

Araştırma Makalesi/Research Article

Pırlak Koyunlarında Kalpastatin (CAST) ve Miyostatin (MSTN) Genlerinde Polimorfizm

Bülent Özkan¹ 

Emine Şahin Semerci^{1*} 

¹Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, 07070, Konyaaltı, Antalya, Türkiye

*Sorumlu yazar: sahin@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi: 20.01.2025

Kabul Tarihi: 29.06.2025

Öz

Bu çalışmada, Akdeniz Bölgesi'nde yaygın olarak yetiştirilen yerli Pırlak koyunlarında, Kalpastatin (CAST) ve Miyostatin (MSTN) genlerinin polimorfik yapısı incelenmiştir. Antalya ilindeki farklı işletmelerden 181 baş koyunda PCR-RFLP yöntemi kullanılarak CAST geninde *MspI*, MSTN geninde ise *HaeIII* polimorfizmi araştırılmıştır. CAST geninde MM (0.220), MN (0.696) ve NN (0.082) genotipleri tespit edilmiştir. M ve N alel frekansları sırasıyla 0.569 ve 0.431 olarak hesaplanmıştır. Buna karşılık, MSTN gen bölgesi tamamen monomorfik yapı sergileyerek yalnızca mm genotipi bulunmuştur. Ayrıca, CAST geninde Hardy-Weinberg dengesinden sapma olduğu belirlenmiştir. Elde edilen verilerle, CAST genindeki polimorfik yapının genetik markör olarak kullanılarak yapılacak seleksiyon çalışmalarına katkı sağlayabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Koyun, Kalpastatin, Miyostatin, PCR-RFLP, Polimorfizm.

Polymorphism in Calpastatin (CAST) and Myostatin (MSTN) Genes in Pırlak Sheep Abstract

In this study, the polymorphic structure of the Calpastatin (CAST) and Myostatin (MSTN) genes was investigated in native Pırlak sheep, commonly raised in the Mediterranean Region. The PCR-RFLP method was applied to 181 sheep from different farms in Antalya province and *MspI* polymorphism in the CAST gene and *HaeIII* polymorphism in the MSTN gene were investigated. MM (0.220), MN (0.696) and NN (0.082) genotypes were detected in the CAST gene. M and N allele frequencies were calculated as 0.569 and 0.431, respectively. In contrast, the MSTN gene region exhibited a completely monomorphic structure and only the mm genotype was found. Additionally, deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was determined in the CAST gene. The data obtained revealed that the polymorphic structure in the CAST gene can be used as genetic marker and contribute to selection studies.

Keywords: Sheep, Calpastatin, Myostatin, PCR-RFLP, Polymorphism.

Giriş

Günümüzde hızla artan dünya nüfusu göz önüne alındığında, hayvansal üretimin sürdürülebilirliğinin önemi giderek artmaktadır. Türkiye’de et, süt ve yapağı gibi ürünleriyle hayvancılık sektöründe önemli bir yere sahip olan koyun yetiştiriciliğinde kalite ve miktar bakımından verim artışının sağlanabilmesi için; bakım, besleme ve altyapı gibi çevresel faktörlerin iyileştirilmesi öncelikli alanlar arasındadır. Bununla birlikte, verimliliği artırma amacıyla yapılan hayvan ithalatı ve melezleme çalışmaları sonucunda koyunların genetik yapısında meydana gelen değişimler de bu sürece önemli katkılar sunmaktadır (Doğru vd. 2002).

Yerli ırklar, verimleri daha düşük olsa da binlerce yıl boyunca çevresel koşullara uyum sağlayarak dayanıklı hale gelmiştir (Ertuğrul vd. 2000). Çiftlik hayvanlarında mevcut ırkların genetik alt yapılarının tespit edilmesi ve verim özellikleriyle ilişkili genlerin belirlenmesi önem arz etmektedir. Yapılacak moleküler araştırmalarla genom bilgilerinin aydınlatılması, üretimde istenilen verimliliğin sağlanması, genetik çeşitlilik ve mevcut ırkların korunması açısından önemlidir. Türkiye’de koyun yetiştiriciliği önemli hayvancılık faaliyetleri arasındadır. 43 milyon koyunun yetiştirildiği ülkemizde

kırmızı et üretiminin %24'ünü karşılamaktadır (TUİK 2023). Koyunlar ile ilgili yapılan moleküler çalışmaların diğer çiftlik hayvan türleri ile özellikle de sığırlar ile karşılaştırıldığında yeterli olmadığı görülmektedir. Genetik ıslahta zorlukların aşılması için moleküler genetik çalışmaların artırılması önem taşımaktadır (Kaplan 2017).

DNA markörleri, bir tür içindeki bireyler arasında farklılık gösteren DNA dizileridir. Genetik yapıyı analiz etmek için kullanılan yöntemlerden biri olan PCR-RFLP, DNA üzerindeki polimorfizmleri tespit etmek için sıklıkla tercih edilen etkili bir tekniktir ve çeşitli bilimsel alanlarda geniş bir uygulama alanı bulmaktadır.

