



## Identification of InDel Variants of *CSN1S1* and *CMTM2* Genes Associated with Prolificacy in Hair, Honamlı, and Kabakulak Goats

Bahar Argun Karşlı<sup>1,a,\*</sup>, Ebru Demir<sup>1,b</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology, 26160, Eskişehir, Türkiye

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 22.08.2024 Accepted : 10.09.2024</p> <p><b>Keywords:</b> <i>CMTM2</i> Multiple births Casein Native goat Molecular genotyping</p>	<p>Variations such as insertion and deletion (InDel) in gene regions of alpha S1 casein (<i>CSN1S1</i>) and CKLF like MARVEL transmembrane domain protein 2 (<i>CMTM2</i>) may affect litter size in goats. In this study, a total of 210 animals belonging to Hair (KIL, 66 samples), Honamlı (HNM, 74 samples), and Kabakulak (KBK, 70 samples) goats were genotyped by Polymerase Chain Reaction (PCR) method to detect InDel variations of <i>CSN1S1</i> and <i>CMTM2</i> genes. All goat populations showed polymorphism in terms of both genes in the current study in which the frequency of the desired genotype (II) for the <i>CSN1S1</i> ranged from 0.10 (KBK) to 0.12 (KIL and HNM). The lowest and highest observed heterozygosity (<math>H_o</math>) values were observed in KBK (0.53) and KIL (0.65) goats, respectively. II genotype frequency varied between 0.09 (KIL) and 0.29 (KBK) in terms of the <i>CMTM2</i> gene while <math>H_o</math> values ranged from 0.41 (KIL) to 0.58 (KBK). All goat populations turned out to be under Hardy-Weinberg equilibrium regarding both genes. The results of the current study showed that KIL, HNM, and KBK goats conserve a sufficient genetic variation together with variable frequencies of the desired II genotype in terms of <i>CSN1S1</i> and <i>CMTM2</i> genes. Therefore, it is also thought that variations of the <i>CSN1S1</i> and <i>CMTM2</i> genes may be utilized in Marker Assisted Selection (MAS) studies to improve litter size in studied native goat breeds.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 12(9): 1577-1582, 2024

## Kıl, Honamlı ve Kabakulak Keçilerinde *CMTM2* ve *CSN1S1* Genlerinde Çoklu Doğumla İlişkili InDel Varyantların Belirlenmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 22.08.2024 Kabul : 10.09.2024</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> <i>CMTM2</i> Çoklu doğum Kazein Yerli keçi Moleküler genotipleme</p>	<p>Alfa S1 kazein (<i>CSN1S1</i>) ve CKLF benzeri MARVEL transmembran alanı içeren protein 2 (<i>CMTM2</i>) gen bölgelerinde meydana gelen insersiyon ve delesyon (InDel) gibi varyasyonlar keçilerde bir batında doğan yavru sayısını etkileyebilmektedir. Bu çalışmada ilk defa Kıl (KIL, 66 örnek), Honamlı (HNM, 74 örnek) ve Kabakulak (KBK, 70 örnek) keçilerinde <i>CSN1S1</i> ve <i>CMTM2</i> genlerindeki InDel varyasyonların belirlenmesi için toplam 210 hayvan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle genotiplendirilmiştir. Her iki gen bakımından tüm keçi popülasyonlarının polimorfik bulunduğu çalışmada <i>CSN1S1</i> geninde bir batında doğan yavru sayısı için avantaj sağlayan genotip (II) frekansı 0,10 (KBK) ile 0,12 (HNM ve KIL) aralığında değişmiştir. <i>CSN1S1</i> geni için en düşük ve en yüksek gözlenen heterozigotluk (<math>H_o</math>) değeri sırasıyla KBK (0,53) ve KIL (0,65) keçilerinde tespit edilmiştir. <i>CMTM2</i> geni için II genotip frekansı 0,09 (KIL) ile 0,29 (KBK) aralığında değişirken, <math>H_o</math> değerinin 0,415 (KIL) ile 0,585 (KBK) aralığında değiştiği belirlenmiştir. Çalışılan her iki gen bölgesi içinde tüm popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar HNM, KIL ve KBK keçilerinde <i>CSN1S1</i> ve <i>CMTM2</i> genleri için istenilen genotip olan II'nin değişen frekanslarda olduğunu ve yeterli genetik varyasyonun bulunduğunu göstermektedir. Bu nedenle <i>CSN1S1</i> ve <i>CMTM2</i> gen bölgelerindeki varyasyonların çalışılan yerli keçi ırklarında bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak Marker Destekli Seleksiyon (MDS) çalışmalarında kullanılabilirliği düşünülmektedir.</p>

<sup>a</sup> [bhargun@hotmail.com](mailto:bhargun@hotmail.com)

<sup>id</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1762-9847>

<sup>b</sup> [ebrudemr@outlook.com.tr](mailto:ebrudemr@outlook.com.tr)

