGTATTTTCTAACT
ATACAAGACTAAAAATAATTTAATATAACGAATAAACTCTTTTTATTCAAATGCTTACTTAAATAGTATAAAATCA
TTTTATTTTCTGAGGGAAAAACATATCAACTTTTTTAAGTATGAAGTGAAGTTAAGATTTTACTTAAATTATAAT
TTTAAAGTTTTCACATATAAGGATGAATAAGATCTAAGTGCATATGTTATTGTTACTAAAGTTTTTAATTTTCAAATG
TCACAGACAGCCTTTATTATTCATAGATTTATCTTTTAAAGAGTAGTCAAATGAATCAGCTCACCCCTTGACTGTAA
CAAAATACTGTTTGGTGACTTGTGACAGACAGGGTTTTAACCTCTGACAGTGAGATTCTTGTGGAGCAAGAGCCAAT
CACAGATCCCAGCAGCACTTGTCTCATCAAAGTTGGAATATAAAAGCCACTTGAATACAGTATAAAAGATTCAGTG
GTGTGGCAAGTTGTCTCTCAGACTGGGCAGGCATTAACGTTTGGCTTGGCGTTACTCAAAGCAAAAGAAAAGTAAA
AGGAAGCAGTAAGAGCAAGGAAAAAGATTGTATTGATTTTAAACCATGCAAAAACCTGCAAACTCTTGTATTATTTA
CCTATTATGCTGCTTGTGCTGGCCAGTGATCTGAATGAGAACAGCGAGCAGAGGAAAAATGTGGAAAAAAGGG
GCTGTGTAATGCATGCTTGTGGAGACAAAACAATAATCCTCAAGACTAGAAGCCATAAAATCCAAATCCTCAGTAA
GCTTCGCCTGGAAACAGCTCCTAACATCAGCAAAGATGCTATAAGACAACTTTTGCCCAAGGCTCCTCCACTCCGGGA
ACTGATTGATCAGTACGATGTCCAGAGAGATGACAGCAGC
```

Şekil 3.4. Koyun GDF8 geni promotor bölgesinin analizi için kullanılan primerlerin bağlanma bölgeleri (Gen Bankası kayıt no: AY918121.1).

Sekans analizi için kullanılan primerlerin bağlanma bölgeleri kutu içerisinde kalın harflerle gösterilmiştir. Allel spesifik PCR için kullanılan ileri primerlerin bağlanma bölgesi kalın harflerle altı çizili olarak gösterilmiştir. Allel spesifik PCR için kullanılan primerlerdeki dejenere nükleotid (A yerine C) kutu içerisine alınmıştır. Polimorfik nükleotidler "/" ile ayrılmıştır. Başlangıç kodonu (atg) kalın küçük harfle yazılmış ve altı çizilmiştir.

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Koyun MSTN geninde tespit edilen polimorfizm ile gelişme parametreleri arasındaki ilişki basit regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel model aşağıda belirtilmiştir;

$$y_{ijklmn} = \mu + g_i + c_j + dk + pl + sm + byx_{Xijklmn} + e_{ijklmn}$$

y_{ijklmn} = i. geni taşıyan, j. cinsiyetteki, k. doğum tipindeki, l. laktasyon sırasındaki anadan doğan, babası m olan n. kuzunun tartım ağırlığı

$$\mu = \text{populasyon ortalaması}$$

$g_i = i$. Geninin etki miktarı

$c_j = j$. Cinsiyetin etki miktarı

$d_k = k$. Doğum tipinin etki miktarı

$l = l$. Laktasyon sırasının etki miktarı

$s_m = m$. Babanın etki miktarı

b_{yx} = tartım ağırlığının doğum ağırlığına göre regresyon katsayısı

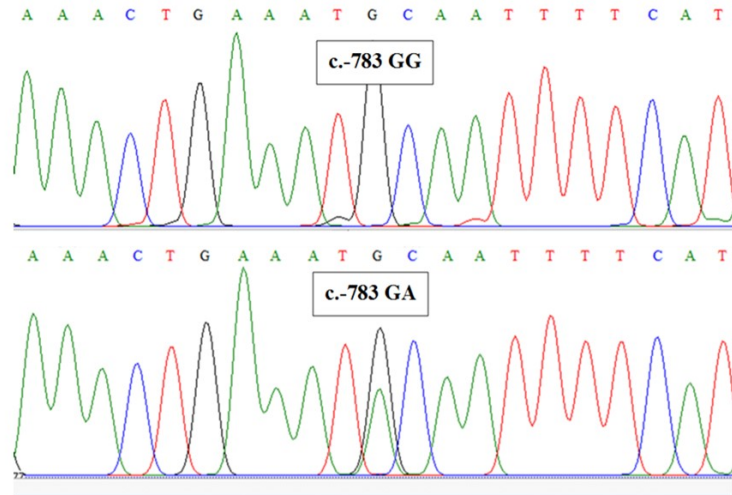
X_{ijklmn} = i. Geni taşıyan, j. Cinsiyetteki, k. Doğum tipindeki, l. Laktasyon sırasındaki anadan doğan, babası m olan, n. kuzunun doğum ağırlığı

e_{ijklmn} = Tesadüfi çevre faktörlerinin etki miktarı

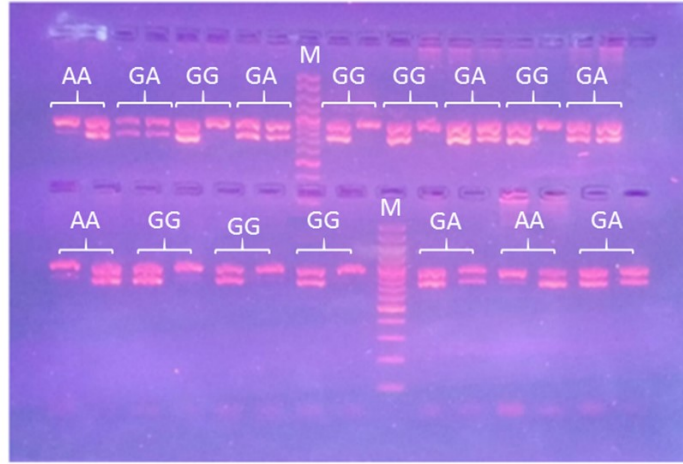
İstatistiksel analizler için SAS 2000 istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Sekans analizi yapılan altı koçtan dördü GG ikisi ise GA genotipine sahipti. GA ve GG genotipine sahip bireylere ait sekans analiz görüntüsü Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Sekans analizine gönderilen altı koçun kuzularında (n:133) yapılan allel spesifik PCR işlemleri sonucunda GG, GA, AA olmak üzere üç farklı genotip tespit edilmiştir. Bu genotiplerin frekansları sırasıyla 0.59, 0.35 ve 0.06 olarak bulunurken, G allelinin frekansı 0.76, A allelinin frekansı ise 0.24 olarak hesaplanmıştır. Tespit edilen genotiplerin canlı ağırlıkları Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Doğum ağırlığı, canlı ağırlık artışı ve sütten kesim ağırlıkları ile 90. gün canlı ağırlıkları bakımından genotip grupları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.