Koyunlarda ekonomik önemi olan karkas ve et kalite özellikleriyle ilişkili birçok aday gen bulunmaktadır. Karkas ve et kalitesini iyileştirmede önemli bir rol oynayan CAST (Kalpastatin), kasların büyüme ve farklılaşmasında etkili olan MSTN (Miyostatin), kas gelişimini etkileyen CLPG (Callipyge), sütten kesim sonrası ağırlık kazancını etkileyen GH (Growth Hormone), vücut yağ ağırlığı ile ilişkili bulunan LEP (Leptin) ve deri altı karkas derinliği ile ilişkili görülen DGAT1 (Diacylglycerol Acyltransferase 1) ve UCP1 (Uncoupling Protein 1) genleri bunlara örnektir (Cockett vd. 1996; Palmer vd. 1998; Barzehkar vd. 2009; Khederzadeh 2011; Moradian vd. 2013; Mohammadi vd. 2013; Yang vd. 2014).

Koyunlarda 5. kromozom üzerinde yer alan ve kalpainlerin endojen inhibitörleri olan CAST geni seviyesindeki artış kalpain aktivitesini düşürerek kas protein parçalanmasını artırmaktadır. Bu da kasların büyüme oranını azaltarak kesim sonrasında etin yumuşamasını hızlandırmaktadır (Zhou vd. 2007; Djadid vd. 2011; Gharahveysi vd. 2012). Ayrıca, kalpainin kesim sonrasında meydana gelen et sertlik derecesinde, miyofibril proteinleri parçalanmasında öncül rol oynadığı bildirilmiştir (Page vd. 2002). CAST geni, etin sertliğindeki fizyolojik rolü gibi et kalitesi özellikleri ile ilişkilendirilerek araştırılmıştır (Lonergan vd. 1995; Huff-Lonergan vd. 1996; Boehm vd. 1998). CAST geninde et kalitesini ve yağ asidi kompozisyonunu etkileyen genetik varyantlar tespit edilmiştir (Aali vd. 2017).

Büyüme ve farklılaşma faktörü 8 (Growth Differentiation Factor-8; GDF8) olarak da adlandırılan MSTN geni koyunlarda 2. kromozom üzerinde bulunmaktadır. İlk olarak farelerde iskelet kaslarında büyümeyi etkilediği tespit edilmiş ve özellikle iskelet kaslarında sentezlenen MSTN, kasların büyüme ve farklılaşmasını sağlayarak çift kaslılığa neden olduğu bildirilmiştir (McPherron vd. 1997). Koyunlarda birçok ırkta MSTN geni ile ilgili çok sayıda QTL çalışması yapılmıştır. Bunlar; Kas gelişimi (Marcq vd. 2002), kaslanma ve yağ kalınlığı (Walling vd. 2004; Broad vd. 2000; Johnson vd. 2005; McRae vd. 2005; Ren vd. 2011), karkas miktarının artışı (Boman vd. 2010), vücut ve sütten kesim ağırlığı artışı (Ansary vd. 2011), büyüme ve karkas özellikleri (Hickford vd. 2010; Wang vd. 2016), kuzu doğum ağırlığı (Farhadian vd. 2012), iskelet kasları (Xing vd. 2014) üzerine MSTN geninin önemli bir rolü olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada Antalya ilinde yetiştirilen Pırlak koyun ırkında pleotropik etkili genler olan CAST ve MSTN geni polimorfizlerinin araştırılması, gen ve genotip frekanslarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Hayvan materyali ve kan örneklerinin alınması

Araştırmada kullanılan 181 koyun kan örneği için Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır. Kan örnekleri Antalya Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliğine kayıtlı Manavgat, Kaş, Döşemealtı, Korkuteli ve Elmalı ilçelerinde bulunan işletmelerden toplanmıştır. Çalışmada kullanılan kan örnekleri koyunların boyun toplardamarından (*Vena jugularis*) EDTA'lı vakumlu kan tüplerine alınarak soğuk zincirde korunarak (+4°C) Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Genetik Laboratuvarına en kısa sürede ulaştırılmıştır. Toplanan kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Genomik DNA ekstraksiyonu ve genotipleme

Çalışmada genomik DNA eldesi için, Miller vd. (1988) tarafından bildirilen tuzla çöktürme metodu optimize edilerek uygulanmıştır. Elde edilen genomik DNA ürünlerinin yeterlilikleri %1'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. PCR işleminde, CAST gen lokusunda 622 baz çifti (bç) uzunluğundaki hedef bölgenin çoğaltılmasında Palmer vd. (1998) tarafından bildirilen primer çifti (Forward; 5'-TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG-3', Reverse; 5'-GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC-3') kullanılmıştır. MSTN gen lokusunda ise 337 baz çifti uzunluğundaki hedef bölgenin çoğaltılmasında

Smith vd. (1997) tarafından bildirilen primer çifti (Forward; 5'-CCGGAGAGACTTTGGGCTTGA-3', Reverse; 5'-TCATGAGCACCCACAGCGGTC-3') kullanılmıştır.