<sup>id</sup> <https://orcid.org/0009-0008-7758-9323>



## Giriş

İlk evcilleştirilen türler arasında bulunan keçi (*Capra hircus*) evcilleştirildiği tarihten bu yana insanlar için önemli bir çiftlik hayvanı olmuştur. Bazı istisnalar dışında çoğunlukla bitkisel üretime uygun olmayan alanlarda küçük çiftçiler tarafından yapılan keçi yetiştiriciliği kırsal alanlarda önemli bir istihdam oluşturarak ülke ekonomilerine önemli katkılar sağlayabilmektedir (Demirbaş ve ark., 2009; Aslan ve ark., 2022; Demir, 2024). Türkiye’de dağlık ve ormanlık alanlarda yoğun olarak yapılan keçi yetiştiriciliği hem ülke meralarının etkili bir şekilde kullanılmasına hem de kırsal bölgelerde yaşayan yetiştiricilere ekonomik gelir sağlamasına olanak tanımaktadır (Günlü & Alaşahan, 2010). Resmi kayıtlara göre Türkiye’de 10.000.000 baş Kıl keçisi ve 200.000 baş civarında Ankara keçisinin yetiştirildiği ve ülkenin toplam hayvan varlığının %19,6’sının keçilerden oluştuğu bilinmektedir (TÜİK 2023).

Kıl (KIL), Tiftik, Kilis, Honamlı (HNM) ve Norduz Türkiye’de yetiştirilen başlıca keçi ırklarıdır. HNM keçileri Akdeniz bölgesinde Antalya, Burdur, Isparta ve Konya illerinde yörelerin yoğun olarak yaşadığı bölgelerde yetiştirilmektedir (Erduran & Kırbas, 2010). Türkiye’de yetiştiriciliği en fazla yapılan keçi ırkı olan KIL keçilerinin, cüsse, döl verimi ve süt verimi bakımından birbirinden oldukça farklılaşan Çandır, Kabakulak (KBK), Pavga gibi alt popülasyonlarının (ekotip) olduğu belirtilmektedir (Aslan ve ark., 2022). Bu ekotiplerden KBK keçileri Antalya ve Muğla arasındaki sınırlı bir bölgede yetiştirilmektedir (Karslı ve ark., 2020).

Çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan diğer özellikler gibi döl verimi de poligenik kalıtım gösterdiği için çok sayıda gen ve çevre şartlarının etkileri ile şekillenmektedir (Karslı ve ark., 2011). Küçükbaş hayvanlarda özellikle koyunlarda bir batında doğan yavru sayısı üzerine etkili majör etkili genler tespit edilmiştir. Majör genler üzerindeki bazı mutasyonlar ovulasyon oranını ve bir batında doğan yavru sayısını artırmaktadır. Bu majör genlere örnek olarak *BMP-IB* (Bone morphogenetic protein receptor IB), *BMP-15* (Bone morphogenetic protein-15) ve *GDF9* (Growth differentiation factor 9) genleri verilebilir (Karslı & Balcıoğlu, 2010; Karslı ve ark., 2012). Majör genler dışında keçilerde bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğu bildirilen çok sayıda aday gen de raporlanmıştır (Cui ve ark., 2018; Wang ve ark., 2018; Kang ve ark., 2019; Wang ve ark., 2020).

Keçilerde çoklu doğum ile ilişkili olduğu belirlenen aday genler arasında alfa S1 kazein (*CSN1S1*) ve CKLF benzeri MARVEL transmembran alanı içeren protein 2 (*CMTM2*) genleri de vardır (Wang ve ark., 2018; Kang ve ark., 2019). Diğer memelilerde olduğu gibi keçilerde de dört kazein geni bulunmaktadır. Alfa-S1-, beta-, alfa-S2- ve kappa-kazeinleri sırasıyla *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN1S2* ve *CSN3* genleri tarafından kodlanmaktadır. Keçilerde 6. kromozom üzerinde bulunan kazein genleri 85.978 ile 86.211 milyon baz arasında 250 kilo bazlık bir bölgede yer almaktadır (Rahmatalla ve ark., 2022). *CMTM2* hayvanlarda üremede önemli rol oynamakta ve anormal *CMTM2* ekspresyonu spermatogenez bozukluklarına yol açabilmektedir (Kang ve ark., 2019). Ağırlıklı olarak testis ve ilik dokularında ifade edilen *CMTM2* geni dört ekzon ve

üç introndan oluşmaktadır. 16. kromozom üzerindeki *CMTM2* geni yaklaşık 8,8 kilo baz büyüklüğünde olup 248 amino asitlik bir protein kodlamaktadır (He ve ark., 2020). Keçilerde *CMTM2* geni üzerindeki çeşitli InDel mutasyonların üreme ve büyüme özellikleri ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Kang ve ark., 2019; He ve ark., 2020).