Şekil 4.1. GG ve GA genotipine sahip bireylere ait sekans analiz görüntüsü.



Şekil 4.2. Bazı kuzulara ait allel-spesifik PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri. Bireylerin genotipleri jel üzerinde gösterilmiştir. M: 100 bç merdiven.

Çizelge 4.1. Farklı genotip gruplarına ait canlı ağırlıklar

Ölçüm Zamanı	Canlı Ağırlıklar (Ortalama $\pm$ standart hata)				P
	Genel	GG	GA	AA	
Doğum Ağırlığı	4.29 $\pm$ 0.097	4.499 $\pm$ 0.05 6	4.279 $\pm$ 0.06 8	4.082 $\pm$ 0.16 8	Ö.D.
30 GÜN	11.99 $\pm$ 0.42	12.838 $\pm$ 0.2 4	12.952 $\pm$ 0.2 93	10.168 $\pm$ 0.7 25	Ö.D.
60 GÜN	18.12 $\pm$ 0.83 7	20.038 $\pm$ 0.4 79	19.764 $\pm$ 0.5 85	14.563 $\pm$ 1.4 48	Ö.D.
90 GÜN	25.56 $\pm$ 1.15	27.464 $\pm$ 0.6 6	27.036 $\pm$ 0.8 05	22.171 $\pm$ 1.9 93	Ö.D.

*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001; Ö.D. P>0.05

Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine laktasyon sırasının etkisi önemli (P<0.05), otuzuncu, altmışıncı ve doksanıncı günler arasındaki fark önemli değildir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine laktasyon sırasının etkisi

Laktasyon Sırası	Ölçüm zamanı			
	Doğum ağırlığı	CA30Gün	CA60Gün	CA90Gün
1	4,301±0,100 ^b	11,846±0,431	18,388±0,861	25,909±1,185
2	4,201±0,078 ^b	12,752±0,338	19,538±0,674	26,557±0,928
3	4,731±0,096 ^a	12,730±0,413	18,926±0,824	26,322±1,134
4	4,272±0,105 ^b	12,771±0,452	20,140±0,903	27,890±1,243
5	4,520±0,122 ^b	13,410±0,526	20,659±1,050	27,814±1,445
6	4,438±0,168 ^b	12,987±0,725	20,826±1,448	28,938±1,993
7	4,300±0,319 ^b	15,032±1,376	24,114±2,748	30,754±3,782
P	*	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001; Ö.D. P>0.05

Farklı dönemlerde canlı ağırlık üzerine doğum tipinin etkisine bakıldığında doğum ağırlığı bakımından fark önemli (P<0.05), otuzuncu ve altmışıncı günlerde yüksek düzeyde önemli (P<0.01) ve doksanıncı gündeki fark çok yüksek düzeyde önemlidir (P<0.001). Doğum tipi tek olan kuzular ikiz doğan kuzulara göre daha ağırdır (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine doğum tipinin etkisi

Ölçüm zamanı	Tek	İkiz	P
Doğum Ağırlığı	4,624±0,055	4,049±0,065	*
CA30Gün	14,204±0,236	10,638±0,279	**
CA60Gün	21,747±0,471	16,582±0,557	**
CA90Gün	29,406±0,648	23,552±0,767	***

P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001

Farklı dönemlerde canlı ağırlık üzerine cinsiyetin etkisi yüksek düzeyde önemli bulunmuştur (P<0,01). Cinsiyeti erkek olan kuzular dişi kuzulara göre daha ağırdır (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine cinsiyetin etkisi

Ölçüm zamanı	Cinsiyet		P
	Erkek	Dişi	
Dogum Ağırlığı	4,470±0,056	4,285±0,062	**
CA30Gün	13,209±0,243	12,148±0,269	**
CA60Gün	20,512±0,485	18,519±0,536	**
CA90Gün	28,649±0,668	24,968±0,738	**

*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001

Çizelge 4.5. Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine koçun etkisi

Koç No	Ölçüm zamanı			
	Doğum ağırlığı	CA30Gün	CA60Gün	CA90Gün
B1 (GG)	4,468±0,101	13,100±0,436	19,888±0,871	27,625±1,199
B2 (GG)	4,231±0,113	12,753±0,486	20,438±0,969	28,179±1,334
B3 (GA)	4,346±0,100	11,961±0,433	18,060±0,864	25,266±1,188
B4 (GG)	4,429±0,113	13,066±0,488	20,029±0,975	27,276±1,342
B5 (GG)	4,807±0,137	13,880±0,592	21,764±1,183	29,513±1,627
B6 (GA)	4,427±0,106	12,282±0,455	18,892±0,909	25,929±1,251
B7 (GA)	4,341±0,143	12,537±0,616	19,173±1,229	26,394±1,691
P	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001; Ö.D. P>0.05

Farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine koçun etkisi doğum ağırlığı, otuzuncu, altmışıncı ve doksanıncı gün canlı ağırlıkları arasındaki farklar önemli değildir (Çizelge 4.5.).