PCR reaksiyon karışımı her iki lokus için; 3 µL 10X buffer (pH: 8.5), 2.5 µL MgCl₂ (25 mM), 3 µL dNTP (3 mM), 0.2 µL *Taq* DNA polimeraz (MBI Fermentas), forward primer 0.2 µL (0.25 µM), reverse primer 0.2 µL (0.25 µM) ve 3 µL genomik DNA (~100 ngxµL⁻¹) son olarak toplam hacim 25 µL olması için 12.9 µL distile su (dH₂O) eklenerek hazırlanmıştır. PCR işleminde CAST geni için ilk denatürasyon 95°C'de 5 dakika, denatürasyon 95°C'de 1 dakika, primerlerin bağlanması 63°C'de 1 dakika, uzama 72°C'de 2 dakika ve 72°C'de 10 dakika; MSTN geni için ise ilk denatürasyon 95°C'de 5 dakika, denatürasyon 95°C'de 45 saniye, primerlerin bağlanması 59°C'de 45 saniye, uzama 72°C'de 45 saniye ve 72°C'de 5 dakika son uzama olmak üzere 35 döngü olarak uygulanmıştır. Çoğaltılan DNA ürünlerinin varlığı ve yoğunluğu %1'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir.

Her bireyin araştırmaya konu olan markörler bakımından genetik yapılarının belirlenmesi amacıyla, CAST geni bakımından elde edilen PCR ürünleri *Msp*I restriksiyon enzimi, MSTN geni bakımından elde edilen PCR ürünleri *Hae*III restriksiyon enzimi ile kesim işlemine maruz bırakılmıştır. RFLP işlemi için reaksiyon karışımı 15 µL PCR ürünü, 5 µL double distile su (ddH₂O), 3 µL enzim buffer (1XTango) ve 1 U *Msp*I enzimi olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon bileşenlerini içeren örnekler optimum enzim aktivitesi olan ortamda 37°C'de 12-15 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Kesim ürünleri EtBr (Ethidium Bromide) ile muamele edilmiş %3'lük agaroz jelle 1 µL boya (Loading Dye) ile yüklenmiştir. Elektroforez işlemi sonunda görüntülenecek olan bantların büyüklüklerini saptamak için 100 bp aralıklarla bant veren 1.5 kb büyüklüğünde DNA markör kullanılmıştır. CAST lokusunun istatistik analizlerinde allel ve genotip frekanslarının hesaplanmasında, genotipler dikkate alınarak gen sayma yönteminden yararlanılmıştır (Nei 1987). Beklenen (H_e) ve gözlenen (H_o) heterozigotluk düzeyleri ve Hardy-Weinberg genetik denge kontrolü sonuçları GenA1Ex 6.5 paket programı kullanılarak belirlenmiştir (Peakall vd. 2006).

Bulgular ve Tartışma

CAST geninin 1. ekzonunda bulunan 622 bp uzunluğundaki bölge PCR ile çoğaltılmıştır. Çoğaltılan gen bölgesinin, *Msp*I restriksiyon enzimi ile muamelesi sonucu CAST genine ait MM, MN ve NN genotipleri tespit edilmiştir. Beklenildiği gibi %3'lük agaroz jelde, homozigot MM alleli için 336 ve 286 baz çifti uzunluğunda 2 bant, homozigot NN alleli için 622 bp uzunluğunda tek bant ve heterozigot MN alleli için 622, 336 ve 286 bp uzunluğunda 3 bant gözlenmiştir (Şekil 1).

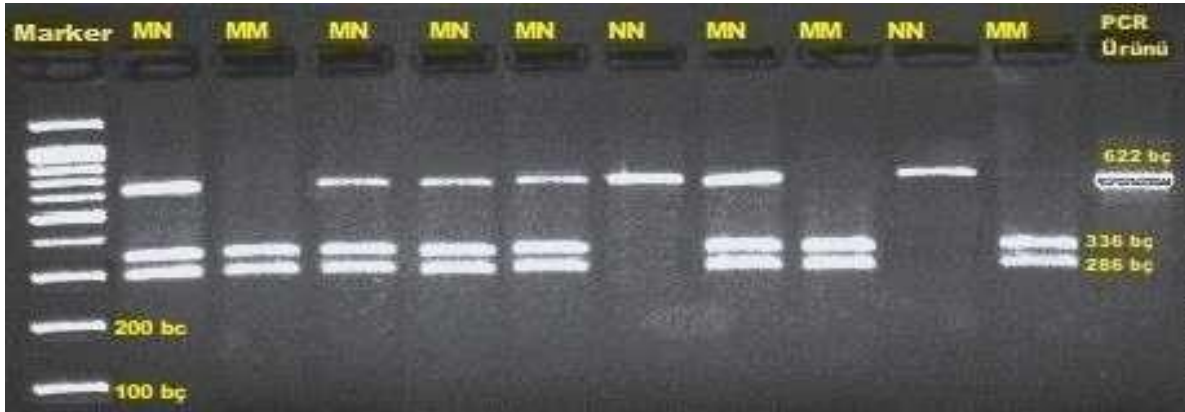


Figure 1. CAST gene *Msp*I polymorphism RFLP band profile example

Şekil 1. CAST geni *Msp*I polimorfizmi RFLP bant profil örneği

MSTN geninde 3. ekzonda bulunan 337 bp uzunluğundaki ampliconlar *Hae*III kesim enzimi ile kesim işlemine tabi tutulmuş ve %3'lik agaroz jellerde UV ışık altında görüntülenmiştir. Tüm bireylere ait profiller incelendiğinde sadece 131, 123 ve 83 bp uzunluğunda homozigot mm genotipi gözlenmiştir (Şekil 2). Çalışmada MSTN gen lokusu bakımından popülasyonun monomorf olduğu belirlenmiştir.