Wang ve ark. (2018) Çin’in yerli Shaanbei White Cashmere (SBWC) keçi ırkında, *CSN1S1* geni üzerindeki 11 bç’lik mutasyonun bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğunu ( $p < 0.01$ ) tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ilgili bölgede belirlenen üç genotipten (DD, ID, ve II) II genotipini taşıyan hayvanların daha yüksek çoklu doğum oranına sahip olduğunu vurgulamışlardır. *CMTM* gen ailesi, farklı kromozomlar üzerinde yer alan *CKLF* ve *CMTM1-CMTM8* dahil olmak üzere dokuz genden oluşmaktadır. Bu protein ailesi, kemokinler ve transmembran-4 süper ailesinin üyeleri arasında yapısal ve işlevsel bir bağlantı sağlamaktadır. (Li ve ark., 2020; Ayçiçek 2023). Kang ve ark. (2019) SBWC keçilerinde *CMTM2* geni üzerindeki 14 bç’lik InDel varyasyonunun keçilerde bir batında doğan yavru sayısını etkilediğini bildirmişlerdir.. Söz konusu çalışmada geleneksel Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) işlemi sonucunda sırasıyla 145 ve 131 baz çifti (bç) uzunluğuna sahip I ve D allellerinin mevcut olduğu ve bir batında doğan yavru sayısı bakımından II genotipini taşıyan hayvanların ID ve DD genotipini taşıyanlara göre daha avantajlı olduğu belirtilmiştir.

Türkiye yerli koyun ırklarında bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili olduğu bildirilen majör ya da aday genlerle ilgili çok sayıda çalışma olmakla birlikte (Çelikeloğlu ve ark., 2021; Ağyar ve Kırıkçı 2022; Kırıkçı, 2023, Atay ve ark., 2023, Gedik 2023) Türkiye yerli keçi ırklarında bir batında doğan yavru sayısı ile ilişkili genlerde yapılan çalışma sayısı yok denecek kadar azdır (Demir ve ark., 2020). Dolayısıyla bu çalışmada, KIL, HNM ve KBK keçilerinde daha önce farklı çalışmalarda (Wang ve ark., 2018; Kang ve ark., 2019) çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen *CSN1S1* ve *CMTM2* genleri üzerindeki InDel varyantların oluşturduğu polimorfizmlerin ilk kez belirlenmesi ve Marker Destekli Seleksiyon (MDS) çalışmalarında kullanıma olanaklarının tartışılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Örnekleme ve DNA İzolasyonu

Bu çalışma kapsamında kullanılan kan örnekleri 2019-2021 yılları arasında Antalya’nın farklı ilçelerinden toplanmıştır. Kıl keçilerine ait örnekler Antalya’nın Akseki, Manavgat ve Korkuteli ilçesindeki dört farklı işletmeden, Kabakulak keçilerine ait örnekler Elmalı ilçesindeki üç farklı işletmeden, Honamlı keçilerine ait örnekler ise Elmalı ve Korkuteli ilçelerindeki üç farklı işletmeden alınmıştır. KIL (66 örnek), HNM (74 örnek) ve KBK (70 örnek) keçilerinden elde edilen toplam 210 kan örneğinden Miller ve ark., (1988) tarafından bildirilen tuzla çöktürme yöntemi kullanılarak genomik DNA’lar izole edilmiştir. DNA izolasyonunun başarılı olup olmadığı %1’lik agaroz jel ile kontrol edilmiştir. Antalya’da

yetiştiriciliği yapılan söz konusu keçilere ait bir görsel Şekil 1’de verilmiştir.

### CSN1S1 ve CMTM2 Genlerindeki InDel Varyantların Belirlenmesi

Keçilerde çoklu doğumla ilişkili olduğu belirtilen CSN1S1 geni üzerindeki 11 bç uzunluğundaki ve CMTM2 geni üzerindeki 14 bç uzunluğundaki varyantlar, InDel sonucu oluştuğu için doğrudan geleneksel PZR yöntemiyle belirlenebilmektedir. Bu çalışmada, CSN1S1 genindeki 11 bç uzunluğundaki ve CMTM2 genindeki 14 bç uzunluğundaki InDel varyasyonları sırasıyla Wang ve ark., (2018) ve Kang ve ark., (2019) tarafından bildirilen PZR protokollerine göre belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan primerler ve genotiplere ait olası bant büyüklükleri Çizelge 1’de özetlenmiştir. Her iki gen bölgesinin çoğaltılmasında ortak bir PZR reaksiyonu (5 µl kalıp DNA, 10 pmol/ µl primer, 12,50 µl EcoTech 2X Master Mix ve 5,50 µl saf su) ve programı (ilk denatürasyon 95°C’de 5 dk ve son uzama 72 95°C’de 10 dk olmakla birlikte 35 döngü olacak şekilde 95°C’de 45 sn denatürasyon, 60 veya 65°C’de 45 bağlanma ve 72°C’de 45 uzama) kullanılmıştır. PZR aşamasında erime sıcaklığı CSN1S1 ve CMTM2 genleri için sırasıyla 60 ve 65°C olarak optimize edilmiş ve elde edilen bant büyüklükleri %3’lük agaroz jel kullanılarak belirlenmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Çalışılan keçi ırklarında CSN1S1 ve CMTM2 genleri için allel frekansları, genotip frekansları, gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ), beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ) değerleri ve ilgili gen bakımından popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı, ayrıca söz konusu genetik varyasyonlar temelinde çalışılan popülasyonlar

artasındaki filogenetik ilişkinin incelenmesi için genetik mesafe temelli UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) dendrogramı Popgene V.1.32. (Yeh ve ark., 1997) paket programı ile belirlenmiştir.