5. TARTIŞMA

Büyüme ve farklılaşma faktörü 8 (GDF8) olarak da bilinen miyostatin (MSTN) geni, kas hücrelerinin büyümesini, iskelet kası gelişiminin inhibisyonu yoluyla kas gelişimini olumsuz yönde düzenleyen transforme edici büyüme faktörü β süper ailesinin bir üyesi olan miyostatin proteini yoluyla genetik olarak kontrol eder (McPherron vd., 1997; Han vd., 2010; Sahu vd., 2017). MSTN geni, koyunlar da dâhil olmak üzere, birçok memeli türünde “çift kaslı” fenotip ile ilişkilidir (Clop vd., 2006; Han vd., 2010; Haren vd., 2020; Osman vd., 2021). Niceliksel özellik büyüme performansı poligenik olduğundan ve bunu etkileyen genlerden biri MSTN olduğundan, bir hayvanın üretim özellikleri üzerindeki bu tür etkilerin genetik temeli anlaşılmalıdır (Kolenda vd., 2019; Osman vd., 2021). Thepa ve Tyasi 2024 yılında yaptıkları bir çalışmada koyun MSTN geninin tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) tür büyüme parametreleri üzerindeki etkilerini değerlendirmiş ve koyunların büyüme özellikleriyle önemli bir ilişki sergileyen SNP'lerden kaynaklanan MSTN geninin varyasyonları, hayvan yetiştirme programlarında kullanılabilecek genetik belirteçler olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir. Sahu ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada, yerli hint koyunları olan Madras Red ve Mecheri koyunlarında Miyostatin (MSTN) geninin 3. ekzonundaki polimorfizm ve büyüme özellikleri ile ilişkisini araştırmışlar ve Madras Red koyunlarında MSTN geninin 3. ekzonundaki 5622 G > C mutasyonunun dokuz ve on iki aylık ağırlıklar üzerindeki etkisini önemli olduğunu bulmuşlar ($P < 0.05$) ve Homozigot (MM) genotipe sahip hayvanlar dokuz ve on iki aylık ağırlıkta sırasıyla 1.162 kg ve 1.227 kg ile heterozigot (Mm) genotipe göre daha ağır olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, aynı ırkta doğum, süten kesim (üç ay) ve altı aylık ağırlık için bu mutasyonun etkisinin önemsiz olduğunu belirtmişler ve Mecheri koyunlarında farklı yaşlarda, 5622 G > C polimorfizminin canlı ağırlık üzerine etkisinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. MSTN geninin 3. Ekzonunda yapılan Dehnavi ve diğerlerinin (2012) Zel koyunlarında, Masoudi ve diğerlerinin (2005) Baluchi koyunları üzerinde yaptıkları benzer çalışmalarda genetik varyantların büyüme özellikleri üzerindeki etkisinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Han ve diğerleri çeşitli koyun ırklarında 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada koyun 3'ü MSTN geninin promotor bölgesinde, 3'ü 5'UTR'de, 11'i intron 1'de, 5'i intron 2'de ve 5'i 3'UTR'de bulunmak üzere toplam 28 nükleotid değişikliği tanımlamışlar ve c.-959C>T, c.-784A>G, c.373+563A>G, c.373+607A>G, c.374-654G>A, c.374-54T>C, c.748-54T>C, c.*83A>G, c.*455A>G ve c.*709C>A değişimlerini ilk kez rapor etmişlerdir. Wang ve diğerleri (2016) Yeni Zelanda Romney koyunlarında yaptıkları bir çalışmada SNP'ler 6223G>A ve 2449G>C polimorfizmleri ile doğum

ağırlığı ve büyüme oranıyla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Bu tespit Bayraktar ve Shoshin (2022) Irak'ta özel bir çiftlikte yetiştirilen İvesi koyunları (n=129) üzerinde MSTN 3. Ekson bölgesinde yaptıkları bir çalışmada MM, mm olarak 2 Genotip tespit etmişler genotip frekansları sırasıyla 0,10, 0,90 ve M allel frekansı 0,10 m allel frekansı ise 0,90 olarak tespit etmişler ve MSTN/HaeIII polimorfizmleri ile büyüme özellikleri arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Gan ve diğerleri (2008) Çin merinos (MPMF) koyunları (n:127) üzerinde yaptıkları bir çalışmada miyostatin genindeki SNP haplotiplerinin kas hipertrofisi ile ilişkilerini araştırmış ve MSTN promotor bölgesinde c.-781G>A değişimi ile GG, GA olmak üzere 2 genotip tespit etmişlerdir. Genotip frekansları sırasıyla %78, %22 ve G allel frekansı %89 ve A allel frekansını ise %11 bulmuşlar ve bu değişimin ortalama canlı ağırlık üzerine etkisinin önemsiz olduğunu vurgulamışlardır. Trukhachev ve diğerleri (2015) Dzhalginsky merinos (n:30) koçlarında yaptıkları bir çalışmada MSTN geni promotor bölgesinde c.-783G>A değişimi tespit etmişler ve bu çalışmada GG ve GA olmak üzere 2 genotip bulmuşlardır. Genotip frekansları sırasıyla %90, %10 ve G allel frekansı %95 ve A allel frekansı %5 olarak tespit etmişler ve bu değişimin canlı ağırlık üzerine etkisinin bulunmadığını belirtmişlerdir. Yerli ivesi kuzular üzerinde yapılan bu çalışmada G>A polimorfizmi gösteren c.-783nükleotidinde GG, GA ve AA olmak üzere üç genotip tespit edilmiş, genotip frekansları sırasıyla %59, %35, %6 ve G allel frekansı %76, A allel frekansı %24 olarak bulunmuş ve bu genotiplerin doğum ağırlığı, canlı ağırlık artışı ve süten kesim ağırlıkları ile 90. gün canlı ağırlıkları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Canlı ağırlık üzerine herhangi bir etkisinin bulunmaması Trukhachev ve diğerleri (2015) ile Gan ve diğerleri (2008) yaptığı çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Bu çalışma allel frekansları bakımından Trukhachev ve diğerleri (2015), Gan ve diğerleri (2008) araştırmaları ile kıyaslandığında Gan ve diğerlerinin (2008) ile yakınlık göstermekte iken Trukhachev ve diğerlerinin (2015) çalışmasından farklı olması örneklem büyüklüğü ile ilgili olabilir. Yapılan bu çalışma ile Gan ve diğerleri (2008) ve Trukhachev ve diğerleri (2015) yaptığı çalışmalardan farklı olarak AA genotipi tespit edilmiştir.