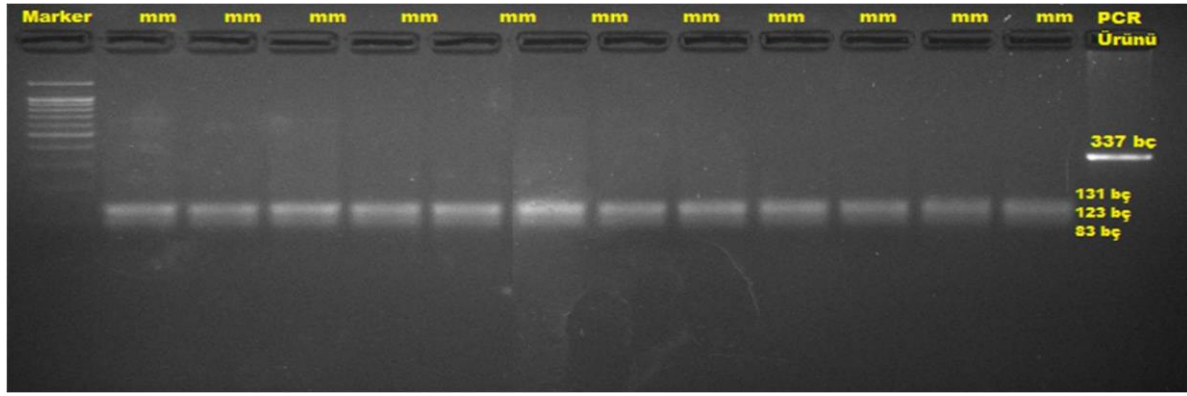


Figure 2. MSTN gene *HaeIII* monomorphism RFLP band profile example: Genotype mm;131/123/83 bp

Şekil 2. MSTN geni *HaeIII* monomorfizmi RFLP bant profil örneği: Genotip mm;131/123/83 bp

Antalya'nın beş farklı ilçesinde yetiştirilen 181 baş Pırlak koyun ırkı üzerinde yapılan çalışma sonucunda elde edilen genotip ve allel frekansları, gözlenen ve beklenen heterozigotluk ile ki-kare testi sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

Table 1. CAST gene allele and genotype frequencies

Çizelge 1. CAST geni allel ve genotip frekansları

Genotipler	Gözlenen	Beklenen	Genotip Frekansı	χ^2 testi
MM	40	58.613	0.220	31.829***
MN	126	88.773	0.696	
NN	15	33.613	0.082	
Allel Gen Frekansı	M 0.569	N 0.431		

***:P<0.001

Populasyonda CAST geni bakımından tespit edilen heterozigot MN genotip frekansı 0.696, homozigot MM frekansı 0.220 ve NN genotip frekansı ise 0.082 olarak bulunmuştur. M allel frekansı 0.569 ve N allel frekansı ise 0.431 olarak birbirine yakın frekanslarda tespit edilmiştir.

CAST geni ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, Durmaz (2021) tarafından Zom koyununda yapılan çalışmada (M alleli: 0.56 ve N alleli: 0.44) ve Ata (2012) tarafından Karya koyununda yapılan çalışmada (M alleli: 0.54 ve N alleli: 0.46) elde edilen allel frekanslarının mevcut çalışmaya benzer oranlarda olduğu bildirilmiştir. İstisna olarak sadece Jawasreh vd. (2017) tarafından İvesi koyun ırkında (M alleli: 0.48), Yılmaz (2014) tarafından Sakız koyun ırkında (M alleli: 0.34) yapılan çalışmalarda M alleli frekansı daha düşük olarak tespit edilmiştir. Akkaraman ırkı koyun populasyonu üzerine yapılan bir çalışmada Kırıkçı (2022) M ve N allel frekansını sırasıyla 0.68 ve 0.32 olarak bildirirken, başka benzer çalışmalarda M ve N allel frekansları sırasıyla 0.69 ve 0.31 (Balcıoğlu vd. 2014), 0.90 ve 0.10 (Bayram vd. 2019) olarak bildirilmiştir. İvesi ırkı üzerine yapılan bir çalışmada ise M ve N allel frekansları sırasıyla 0.59 ve 0.41 olarak bildirilmiştir (Balcıoğlu vd. 2014). Akkaraman ırkında Dokgöz (2023) tarafından yapılan bir çalışmada ise M ve N allellerinin frekansı sırasıyla 0.82 ve 0.18; İvesi ırkında ise 0.75 ve 0.25 olarak belirlendiği bildirilmiştir.