### Bulgular

Bu çalışmada agaroz jel elektroforezi yöntemi hem DNA izolasyonu (Şekil 2) hem de PZR aşamasının (Şekil 3 ve Şekil 4) başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği doğrulanmıştır. Yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen gen ve genotip frekanslarıyla birlikte bazı genetik çeşitlilik parametreleri ise Çizelge 2’de özetlenmiştir. CSN1S1 geninde en düşük I allel frekansı KIL (0,30) keçilerinde, en yüksek I allel frekansı ise KBK (0,34) keçilerinde tespit edilmiştir. Her üç popülasyonda da I ve D alleli sırasıyla nadir ve yaygın allel olarak tespit edilmiştir. Çalışılan keçi popülasyonlarında CSN1S1 geni için olası üç genotipin (II, ID ve DD) varlığı gözlemlenmiştir. II genotip frekansı en düşük (0,10) KBK keçilerinde elde edilirken en yüksek değer (0,12) HNM ve KIL keçilerinde tespit edilmiştir. ID genotip frekansı KIL keçilerinde en düşük frekansta (0,35) iken en yüksek değer (0,47) KBK keçilerinde hesaplanmıştır. Çalışılan popülasyonlarda DD genotip frekansı 0,43 (KBK) ile 0,53 (KIL) aralığında değişmiştir. En yüksek heterozigotluk değeri (0,65) KIL keçilerinde belirlenirken en düşük değer (0,52) KBK keçilerinde tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluk değerleri HNM ve KIL keçilerinde gözlenen değerlerden daha düşük iken, KBK keçilerinde (0,55)  $H_o$  değerinden daha yüksek bulunmuştur. Etkili allel sayısının 1,71 (KIL) ile 1,80 (KBK) aralığında değiştiği çalışmada, tüm popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ).



Şekil 1. Çalışmanın materyalini oluşturan a) HNM, b) KBK ve c) KIL keçilerine ait temsili hayvanlar (Fotograf: Taki KARSILI 2019-2021)

Figure 1. A representative animal for a) HNM, b) KBK, and c) KIL constituting materials of the study. (Photo: Taki KARSILI 2019-2021)

Çizelge 1. InDel varyantların belirlenmesinde kullanılan primerler ve beklenen bant büyüklükleri

Table 1. The utilized primers for the detection of InDel variants and expected band sizes

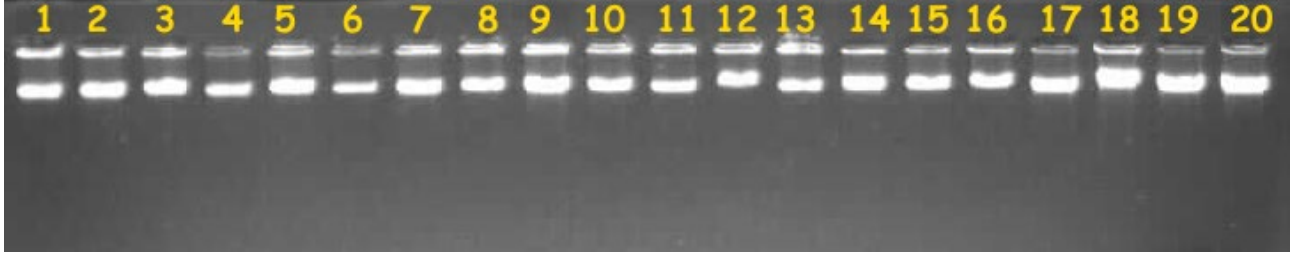
Gen	Primer Dizisi (5'-3')	Bant Büyüklüğü (bç)	Kaynak
CSN1S1	GCTGGAAGCAGTTCGTCA	DD = 159	Wang ve ark., (2018)
	GGGTTGATAGCCTTGATGTT	ID = 159, 170 II = 170	
CMTM2	AGTGCCCTTTTCTCCTCCTA	DD = 131	Kang ve ark., (2019)
	TGACCCTCCACTACCTCTTT	ID = 145, 131 II = 145	

Çizelge 2. Çalışılan gen bölgeleri için gen, genotip frekansları ve genetik çeşitlilik parametreleri