Pozzi ve diğerleri (2009) İtalyan Piodmentese sığırlarının et örneklerini inceleyerek (n:104) yaptıkları bir çalışmada bir MSTN nokta mutasyonu olan C313Y tespit etmek amacıyla; allel spesifik PCR, SNP-PCR ve Realtime PCR olmak üzere üç farklı yöntemi karşılaştırmışlar ve benzer sonuçlar elde etmişler ayrıca numunelerin hazırlanma süreleri sırasıyla 3 saat (AS-PCR), 5 saat (SNP-PCR), 2 saat (Realtime-PCR) tespit edilerek Realtime-PCR işleminin hem numunelerin hazırlanması hem de sonuçların erken bulunması açısından ön plana çıktığını

vurgulamışlardır. Allel spesifik PCR işlemleri diğer genotip belirleme teknolojilerine göre nispeten etkili ve ekonomik bir yöntemdir. Son yıllarda floresan gen algılama (v.b.) teknolojilerinin AS-PCR yöntemine entegre edilerek gerçek zamanlı PCR çalışmalarında kullanılmaktadır (Chubarov vd., 2020; He vd., 2020; Jiang vd., 2021; Devyatkin, 2024).

Yapılan bu tez çalışmasında kuzuların doğum, 30. gün, 60. gün, 90. gün ağırlık ortalamaları sırasıyla 4,29 kg, 11,99 kg, 18,12 kg ve 25,56 kg olarak hesaplanmıştır. Üstüner (2007) ivesi kuzular üzerinde yaptığı bir çalışmada doğum, 30., 60. (sütten kesim) ve 90. gün düzeltilmiş ağırlık ortalamalarını sırasıyla 4.52 kg, 9.94 kg, 17.34 kg ve 23.26 kg olarak tespit etmiştir. Sunulan çalışmada tespit edilen canlı ağırlık değerleri Üstüner'in bildirdiği değerlerle benzerdir.

Sunulan çalışmada ivesi kuzuların doğum ağırlığına, cinsiyet, doğum tipi ve laktasyon sırasının etkileri önemli önemli bulunmuştur. Benzer şekilde Üstüner (2007) cinsiyet ve doğum tipinin ivesi kuzuların doğum ağırlığını önemli düzeyde etkilediğini ($P<0.01$, $P<0.001$) ancak sunulan çalışmadan farklı olarak ana yaşının etkisinin önemsiz olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada elde edilen verilerle uyumlu olarak Üstüner (2007) 30. gün hariç diğer günlerde ölçülen canlı ağırlık değerleri üzerine; doğum tipi ve cinsiyetin etkisinin önemli ($P<0.001$), ana yaşı, cinsiyet ve verim yılının etkileri ise önemsiz bulunduğunu bildirmiştir. Otuzuncu gün ölçülen canlı ağırlık üzerine cinsiyetin etkisini önemsiz bulmuştur ($P>0.05$). Sunulan çalışmada ise kuzuların doğum ağırlıklarına; cinsiyet, doğum tipi ve ana laktasyon sırasının etkileri önemli ($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.05$), koçun (Baba) etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Otuzuncu gün ağırlığına; doğum tipi ve cinsiyetin etkisi önemli ($P<0.01$), ana laktasyon süresi ve baba etkisi önemli bulunmamıştır. Altmışıncı gün ağırlığına; doğum tipi ve cinsiyetin etkisi önemli ($P<0.01$), laktasyon süresi ve baba etkisi önemli bulunmamıştır. Doksanıncı gün ağırlıklarına; doğum tipi ve cinsiyetin etkisi önemli ($P<0.01$, $P<0.001$), laktasyon sırası ve baba etkisi önemsiz bulunmuştur. Bu iki çalışmada da farklı dönemlerdeki canlı ağırlık üzerine doğum tipi ve cinsiyetin etkileri önemli bulunmuştur. Yapılan iki çalışmada da etki faktörlerine göre doğum ağırlıkları ve canlı ağırlık artışları benzer sonuçlar göstermektedir.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak İvesi koyunlarının GDF8 geni promotor bölgesi -783. nükleotidde bir G>A polimorfizmi tespit edilmiştir. Bu polimorfizmin kuzuların doğum, 30., 60., ve 90. gün canlı ağırlıkları üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı, cinsiyet ve doğum tipinin ise incelenen parametreler üzerine önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. MSTN (GDF8) geninde görülen polimorfizmlerin çiftlik hayvanlarını fenotipik olarak etkileri tespit edilerek hayvan yetiştiriciliğine ciddi manada ekonomik katkı sağladığı görülmektedir. Yerli İvesi koyunlarında yapılan bu çalışma ile MSTN geni promotor bölgesinde 3 genotipin ilk kez tespit edilmesi yapılacak diğer çalışmalar için umut vericidir.

7. ÖNERİLER

Özellikle yerli koyun ırklarımızda daha fazla hayvan materyali ile yapılacak bu ve benzeri çalışmalar neticesinde farklı polimorfizmlerin tespit edilerek doğum ağırlığı, günlük canlı ağırlık artışı, büyüme performansı gibi verim kriterleri ile ilişkilendirilmesi belirteç destekli seleksiyon programlarında rahatlıkla uygulanarak hayvan yetiştiriciliğinde ciddi ekonomik katkılar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Abaylı, F. N. (2018). Çiftlik Hayvanlarında Markör Destekli Seleksiyon. *Black Sea Journal of Agriculture*, 1(3), 94-101.