Bayrak (2023) tarafından Osmaniye ilinde halk elinde yetiştirilen 8 baş Pırlak koyunu üzerinde CAST lokusundaki polimorfizmleri tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada M ve N allel frekansları sırasıyla 0.75 ve 0.25 olarak bildirilmiştir. Örnek genişliği çok küçük olan bu populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bildirilmiştir. Bu küçük populasyondaki kurucu bireylere ait allel gen frekanslarının baskın hale gelmesi genetik çeşitliliği sınırlandırmaktadır. Yılmaz vd. (2024) tarafından Norduz ırkı koyunlarda CAST/*MspI* polimorfizmlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada M ve N allel gen frekansları sırasıyla 0.78 ve 0.22 olarak bildirilmiştir. Genel olarak elde edilen bulgular, farklı koyun ırklarında CAST genine ait allel frekanslarının benzerlikler göstermekle birlikte, ırka özgü varyasyonlar da içerdiğini ortaya koymaktadır. Çalışmada monomorfik olarak tespit edilen MSTN geniyle ilgili yapılan birçok çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Azari vd. 2012; Denhavi vd. 2012; Bozhilova-Sakova vd. 2016; Sahu vd. 2019; Uğuz 2022; Kar vd. 2024). Bu çalışmalarda monomorfik bulunan MSTN geni bakımından sadece mm genotipi tespit edilmiştir. Polimorfik bulunan diğer çalışmalarda allel gen frekansları arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Saygılı (2021)

tarafından Hardy-Weinberg dengesinde olmayan Morkaraman populasyonunda MSTN geninin ekson 3 bölgesindeki *HaeIII* polimorfizmini incelendiği çalışmada MM, Mm ve mm genotip frekansları sırasıyla 0.09, 0.69 ve 0.22, M allel frekansı 0.44 ve m allel frekansı 0.56 olarak tespit edilmiştir. Jamshidi vd. (2014) tarafından Mehreban ırkı koyunlar üzerinde MSTN geni bakımından yapılan çalışmada M ve m allel frekansı sırasıyla 0.26 ve 0.74 olarak, Akbari vd. (2015) tarafından Kordi koyunlardan yapılan çalışmada ise M ve m allel gen frekansları sırasıyla 0.08 ve 0.92 olarak tespit edilmiştir. Pırlak koyun ırkında MSTN/*HaeIII* polimorfizmi tespiti amacıyla ilk olarak Uğuz (2022) tarafından 24 baş koyun üzerinde yapılan çalışmada polimorfizm tespit edilememiştir.

Hardy-Weinberg genetik denge kontrol sonuçlarına göre gözlenen ve beklenen genotip frekansları dağılımı arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ($\chi^2=31.829$; $P<0.001$) ve populasyonun Hardy-Weinberg dengesinden önemli ölçüde saptığı tespit edilmiştir. Bu sapmanın olası nedenleri arasında belli bir allelin bireylere herhangi bir nedenle avantaj sağlaması, küçük populasyonlarda rastgele değişimler, allel akışını değiştiren nedenler, rastgele olmayan çiftleşme ve mutasyon sayılabilir.

Gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.696 olarak tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluk (H_e) değeri ise 0.490 olarak bulunmuştur. Avanus (2015) tarafından Kıvırcık koyun ırkında CAST/*MspI* polimorfizminin tespiti amacıyla yapılan çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.600 olarak hesaplanırken, beklenen heterozigotluk (H_e) değeri 0.429 tespit edilmiştir. Bozhilova-Sakova vd. (2020) tarafından Bulgar Merinosu koyunları üzerinde yapılan çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri 0.531, beklenen heterozigotluk (H_e) değeri 0.394 olarak bildirilmiştir. Kırıkçı (2022) Akkaraman ırkı koyunları üzerinde CAST lokusundaki polimorfizmleri belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada gözlenen heterozigotluk (H_o) değerini 0.540, beklenen heterozigotluk (H_e) değerini ise 0.416 olarak hesaplamıştır. Populasyonların büyük kısmının söz konusu gen bölgeleri bakımından beklenen heterozigotluğun, genotip frekansından daha yüksek frekansa sahip olması heterozigotluğun bireylere genetik avantaj sağladığı izlenimi vermektedir. Aynı zamanda, heterozigotluğun yüksekliği populasyonların genetik çeşitliliğini artırarak evrimsel süreçlere katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Sonuçlar