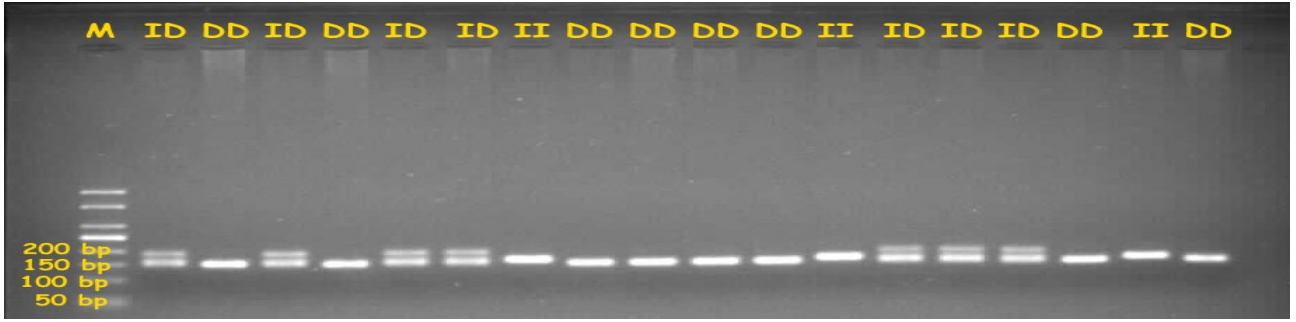
Table 2. Gene, genotype frequencies, and genetic diversity parameters for studied gene regions

Gen	Irk	n	Gen Frekansları		Genotip Frekansları			Genetik Çeşitlilik			HWE
			I	D	II	ID	DD	Ho	He	Ne	$\chi^2$
CSN1S1	HNM	73	0,31	0,69	0,12	0,37	0,51	0,63	0,57	1,74	1,28 <sup>a</sup>
	KIL	66	0,30	0,70	0,12	0,35	0,53	0,65	0,58	1,71	1,75 <sup>a</sup>
	KBK	70	0,34	0,66	0,10	0,47	0,43	0,53	0,55	1,80	0,22 <sup>a</sup>
CMTM2	HNM	74	0,50	0,50	0,23	0,54	0,23	0,46	0,49	2,00	0,48 <sup>a</sup>
	KIL	65	0,38	0,62	0,09	0,59	0,32	0,41	0,52	1,89	3,59 <sup>a</sup>
	KBK	70	0,49	0,51	0,29	0,41	0,30	0,58	0,50	1,99	2,05 <sup>a</sup>

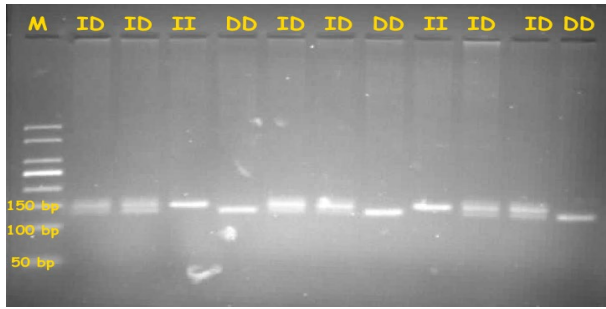
Ho: Gözlenen heterozigotluk; He: Beklenen heterozigotluk, Ne: Etkili allel sayısı; HWE: Hardy-Weinberg Dengesi;  $\chi^2_{0,05;1}$ : 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz.



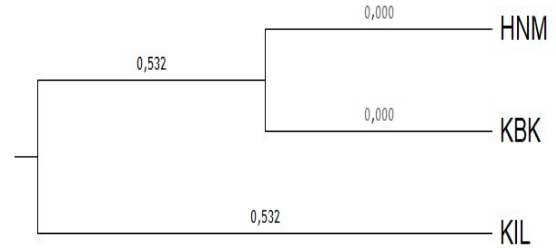
Şekil 2. Rastgele seçilen 20 hayvanda DNA izolasyonuna ait agaroz jel elektroforezi (%1) görüntüsü  
Figure 2. An image of agarose gel electrophoresis (1%) of DNA isolation from randomly chosen 20 animals



Şekil 3. Rastgele seçilen 19 hayvanda CSN1S1 genotiplerine ait agaroz jel elektroforezi (%3) görüntüsü.  
Figure 3. An image of agarose gel electrophoresis (3%) belonging to CSN1S1 genotypes randomly chosen from 19 animals



Şekil 4. Rastgele seçilen 11 hayvanda CMTM2 genotiplerine ait agaroz jel elektroforezi (%3) görüntüsü  
Figure 4. An image of agarose gel electrophoresis (3%) belonging to CMTM2 genotypes randomly chosen from 11 animals



Şekil 5. CSN1S1 ve CMTM2 gen varyasyonları temelinde çizilen genetik mesafe temelli UPGMA dendrogramı  
Figure 5. Genetic distance-based UPGMA dendrogram based on variations of CSN1S1 and CMTM2 genes

CMTM2 geninde I allel frekansı en düşük (0,38) KIL keçilerinde tespit edilirken, en yüksek değer (0,50) HNM keçilerinde gözlemlenmiştir. D alleli için en yüksek frekans (0,62) KIL keçilerinde elde edilirken, en düşük değer (0,50) HNM keçilerinde tespit edilmiştir. II, ID ve DD genotipleri için en düşük frekanslar sırasıyla KIL (0,09), KBK (0,41) ve HNM (0,23) keçilerinde tespit edilirken, en yüksek frekanslar sırasıyla KBK (0,29), KIL (0,59) ve KIL (0,32) populasyonlarında gözlemlenmiştir.