- Akçapınar, H. (2000). *Koyun Yetiştiriciliği*. İsmet Matbaacılık. ISBN: 975-96978-1-5, Ankara.
- Akçapınar, H., Özbeyaz, C. (1999). *Hayvan Yetiştiriciliği Temel Bilgileri*. Kariyer Matbaacılık. ISBN: 975-96978-0-7, Ankara.
- Allen DL, Loh AS. Posttranscriptional mechanisms involving microRNA-27a and b contribute to fast-specific and glucocorticoid-mediated myostatin expression in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;300:C124–37.
- Archibald, A. L., & Imlah, P. (1985). The halothane sensitivity locus and its linkage relationships. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 16(4), 253-263.
- Banks, R. (1997, April). The Meat Elite Project: establishment and achievements of an elite meat sheep nucleus. In *Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics* (Vol. 12, pp. 598-601).
- Bayraktar, M., & Shoshin, O. (2022). Association between CAST and MSTN gene polymorphisms with growth traits in Awassi sheep. *Kuwait Journal of Science*, 49(2).
- Bogdanovich S, Krag TOB, Barton ER, Morris LD, Whittemore L-A, Ahima RS, et al. Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature*. 2002;420:418–21.
- Boman I.A., Klemetsdal G., Blichfeldt T., Nafstad O. & Vage D.I. (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, 418–22.
- Cemal, İ., & Karaca, O. (2006). Çiftlik Hayvanlarında Major Genlerin Belirlenmesi Ve Genotip Ayrımı. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(1), 105-115.
- Chubarov, A. S., Ocorbin, I. P., Filipenko, M. L., Lomzov, A. A., & Pyshnyi, D. V. (2020). Allele-specific PCR for KRAS mutation detection using phosphoryl guanidine modified primers. *Diagnostics*, 10(11), 872.
- Clop, A., Marcq, F., Takeda, H., Pirottin, D., Tordoir, X., Bibe, B., Bouix, J., Caiment, F., Elsen, J. M., Eychenne, F., Larzul, C., Laville, E., Meish, F., Milenkovic, D., Tobin, J., Charlier, C., Georges, M. (2006). A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nature Genetics*, 38: 813-818.
- Cockett, N. E., Jackson, S. P., Green, R. D., Shay, T. L., & George, M. (1993). Identification of genetic markers for and the location of a gene (callipyge) causing muscle hypertrophy in sheep. *Texas Tech Univ. Agric. Sci. Tech. Rep*, 4-6.

- Cotton, T. R., Fischer, G., Wang, X., McCoy, J. C., Czepnik, M., Thompson, T. B., & Hyvönen, M. (2018). Structure of the human myostatin precursor and determinants of growth factor latency. *The EMBO journal*, 37(3), 367-383.
- Crisà A, Marchitelli C, Savarese MC, Valentini A. Sequence analysis of myostatin promoter in cattle. *Cytogenet Genome Res.* 2003;102:48–52.
- Çelikeloglu, K., Tekerli, M., Erdoğan, M., Kocak, S., Yazici, E., Hacan, Ö. G., Bozkurt, Z., Çinkaya, S., Demirtaş, M., 2022. Marker-assisted introgression of myostatin from Texel to Ramlıç sheep: Growth and real-time ultrasound carcass traits in F1 and BC1 lambs, *Ankara Üni. Vet. Fak. Dergisi*, 69: 1-5.
- Dall'Olio S, Fontanesi L, Nanni Costa L, Tassinari M, Minieri L, Falaschini A. Analysis of horse myostatin gene and identification of single nucleotide polymorphisms in breeds of different morphological types. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010. <https://doi.org/10.1155/2010/542945>.
- Dehnavi, E., Azari, M.A., Hasani, S., Nassiry, M.R., Mohajer, M., Ahmadi, A.K., Shahmohamadi, L., 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. *Biotechnol. Res. Int.*, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/472307>, Article ID 472307, 5 pages.
- Devyatkin, V. A., Shklyar, A. A., Fursova, A. Z., Rumyantseva, Y. V., & Kozhevnikova, O. S. (2024). Allele-specific PCR with fluorescently labeled probes: criteria for selecting primers for genotyping. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 28(3), 351.
- Du R, An X, Chen Y, Qin J. Functional analysis of the Myostatin gene promoter in sheep. *Sci China C Life Sci.* 2007;50:648–54.
- Du R, An X-R, Chen Y-F, Qin J. Some motifs were important for myostatin transcriptional regulation in sheep (*Ovis aries*). *J Biochem Mol Biol.* 2007;40:547–53.
- Du R, Chen Y-F, An X-R, Yang X-Y, Ma Y, Zhang L, et al. Cloning and sequence analysis of myostatin promoter in sheep. *DNA Seq J DNA Seq Mapp.* 2005;16:412–7.
- Ekiz, B., Keçici, P.D., Oğrak, Y.Z., Yalçın, H., Yakan, A., Demirel, G., Koçak, Ö., Yılmaz, A., 2022. Carcass and Meat Quality of Lambs from Thin-Tailed and Fat-Tailed Breeds at Five Different Slaughter Weights. *Annals of Animal Science*, 22(1): 397-418.
- Ertuğrul, M., Dellal, G., Soysal, İ., Elmacı, C., Akın, O., Arat, S., ... & Yılmaz, O. (2009). Türkiye yerli koyun ırklarının korunması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2), 97-119.
- Esen, V.K., 2022. Bazı koyun ırklarında GDF-8, GH ve FABP4 gen varyasyonlarının et verim ve kalitesine etkilerinin araştırılması. *Yayınlanmamış doktora tezi. Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.*
- Eusebi PG, Martinez A, Cortes O. Genomic tools for effective conservation of

- livestock breed diversity. *Diversity*. 2019;12(1):8. DOI:10.3390/d12010008.