Çalışmada, CAST geninin heterozigot MN genotip frekansı homozigot MM ile NN genotip frekanslarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Mevcut Pırlak koyun populasyonunda M ve N allelleri birbirine yakın frekanslardadır ve elde edilen bu veriler diğer koyun ırklarında yapılan çalışmaların sonuçlarıyla genel olarak uyumludur. Ancak, bazı koyun ırklarında daha belirgin farklar gözlemlenmiş ve bu genetik çeşitliliğin populasyonlar arasında değişkenlik gösterdiğini ve çevresel faktörlerin, seleksiyon baskılarının etkisini yansıttığını göstermektedir. CAST geni bakımından populasyonda Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın olması, populasyonun rastgele olmayan çiftleşmelerden, belli bir allelin baskın olmasından veya mutasyon gibi olası faktörlerden etkilendiğini göstermektedir. Bu ve benzer çalışmalarda gözlenen heterozigotluk oranının beklenenin üzerinde olması, heterozigotluğun bireylere bir avantaj sağladığı izlenimi vermektedir. MSTN geninde ise monomorfik bir genotip yapı gözlemlenmiştir. Bu durum, literatürdeki diğer çalışmalarda da benzer şekilde monomorfik genotiplerin bulunduğunu ve MSTN geninin bazı koyun ırklarında genetik çeşitlilik göstermediğini doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, DNA'ya dayalı moleküler yöntemler, özellikle PCR temelli teknikler hayvan genetiği alanında önemli araçlar haline gelmiştir. Bu yöntemler sayesinde, et kalitesi, büyüme hızı, yağ dağılımı ve karkas özellikleri gibi ekonomik açıdan önemli fenotipik özelliklerle ilişkili genotiplerin tanımlanması mümkün hale gelmektedir. Bu da seleksiyon programlarının daha etkili bir şekilde yürütülmesini sağlamaktadır. Özellikle yerli koyun ırklarımızdan biri olan Pırlak koyunlarında genetik çeşitliliğin ortaya konması, bu ırkın korunması, sürdürülebilirliği ve verimliliğinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır. Böylece hem hayvan ıslahında hedeflenen özelliklere daha kısa sürede ulaşılabilmekte hem de yerli genetik kaynaklarımızın korunarak geliştirilmesi mümkün olabilmektedir. Ek olarak bu çalışmayla, CAST geninde elde edilen *MspI* polimorfizminin ıslah çalışmalarında bir markör olarak kullanılabilirliği ortaya konmuştur.

Teşekkür

Bu çalışma; Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Ana Bilim Dalında yapmış olduğum "Pırlak Koyunlarında Kalpastatin (CAST) ve Miyostatin (MSTN) Gen Polimorfizmleri" başlıklı Yüksek Tez çalışmasından üretilerek

oluşturulmuştur. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine çalışmamın uygulanabilmesi için sağladıkları finansal destekten dolayı teşekkür ederim.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Kaynaklar

- Aali, M., Moradi-Shahrababak, H., Moradi-Shahrababak, M., Sadeghi, M., Yousefi, AR., 2017. Association of the calpastatin genotypes, haplotypes, and SNPs with meat quality and fatty acid composition in two Iranian fat-and thin-tailed sheep breeds. *Small Ruminant Research*. 149(2): 40-51.
- Akbari, S., Dashab, G., Alipanah, M., Rokouei, M., Saghi, D., 2015. Study on the polymorphism in myostatin gene and its association with growth traits in kordi sheep of northern khorasan. *Modern Genetics Journal*. 10(1): 129-133.
- Ansary, M., Tahmoorepour, M., Nassiry, MR., Taheri, A., Vafaye Valleh, M., 2011. Polymorphism in intron-1 of myostatin gene and its association with estimated breeding values of growth traits in baluchi sheep (*Ovis aries*). *The Indian Journal of Animal Sciences*. 81(8): 75-80.
- Ata, N. 2012. Çine çapari ve karya koyunlarda calpastatin gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye.
- Avanus, K., 2015. Genetic Variability of CAST Gene in Native Sheep Breeds of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 21(6): 789-794.
- Azari, MA., Dehnavi, E., Yousefi, S., Shahmohamadi, L., 2012. Polymorphism of calpastatin, calpain and myostatin genes in native dalagh sheep in Iran. *Slovak Journal Animal Sciences*. 45(1): 1-6.
- Balcıoğlu, MS., Karşlı, T., Şahin Semerci, E., Ulutaş, Z., Aksoy, Y., 2014. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Yerli Koyun Irklarında Kalpastatin (CAST) Geni Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 20(4): 427-433.
- Barzehkar, R., Salehi, A., Mahjoubi, F., 2009. Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three iranian sheep breeds. *Iranian Journal of Biotechnology*. 7(4): 241-246.
- Bayrak, G., 2023. Osmaniye ilinde yetiştirilen bazı koyun irklarının CAST ve DGAT1 genotiplerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye.
- Bayram, M., Akyüz, B., Arslan, K., Özdemir, F., Aksel, EG., Çınar, MU., 2019. DGAT1, CAST and IGF-I gene polymorphisms in Akkaraman lambs and their effects on live weights up to weaning age. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 25(1): 9-15.
- Boehm, ML., Kendall, TL., Thompson, VF., Goll, DE., 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *Journal Animal Science*. 76(9): 2415-2434.
- Boman, IA., Klemetsdal, G., Nafstad, O., Blichfeldt, T., Vage, DI., 2010. Impact of two myostatin (MSTN) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Genetics Selection Evolution*. 42(1): 1-7.
- Bozhilova-Sakova, M., Dimitrova, I., Teneva, A., Petrov, NM., 2016. PCR-RFLP Analysis of MSTN gene in karakachan sheep breed. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 22(1): 115-117.
- Bozhilova-Sakova, M., Dimitrova, I., Teneva, A., Petrov, NM., 2020. Genotype frequencies in calpastatin (CAST) and callipyge (CLPG) genes in Northeast Bulgarian Merino sheep breed using PCR-RFLP method. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 26(2): 475-479.
- Broad, TE., Glass, BC., Greer, GJ., Robertson, TM., Bain, WE., Lord, EA., McEwan, JC., 2000. Search for a locus near to myostatin that increases muscling in texel sheep in New Zealand. *Proceedings of New Zealand Society of Animal Production*. 60: 110-112.
- Cockett, NE., Jackson, SP., Shay, TL., Farnir, F., Berghmans, S., Snowden, GD., Nielsen, DM., Georges, M., 1996. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science*. 273(5272): 236-238.
- Dehnavi, E., Ahani M., Saeed, A., Mohammad H., Nassiry, R., Mohajer, M., Ahmadi, AK., 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. *Biotechnology Research International*. 2012(6628): 472307.
- Djadid, ND., Nikmard, M., Zakeri, S., Gholizadeh, S., 2011. Characterization of calpastatin gene in iranian afshari sheep. *Iranian Journal of Biotechnology*. 9(2): 145-149.