CMTM2 geni bakımından en düşük ve en yüksek  $H_o$  değerleri sırasıyla KIL (0,41) ve KBK (0,58) keçilerinde gözlemlenmiştir. KIL ve HNM keçilerinde  $H_o$  değerlerinin  $H_e$  değerlerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Etkili allel sayısı ise 1,89 (KIL) ile 2,00 (HNM) aralığında değişmiştir. CMTM2 geni için çalışılan tüm populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ).



Her üç keçi popülasyonunda çalışılan gen bölgelerinden elde edilen genotipler ile hesaplanan genetik mesafe değerlerinden oluşturulan UPGMA dendogramı Şekil 5’de verilmiştir. Oluşturulan dendograma göre HNM ve KBK keçileri bir grupta yer alırken, KIL keçileri farklı bir grupta yer almıştır.

## Tartışma

Türkiye yerli keçilerinde daha önce *CSN1S1* genindeki 11 bç’lik indelin belirlenmesine yönelik herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Türkiye yerli keçi popülasyonları *CSN1S1* geninde bazı tek nükleotit polimorfizmlerinin belirlenmesine yönelik farklı yöntemlerle (AS-PCR ya da PCR-RFLP) yapılan çalışmalar mevcuttur (Bozkaya ve ark., 2013; Karadağ, 2016). Wang ve ark. (2018) Çin’in yerli ırkı olan SBWC keçilerinde *CSN1S1* genindeki 11 bç’lik InDel için II, ID ve DD genotip frekanslarını tek oğlağı olan grupta sırasıyla 0,16, 0,38, 0,45 olarak ve çoklu doğum yapan grupta ise sırasıyla 0,33, 0,42 ve 0,23 olarak raporlanmıştır. Araştırmacılar elde ettikleri genotipler ile fenotipik verimler arasında yaptıkları ilişki analizleri sonucunda II genotipini taşıyan hayvanların daha yüksek çoklu doğum oranına sahip olduğunu vurgulamışlardır. Mevcut çalışmada ise, *CSN1S1* geni için elde edilen II genotip frekansları 0,10 (KBK) ile 0,12 (HNM ve KIL) aralığında değişmiştir. Bu değerler Wang ve ark. (2018) tarafından SBWC keçilerinde tek oğlağı olan grupla benzer iken, çoklu doğum yapan grupta elde edilen değerlerden düşüktür. Bu farklılığın altında yatan iki temel neden olduğu düşünülmektedir. Bunlardan birincisi bu çalışmada kullanılan yerli keçi popülasyonlarında çoklu doğum oranının yüksek olmamasıdır. Bir diğer neden ise Wang ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmanın aksine örnekleme rastgele yapılmış olması yani çoklu doğum yapan hayvanların seçilmemesidir. Bu nedenle II genotip frekansının Wang ve ark. (2018) tarafından SBWC keçilerinde tek oğlağı olan grupla benzer, çoklu doğum yapan gruptan ise düşük olması şaşırtıcı değildir.

Bu çalışmada kullanılan yerli keçi popülasyonlarının hepsi *CSN1S1* geni için Hardy-Weinberg dengesindedir. Ayrıca HNM ve KIL keçilerinde elde edilen gözlenen heterozigotluk değerleri beklenen heterozigotluk değerlerinden yüksek iken KBK keçilerinde ise yakın değerdedir. Bu çalışmadaki ırklarda elde edilen heterozigotluk değerleri Wang ve ark. (2018) tarafından SBWC keçilerinde (0,50) bildirilen değerden daha yüksektir.

Kang ve ark., (2019) SBWC keçilerinde *CMTM2* geni üzerindeki InDel varyantların çoklu doğuma etkisini araştırmak geleneksel PZR yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada II (145 bç), ID (145 ve 131 bç) ve DD (131 bç) genotiplerinin belirlendiğini ve II genotipini taşıyan hayvanların ID ve DD genotipini taşıyanlara oranla daha fazla bir batında doğan yavru sayısına sahip olduğunu ( $p<0.01$ ) vurgulamıştır. Araştırmacılar *CMTM2* geni için II, ID ve DD genotip frekanslarını sırasıyla 0,42, 0,49 ve 0,08 olarak hesaplamışlardır. Mevcut çalışmada ise HNM, KIL ve KBK keçilerinde II genotip frekansları sırasıyla 0,23, 0,09 ve 0,29 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular II genotip frekanslarının Kang ve ark. (2019) tarafından SBWC keçilerinde bildirilen değerlerden

daha düşük olduğunu göstermektedir. Kang ve ark. (2019) tarafından SBWC keçilerinde  $H_0$  ve  $H_E$  değerlerinin sırasıyla 0,55 ve 0,44 olduğu bildirilmiştir. Bildirilen  $H_0$  değerleri HNM ve KIL popülasyonlarında elde edilen değerlerden yüksek iken KBK popülasyonunda elde edilen değerden düşüktür. Ayrıca çalışılan üç popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın altında örnekleme stratejisinin yattığı düşünülmektedir. Çünkü mevcut çalışmada her bir keçi popülasyonuna ait hayvanlar en az üç farklı işletmeden örneklenmiştir. Örnekleme yapılırken işletmeler arasında damızlık materyal değişimi olmamasına ve akrabalık durumuna özellikle dikkat edilmiştir. Bu nedenle mevcut çalışmada heterozigotluğun daha yüksek olduğu ve popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu düşünülmektedir.