- Fabre, S., Pierre, A., Mulsant, P., Bodin, L., Di Pasquale, E., Persani, L., ... & Monniaux, D. (2006). Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4(1), 1-12.
- Fan S, Xu Y, Liu B, He W, Zhang B, Su J, et al. Molecular characterization and expression analysis of the myostatin gene and its association with growth traits in Noble scallop (*Chlamys nobilis*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2017;212:24–31.
- FAO, 2015. The Second Report on the State of World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture (Rome, Italy: FAO), 562p. url: <http://www.fao.org/3/ai4787e.pdf>, Erişim Tarihi:15.09.2020.
- FAO, Nutrition Country Profile-Turkey, Rome, 2001.
- Fuente LF, GABiNA D, Carolino N, Ugarte E. The Awassi and Assaf Breeds in Spain and Portugal, European Association for Animal Production (EAAP), 57 Annual Meeting, Antalya, Sheep and Goat Commission, Session 14:Awassi Sheep, page S14.2,2006.
- Gan, S. Q., Du, Z., Liu, S. R., Yang, Y. L., Shen, M., Wang, X. H., ... & Li, N. (2008). Association of SNP haplotypes at the myostatin gene with muscular hypertrophy in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(7), 928-935.
- Gootwine E, Pollott GE. Factors Affecting Milk Production in Improved Awassi Dairy Ewes. *British Society of Animal Science* ,71:607-615, 2000.
- Grade, C. V. C., Mantovani, C. S., & Alvares, L. E. (2019). Myostatin gene promoter: structure, conservation and importance as a target for muscle modulation. *Journal of animal science and biotechnology*, 10, 1-19.
- Grobet L, Martin LJR, Poncelet D, Pirottin D, Brouwers B, Riquet J,Schoeberlein A, Dunner S, Menissier F, Massabanda J, Fries R,Hanset R, Georges M. 1997. A deletion in the bovine myostatingene causes the double-muscle phenotype in cattle. *Nat.Genet.*, 17: 71-74.
- Grobet L, Pirottin D, Farnir F, Poncelet D, Royo LJ, Brouwers B, Christians E, Desmecht D, Coignoul F, Kahn R, Georges M (2003) Modulating skeletal muscle mass by postnatal, musclespecific inactivation of the myostatin gene. *Genesis* 35(4):227–238. doi:10.1002/gene.10188.
- Guimaraes SEF, Stahl CH, Lonergan SM, Geiger B, Rothschild MF. Myostatin promoter analysis and expression pattern in pigs. *Livest Sci*. 2007;112:143–50.
- Gürses M, Bayraktar M (2014): Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 28 (2): 99-106.

- Han, J., Forrest, R. H., & Hickford, J. G. H. (2013). Genetic variations in the myostatin gene (MSTN) in New Zealand sheep breeds. *Molecular biology reports*, 40, 6379-6384.
- Han J, Zhou H, Forrest RH, Sedcole JR, Frampton CM, Hickford JGH (2010). Effect of myostatin (MSTN) g+6223G> A on production and carcass traits in New Zealand Romney sheep. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 23(7): 863-866. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90392>.
- Han S-H, Cho I-C, Ko M-S, Kim E-Y, Park S-P, Lee S-S, et al. A promoter polymorphism of MSTN g.-371T>A and its associations with carcass traits in Korean cattle. *Mol Biol Rep.* 2012;39:3767–72.
- Haren HH, Purwantini D, Sumaryadi MY, Prayitno P (2020). Polymorphism at third exon of the myostatin gene and its association with growth and carcass traits in Batur sheep. *Biodiv. J. Biol. Divers.*, 21(5). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210534>.
- He, Q., Chen, M., Lin, X., & Chen, Z. (2020). Allele-specific PCR with a novel data processing method based on difference value for single nucleotide polymorphism genotyping of ALDH2 gene. *Talanta*, 220, 121432.
- Heintzman ND, Ren B. The gateway to transcription: identifying, characterizing and understanding promoters in the eukaryotic genome. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64:386–400.
- Hu W., Chen S., Zhang R. & Lin Y. (2013) Single nucleotide polymorphisms in the upstream regulatory region alter the expression of myostatin. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 49, 417–23.
- Hussein EK, Naoman UT, Al-Ajeli RR. Induction of estrus using human menopausal gonadotrophin in Iraqi Awassi ewes. *Iraqi J Vet Sci.* 2021;35(3):529-533. DOI: 10.33899/ijvs.2020.127132.1466.
- Jespersen J, Kjaer M, Schjerling P. The possible role of myostatin in skeletal muscle atrophy and cachexia. *Scand J Med Sci Sports.* 2006;16:74–82.
- Jiang, H., Xi, H., Juhas, M., & Zhang, Y. (2021). Biosensors for Point Mutation Detection. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 797831.
- Jiang Y-L, Li N, Du L-X, Wu C-X. Relationship of T-->A mutation in the promoter region of myostatin gene with growth traits in swine. *Yi Chuan Xue Bao.* 2002;29:413–6.
- Joulia-Ekaza D, Cabello G. The myostatin gene: physiology and pharmacological relevance. *Curr Opin Pharmacol.* 2007;7:310–5.
- Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T. P. and Bass, J. J. (1997) Mutations in myostatin (GDF8) in double-musled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res.* 7, 910-916.
- Kaymakçı, M, (2007) Koyun Yetiştiriciliği El Kitabı. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü. İlgi Matbaacılık. TİGEM-2007-3. Sf -108.

- Kioumarsi, H., Khorshidi, K. J., Far, M. Z., Seidavi, A. R., Yahaya, Z. S., Rahman, W. A., & Mirhosseini, S. Z. (2008). Estimation of relation between carcass quality and quantity components in Taleshi lambs. *Asian-australas. J. Anim. Sci.*, 3, 337-343.
- Kiraz, S. ve Ağar, O., 2016. İvesi Koyunlarında Mitokondriyal 16S rRNA Gen Bölgesi Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemiyle İncelenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 3(3): 218–222.