- Doğru, Ü., Özdemir, M., 2002. Sığırlarda Süt Protein Polimorfizmi'nin Anlam ve Önemi. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(4): 457-464.
- Dokgöz, M., 2023. Osmaniye İlinde Halk Elinde Yetiştirilen İvesi ve Akkaraman Koyunlarında Kalpastatin Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Durmaz, M., 2021. Şanlıurfa ilinde yetiştirilen zom koyunlarında kalpastatin (CAST) gen polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, Türkiye.
- Ertuğrul, M., Akman, N., Dellal, G., Goncagül, T., 2000. Hayvan gen kaynaklarının korunması ve türkiye hayvan gen kaynakları. V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 17-21 Ocak, Ankara, s. 285-300.
- Farhadian, M., Hashemi, A., Mardani, K., Darvishzadeh, R., Jafari, S., 2012. Polymorphisms in the ovine myostatin gene are associated with birth weight but not with weight gain in iranian makoei sheep. Genetics Molecular Research. 11(4): 3568-3575.
- Gharahveysi, S., Abbasi, HA., Irani, M., Abdollahpour, R., Mirhabibi, S., 2012. Polymorphism investigation of calpastatin gene in zel sheep population of iran by PCR-RFLP method. African Journal of Biotechnology. 11(13): 3211-3214.
- Hickford, JG., Forrest, RH., Zhou, H., Fang, Q., Han, J., Frampton, CM., Horrell, AL., 2010. Polymorphisms in the ovine myostatin gene (MSTN) and their association with growth and carcass traits in New Zealand romney sheep. Animal Genetics. 41(1): 64-72.
- Huff-Lonergan, EJ., Mitsushashi, T., Beekman, DD., Parrish, J., Olson, DG., Robson, RM., 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain is similar to degradation in postmortem bovine muscle. Journal Animal Science. 74(5): 993-1008.
- Jamshidi, S., Karani, S., Goudarzi, M., 2014. Study polyporphism myostatin gene in mehraban's sheep using PCR-RFLP method. Science International Lahore. 26(3): 1129-1135.
- Jawasreh, KI., Jadallah, R., Al-Amareen, AH., Abdullah, AY., Al-Qaisi, A., Alrawashdeh, IM., Al-Zghoul, MBF., Ahamed, MKA., Obeidat, B., 2017. Association between MspI calpastatin gene polymorphisms, growth performance, and meat characteristics of awassi sheep. Indian Journal of Animal Sciences. 87(5): 635-639.
- Johnson, PL., Mcewan, JC., Dodds, KG., Purchas, RW., Blair, HT., 2005. A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass traits in texel sheep. Journal of Animal Science. 83(9): 1988-2000.
- Kaplan, S., Atalay S., 2017. Determination of Calpastatin Gene Polymorphism in Kıvrıkcık Crossbred Ewes by PCR-RFLP Method. Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences. 31(3): 147-150.
- Kar, B., Öz, B., Yazdıcı, FD., Altuğ, K., 2024. Effects of mutation in myostatin exon 3 on growth and carcass characteristics of Savak Akkaraman sheep. Small Ruminant Research. 241(2024): 107386.
- Kırıkcı, K., 2022. Polymorphism of the Calpastatin (CAST) and Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) genes in Akkaraman Sheep Breed. Journal Animal Produce. 63(1): 21-26.
- Khederzadeh, S., 2011. Polymorphism of calpastatin gene in crossbreed dalagh sheep using PCR-RFLP. African Journal Biotechnology. 10(53): 10839-10841.
- Lonergan, SM., Ernst, CW., Bishop, MD., Calkins, CR., Koohmaraie, M., 1995. Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness. Journal Animal Science. 73(12): 08-12.
- Marcq, F., Larzul, C., Marot, V., Bouix, J., Eychenne, F., Laville, E., Georges, M., Bibe, B., Leroy, PL., Elsen, JM., 2002. Preliminary results of a whole genome scan targeting QTL for carcass traits in a texel romanov intercross. Proceedings of the 7th World Congress on Applied Livestock Production, 19-23 August, Montpellier, pp. 02-14.
- McPherron, AC., Lawler, AM., Lee, SJ., 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF beta super family member. Nature. 387(6628): 83-90.
- McRae, AF., Bishop, SC., Walling, GA., Wilson, AD., Visscher, PM., 2005. Mapping of multiple quantitative trait loci for growth and carcass traits in a complex commercial sheep pedigree. Animal Science. 80(2): 135-41.
- Mohammadi, H., Shahrehabak, MM., Sadeghi, M., 2013. Association between single nucleotide polymorphism in the ovine DGAT1 gene and carcass traits in two iranian sheep breeds. Animal Biotechnologi. 24(3): 159-167.