Bilindiği üzere KIL keçilerinin farklı coğrafi bölge ve çevre koşullarına adapte olmuş varyeteleri (KBK, Pavga ve Çandır) bulunmaktadır (Aslan ve ark., 2022). KBK keçileri KIL keçilerinin bir varyetesi olarak kabul edilmekte ve Antalya ile Muğla arasında kalan sınırlı bir alanda yetiştirilmektedir. KIL keçisi varyeteleri içerisinde en iri yapılı olan KBK keçileridir (Karslı ve ark., 2020). KBK keçileri KIL keçilerinin varyetesi olarak kabul edilmesine karşın farklı moleküler yaklaşımlarla yapılan son çalışmalar KBK keçilerinin HNM keçilerine daha yakın olduğunu ortaya koymuştur (Karslı ve ark., 2020; Aslan ve ark., 2022). Benzer şekilde bu çalışmada çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen *CSN1S1* ve *CMTM2* genleri temelinde yapılan filogenetik ağaçta KBK ve HNM keçileri aynı kümede yer almış ve KIL keçilerinden ayrılmıştır.

## Sonuç

Gerçekleştirilen çalışmada üç farklı Türkiye yerli keçi popülasyonunda çoklu doğumla ilişkili olduğu bildirilen *CSN1S1* ve *CMTM2* genleri üzerindeki InDel varyantların oluşturduğu polimorfizmler ilk defa belirlenmiştir. HNM, KIL ve KBK keçilerinde *CSN1S1* ve *CMTM2* genlerinde çoklu doğum için istenilen II genotipinin değişen frekanslarda varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışılan popülasyonlarda heterozigotluğun yüksek seviyelerde olduğu ve popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir. *CSN1S1* ve *CMTM2* genleri temelinde yapılan filogenetik analiz KBK keçilerinin KIL keçilerinden ziyade HNM keçilerine daha yakın olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlar *CSN1S1* ve *CMTM2* genlerinin HNM, KIL ve KBK keçilerinde bir batında doğan yavru sayısının artırılması için yapılacak MDS çalışmalarında kullanılabileceğini işaret etmektedir. Ancak MDS çalışmalarına başlanmadan önce yerli keçi popülasyonlarında bir batında doğan yavru sayısına ait fenotipik veriler ile bu genlerdeki polimorfizmler arasında ilişki analizlerinin yapılması faydalı olabilir. Ayrıca KBK keçilerinin KIL keçilerinin bir alt varyetesi olup olmadığına ilişkin daha geniş kapsamlı moleküler yaklaşımlarla (Çip Teknolojisi veya Yeni Nesil Sekans Analizi vb.) yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Eğer KBK keçileri KIL keçilerinden genetik olarak farklı ise bu genotipteki özgün genetik varyasyonların korunmasına yönelik çalışmalar planlanmalıdır.

## Beyanlar

### Etik Onay

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol No: HAYDEK-970/2023).

### Yazar Katkısı

BAK: Projenin planlanması, proje yönetimi, makalenin hazırlanması.

ED: Laboratuvar analizleri, makalenin hazırlanması

### Finansal Destek

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FLO/2023/2775 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemektedir.