- Kolenda M, Grochowska E, Milewski S, Mroczkowski S (2019). The association between the polymorphism in the myostatin gene and growth traits in Kamieniec and Pomeranian sheep breeds. *Small Rumin. Res.*, 177: 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.06.007>.
- Le Roy, P., Naveau, J., Elsen, J. M., & Sellier, P. (1990). Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genetics Research*, 55(1), 33-40.
- Lee SJ, McPherron AC (2001) Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(16):9306–9311.
- Li H, Fan J, Liu S, Yang Q, Mu G, He C. Characterization of a myostatin gene (MSTN1) from spotted halibut (*Verasper variegatus*) and association between its promoter polymorphism and individual growth performance. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2012;161:315–22.
- Li J, Deng J, Yu S, Zhang J, Cheng D, Wang H. The virtual element in proximal promoter of porcine myostatin is regulated by myocyte enhancer factor 2C. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;419:175–81.
- Li S, Zhou Z, Dong Y, Sun H, Gao S, Chen Z, et al. Molecular characterization, expression analysis of the myostatin gene and its association with growth traits in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2016;201:12–20.
- Lu J, Hou S, Huang W, Yu J, Wang W. Polymorphisms in the myostatin gene and their association with growth and carcass traits in duck. *Afr J Biotechnol.* 2011;10:11309–12.
- Marcq, F., Larzul, C., Marot, V., Bouix, J., Eychenne, F., Laville, E., ... & Elsen, JM (2002). Texel × Romanov intercross'ta karkas özellikleri için QTL'yi hedefleyen bir tam genom taramasının ön sonuçları. *Proc 7th World Congr Genet Appl Livest Prod Montpellier*, 19-23.
- Masoudi, A., Hemrani, H., Abbasi, A., 2005. Using PCR-SSCP techniques to study polymorphism of myostatin gene and its association with production traits in Baluchi sheep. In: *Proc. 4th National Biotechnol. Congr, Iran, Kerman, Iran.*
- Mcgill D, Lievaart JJ (2011): Genomic selection in dairy cattle: A review and discussion on some possible applications. Conference: Dairy Research Foundation (DRF) Symposium, July 2011.
- McPherron AC, Lawler AM, Lee SJ (1997) Regulation of skeletal muscle mass in

- mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387(6628):83–90.
- Mosher DS, Quignon P, Bustamante CD, Sutter NB, Mellersh CS, Parker HG, Ostrander EA. 2007. A mutation in the myostatin gene increase muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLoS Genet*. 3: 779-786.
- Osman NM, Shafey HI, Abdelhafez MA, Sallam AM, Mahrous KF (2021). Genetic variations in the Myostatin gene affecting growth traits in sheep. *Vet. World*, 14(2): 475-482. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.475-482>.
- Paswan C, Bhattacharya TK, Nagaraj CS, Chatterjee RN, Jayashankar MR. SNPs in minimal promoter of myostatin (GDF-8) gene and its association with body weight in broiler chicken. *J Appl Anim Res*. 2014;42:304–9.
- Peñaloza C, Hamilton A, Guy DR, Bishop SC, Houston RD. A SNP in the 5' flanking region of the myostatin-1b gene is associated with harvest traits in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genet*. 2013;14:112.
- Pozzi, A., Bongioni, G., & Galli, A. (2009). Comparison of three PCR-based methods to detect a Piedmontese cattle point mutation in the Myostatin gene. *animal*, 3(6), 773-778.
- Qiao XB, Xu KY, Li B, Luan X, Xia T, Fan XZ. Rabbit MSTN gene polymorphisms and genetic effect analysis. *Genet Mol Res*. 2014;13:2590–7.
- Rodriguez, J., Vernus, B., Chelh, I., Cassar-Malek, I., Gabillard, J. C., Sassi, A. H., & Bonniou, A. (2014). Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(22), 4361-4371.
- Ruegg MA, Glass DJ (2011) Molecular mechanisms and treatment options for muscle wasting diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 51:373–395. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010510-100537.
- Sahu AR, Jeichitra V, Rajendran R, Raja A (2017). Polymorphism in exon 3 of myostatin (MSTN) gene and its association with growth traits in Indian sheep breeds. *Small Rumin. Res.*, 149: 81-84. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.01.009>.
- Sandri M (2008) Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda)* 3:160–170. doi:10.1152/physiol.00041.2007.
- Sarti FM, Lasagna E, Ceccobelli S, Di Lorenzo P, Filippini F, Sbarra F, et al. Influence of single nucleotide polymorphisms in the myostatin and myogenic factor 5 muscle growth-related genes on the performance traits of Marchigiana beef cattle. *J Anim Sci*. 2014;92:3804–10.
- Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE, Hübner C, Riebel T, Kömen W, et al. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med*. 2004;350:2682–8
- Seabury, C. M., Cargill, E. J., & Womack, J. E. (2007). Sequence variability and

- protein domain architectures for bovine Toll-like receptors 1, 5, and 10. *Genomics*, 90(4), 502-515.
- Sharma M, Kambadur R, Matthews KG, Somers WG, Devlin GP, Conaglen JV, Fowke PJ, Bass JJ: Myostatin, a transforming growth factor- β superfamily member, is expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct. *J Cell Physiol* 180: 1–9, 1999.
- Song XC, Xu C, Yue ZG, Wang L, Wang GW, Yang FH. Bioinformatic analysis based on the complete coding region of the MSTN gene within and among different species. *Genet Mol Res.* 2016;15. <https://doi.org/10.4238/gmr.15025031>.
- Soysal İ. , M., Ünal, E. Ö., & Gürcan, E. K. (2020). Çiftlik Hayvan Genetik Kaynaklarının Koruma ve Sürdürülebilir Kullanımı. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*, 3(2), 210-227.
- Sönmez R., 1955. İvesi Koyunlarının Vücut Yapılsıları Çesitli Verimleri ve Bunların Diğer Yerli Koyunlarla Çesitli Verimler Bakımından Mukayesesi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 74, Ankara, 1955.