- Moradian, C., Mohamadi, N., Sheshdeh, S., Hajihosseini, A., Ashrafi, F., 2013. Effects of genetic polymorphism at the growth hormone gene on growth traits in makooei sheep. *European Journal of Experimental Biology*. 3(3): 101-105.
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York.
- Page, BT., Casas, E., Heaton, MP., Cullen, NG., Hyndman, DL., Morris, CA., Crawford, AM., Wheeler, TL., Koohmaraie, M., Keele, JW., Smith, TP., 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science*. 80(12): 3077-3085.
- Palmer, BR., Roberts, N., Hickford, JGH., Bickerstaffe, R., 1998. Rapid communication: PCR-RFLP for *MspI* and *NcoI* in the ovine calpastatin gene. *Journal of Animal Science*. 76(5): 1499-1500.
- Peakall, ROD., Smouse, PE., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*. 6(1): 288-295.
- Ren, H., Li, L., Su, H., Xu, L., Wei, C., Zhang, L., Li, H., Liu, W., Du, L., 2011. Histological and transcriptome-wide level characteristics of fetal myofiber hyperplasia during the second half of gestation in texel and ujumqin sheep. *BMC Genomics*. 12(1): 411.
- Sahu, AR., Jeichitra, V., Rajendran, R., Raja, A., 2019. Novel report on mutation in exon 3 of myostatin (MSTN) gene in Nilagiri sheep: an endangered breed of South India. *Tropical Animal Health and Production*. 51(5): 1-6.
- Saygılı, E. 2021. Morkaraman koyun ırkında miyostatin geni polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye.
- Smith, TP., Lopez-Corrales, NL., Kappes, SM., 1997. Myostatin maps to the interval containing the bovine mh locus. *Mammalian Genome*. 8(10): 742-744.
- TÜİK 2023. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kirmizi-Et-Uretim-Istatistikleri-2023-53540> [Son erişim tarihi: 08.05.2023].
- Uğuz, EB., 2022. Yerli koyun ırklarında miyostatin (MSTN) gen polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon, Türkiye.
- Walling, GA., Visscher, PM., Wilson, AD., McTeir, BL., Simm, G., Bishop, SC., 2004. Mapping of quantitative trait loci for growth and carcass traits in commercial sheep populations. *Journal of Animal Science*. 82(8): 2234-2245.
- Wang, J., Zhou, H., Hu, J., Li, S., Luo, Y., Hickford, JG., 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. *Journal of Animal Breeding Genetics*. 133(3): 219-226.
- Xing, HJ., Wang, ZY., Zhong, BS., Ying, SJ., Nie, HT., Zhou, ZR., Fan, YX., Wang, F., 2014. Effects of different dietary intake on mRNA levels of MSTN, IGF-I, and IGF-II in the skeletal muscle of Dorper and Hu sheep hybrid F1 rams. *Genetics and Molecular Research*. 13(3): 5258-5268.
- Yang, G., Forrest, R., Zhou, H., Hodge, S., Hickford, J., 2014. Genetic variation in the ovine uncoupling protein 1 gene: association with carcass traits in New Zealand (NZ) Romney sheep, but no association with growth traits in either NZ Romney or NZ Suffolk sheep. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 131(6): 437-444.
- Yılmaz, O., Sezenler, T., Ata, N., Yaman, Y., Cemali, I., Karaca, O., 2014. Polymorphism of The Ovine Calpastatin Gene in Some Turkish Sheep Breeds. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 38(4): 354-357.
- Yılmaz, O., Çak, B., Demirel, DF., 2024. Investigation of calpastatin (CAST) gene polymorphism in Norduz sheep by PCR-RFLP method. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 75(2): 7451-7456.
- Zhou, H., Hickford, JGH., Gong, H., 2007. Polymorphism of the ovine calpastatin gene. *Molecular and Cellular Probes*. 21(3): 242-244.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution CC BY 4.0 International License.