## Kaynaklar

- Ağyar, O., & Kırıkçı, K. (2022). Investigation of FecXI mutation by PCR-RFLP method in Awassi sheep breed. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 11, 88-93.
- Aslan, M., Demir, E., & Karslı, T. (2022). Microsatellite diversity and restriction enzyme-based polymorphisms of MHC loci in some native Turkish goats. *Journal of Agricultural Sciences*, 28, 626-634. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.924222>
- Atay, S., Yurdagül, K. G., Bilginer, Ü., Karslı, T., & Demir, E. (2023). InDel variations of PRL and GHR genes associated with litter size in Pırlak sheep breed. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20, 890-897. <https://doi.org/10.33462/jotaf.1226643>
- Ayçiçek, S. T. (2023). Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde immunhistokimyasal CMTM6 ve PD-L1'in klinikopatolojik ve prognostik önemi. (Tez No. 777208) [Tıpta Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Bozkaya, F., Gurler, S., & Yerturk, M. (2013). Genetic variability of CSN1S1 gene in goat populations raised in Southeastern Region of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19, 147-152. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.7402>
- Cui, Y., Yan, H., Wang, K., Xu, H., Zhang, X., Zhu, H., Liu, J., Qu, L., Lan, X., & Pan, C. (2018). Insertion/deletion within the KDM6A gene is significantly associated with litter size in goat. *Frontiers in Genetics*, 9, 91. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00091>
- Çelikeloğlu, K., Tekerli, M., Erdoğan, M., Koçak, S., Hacan, Ö., & Bozkurt, Z. (2021). An investigation of the effects of BMPR1B, BMP15, and GDF9 genes on litter size in Ramlıç and Dağlıç sheep. *Archives Animal Breeding*, 64, 223-230. <https://doi.org/10.5194/aab-64-223-2021>
- Demir, E. (2024). Microsatellite-based bottleneck analysis and migration events among four native Turkish goat breeds. *Archives Animal Breeding*, 67, 353-360. <https://doi.org/10.5194/aab-67-353-2024>
- Demir, E., Karslı, B. A., Karslı, T., & Balcioglu, M. S. (2020). Determination of SacII and MboII polymorphisms in the Nerve Growth Factor (NGF) gene in four native Turkish goat populations. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33, 145-148. <https://doi.org/10.29136/mediterranean.633476>
- Demirbaş, N., Tosun, D., & Taşkın, T. (2009). AB üyesi kimi Akdeniz ülkeleri ve Türkiye'de koyun-keçi üretim ve dış ticareti. *Hayvansal Üretim*, 50, 45-53.
- Erduran, H., & Kırbaş, M. (2010). Hair goat breeding and improvement studies in Konya province. *National Goat Congress*, Çanakkale, 193-197.
- Gedik, Y. (2023). Investigation for mutation in BMPR-1B (FecB) fecundity gene in Awassi sheep. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 37, 242-247.
- Günlü, A., & Alaşahan, S. (2010). Türkiye'de keçi yetiştiriciliği ve geleceği üzerine bazı değerlendirmeler. *Veteriner Hekimler Dergisi*, 81, 15-20.
- He, L., Kang, Z., Kang, Y., Xiang, W., Pan, C., Chen, H., Zhu, H., Qu, L., Lan, X., & Song, X. (2020). Goat CMTM2: mRNA expression profiles of different alternative spliced variants and associations analyses with growth traits. *3 Biotech*, 10, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2125-6>
- Kang, Z., Zhang, S., He, L., Zhu, H., Wang, Z., Yan, H., & Pan, C. (2019). A 14-bp functional deletion within the CMTM2 gene is significantly associated with litter size in goat. *Theriogenology*, 139, 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.07.026>
- Karadağ, O. (2016). Honamlı keçisinin bazı morfolojik özellikleri döl verimi ve kazein genleri polimorfizmi bakımından incelenmesi. (Tez No. 420333) [Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Karslı, T., & Balcioglu, M. S. (2010). An investigation of presence of FecB allele on BMPR-1B (Booroola) gene raised in Turkey in six local sheep breeds using PCR-RFLP method. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16, 1033-1036.
- Karslı, T., Şahin, E., Karslı, B. A., Eren, M. G., & Balcioglu, M. S. (2011). Kangal ve Güney Karaman koyunlarında FecB, FecXG, FecXH allellerinin PZR-RFLP yöntemi kullanılarak araştırılması. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 51, 71-80.
- Karslı, T., Şahin, E., Karslı, B. A., Alkan, S., & Balcioglu, M. S. (2012). An investigation of mutations (FecXG, FecXI, FecXH, FecXB) on BMP-15 gene in some local sheep breeds raised in Turkey. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1), 29-33.
- Karslı, T., Demir, E., Fidan, H. G., Aslan, M., Karslı, B. A., Arik, I. Z., Şahin Semerci, E., Karabag, K., & Balcioglu, M. S. (2020). Determination of genetic variability, population structure and genetic differentiation of indigenous Turkish goat breeds based on SSR loci. *Small Ruminant Research*, 190, 106147. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106147>
- Kırıkçı, K. (2023). Investigation of BMP15 and GDF9 gene polymorphisms and their effects on litter size in Anatolian sheep breed Akkaraman. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 47, 248-254. <https://doi.org/10.55730/1300-0128.4292>
- Li, M., Luo, F., Tian, X., Yin, S., Zhou, L., & Zheng, S. (2020). Chemokine-like factor-like MARVEL transmembrane domain-containing family in hepatocellular carcinoma: latest advances. *Frontiers in Oncology*, 10, 595973. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.595973>
- Miller, S., Dykes, D., & Plesky, H. A. (1988). Simple salting out procedure for extracting DNA from human cells. *Nucleic Acids Research*, 16, 1215-1215.
- Rahmatalla, S. A., Arends, D., & Brockmann, G. A. (2022). Genetic and protein variants of milk caseins in goats. *Frontiers in Genetics*, 13, 995349. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.995349>
- TÜİK. (2023). Türkiye İstatistik Kurumu, İstatistik Tablolar, Hayvansal Üretim İstatistikleri (Yıllık), Küçükbaş Hayvan Sayıları. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> (Erişim Tarihi: 06.05.2024).
- Wang, K., Yan, H., Xu, H., Yang, Q., Zhang, S., Pan, C., Chen, H., Zhu, H., Liu, J., Qu, L., & Lan, X. (2018). A novel indel within goat casein alpha S1 gene is significantly associated with litter size. *Gene*, 671, 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.119>
- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. B. J., Ye, Z. H., & Mao, J. X. (1997). POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada*.