- Sönmez R., 1974. Koyunculuk ve Yapağı (2. Baskı) E.Ü.Z.F., No: 108. D.P.T. Altıncı Beş Yıllık Kalkınma Planı Hayvancılık Özel İhtisas Raporu, 1991.
- Stefaniuk M, Kaczor U, Augustyn R, Gurgul A, Kulisa M, Podstawski Z. Identification of a new haplotype within the promoter region of the MSTN gene in horses from five of the most common breeds in Poland. *Folia Biol (Praha)*. 2014;62:219–22.
- Stinckens A, Luyten T, Bijttebier J, Van den Maagdenberg K, Dieltiens D, Janssens S, et al. Characterization of the complete porcine MSTN gene and expression levels in pig breeds differing in muscularity. *Anim Genet*. 2008;39:586–96.
- Szabó, G., Dallmann, G., Müller, G., Patthy, L., Soller, M., & Varga, L. (1998). A deletion in the myostatin gene causes the compact (Cmpt) hypermuscular mutation in mice. *Mammalian Genome*, 9, 671-672.
- TAGEM 2021 Kırmızı Et Sektör Politika Dergisi 2020-2024, 2021 7-17. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/k%C4%B1rm%C4%B1z%C4%B1%20et%20spb.pdf>
- Takata H, Terada K, Oka H, Sunada Y, Moriguchi T, Nohno T. Involvement of Wnt4 signaling during myogenic proliferation and differentiation of skeletal muscle. *Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat*. 2007;236:2800–7.
- Tang L, Yan Z, Wan Y, Han W, Zhang Y. Myostatin DNA vaccine increases skeletal muscle mass and endurance in mice. *Muscle Nerve*. 2007;36:342–8.
- Tekerli, M., Erdoğan, M., Koçak, S., Çelikeloglu, K., Yazıcı, E., Hacan, Ö., Bozkurt, Z., Demirtaş, M., Çinkaya, S., 2022. The comparative results of myostatin introgression from donor Texel to recipient Ramlıç sheep with the aspects of growth, pre-, and post-slaughter carcass traits in the second backcross generation. *Archives Animal Breeding*, 65(2): 231-238.

- Thepa, T. L. P., & Tyasi, T. L. (2024). A systematic review of myostatin gene variations and their association with growth traits in sheep. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 12(6), 1199-1205.
- Trukhachev, V., Belyaev, V., Kvochko, A., Kulichenko, A., Kovalev, D., Pisarenko, S., ... & Krivoruchko, A. (2015). Myostatin gene (MSTN) polymorphism with a negative effect on meat productivity in Dzhalginsky Merino sheep breed. *Journal of BioScience & Biotechnology*, 4(2).
- Tu P-A, Lo L-L, Chen Y-C, Hsu C-C, Shiau J-W, Lin E-C, et al. Polymorphisms in the promoter region of myostatin gene are associated with carcass traits in pigs. *J Anim Breed Genet*. 2014;131:116–22.
- TÜİK 2024 Kırmızı Et Üretim İstatistikleri, 2023 <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kirmizi-Et-Uretim-Istatistikleri-2023-53540> Erişim tarihi 06.06.2024
- Ünal, N., Yakan, A. (2008). Bafra (Sakız x Karayaka G1) kuzularında farklı kesim ağırlıklarında besi performansı, kesim, karkas ve bazı et kalite özellikleri. TÜBİTAK Projesi. Proje no: 106058. Ankara.
- Üstüner, H. (2007). İvesi Koyun Irkının Orta Anadolu Bölgesinde Başlıca Verim Özellikleri ve Adaptasyon Kabiliyeti (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).
- Wang J, Zhou H, Hu J, Li S, Luo Y, Hickford JGH. (2016). Two single nucleotide polymorphisms in the promoter of the ovine myostatin gene (MSTN) and their effect on growth and carcass muscle traits in New Zealand Romney sheep. *J. Anim. Breed. Genet.*, 133(2016) 219-226.
- Wójcik S, Engel WK, McFerrin J, Askanas V. Myostatin is increased and complexes with amyloid-beta within sporadic inclusion-body myositis muscle fibers. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2005;110:173–7.
- Whittemore LA, Song K, Li X, Aghajanian J, Davies M, Girgenrath S, Hill JJ, Jalenak M, Kelley P, Knight A, Maylor R, O'Hara D, Pearson A, Quazi A, Ryerson S, Tan XY, Tomkinson KN, Veldman GM, Widom A, Wright JF, Wudyka S, Zhao L, Wolfman NM (2003) Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength. *Biochem Biophys Res Commun* 300(4):965–971 (pii):S0006291X02029534.
- Wilt F, Hake S. Principles of developmental biology. New York: W. W. Norton & Company, Inc; 2004.
- Yu L, Tang H, Wang J, Wu Y, Zou L, Jiang Y, et al. Polymorphisms in the 5' regulatory region of myostatin gene are associated with early growth traits in Yorkshire pigs. *Sci China C Life Sci*. 2007;50:642–7.

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

[Ljava.lang.String;@429b64a4

Referans No	10657438
Yazar Adı / Soyadı	BURHAN ATALAR
Orcid	
T.C.Kimlik No	39677065722
Telefon	5055926761
E-Posta	atalarburhan@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	İVESİ KOYUNLARINDA MYOSTATİN (GDF8) GENİ PROMOTOR BÖLGESİNDEKİ POLİMORFİZM VE KUZULARDA BÜYÜME İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF POLYMORPHISM IN THE PROMOTER REGION OF MYOSTATIN (GDF8) GENE IN EWES AND ITS RELATIONSHIP WITH LAMB GROWTH
Konu	Veteriner Hekimliği = Veterinary Medicine
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ana Bilim Dalı	Veteriner Genetik ve Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı
Bilim Dalı	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2024
Sayfa	38
Tez Danışmanları	PROF. DR. FARUK BOZKAYA
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

01.08.2024

İmza:.....