

Irkların Korunmasında Moleküler İşaretler

İ. TOGAN¹

İ. SOYSAL²

C. C. BERKMAN¹

E. KOBAN¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

²Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, TEKİRDAĞ

Yerel ırklar hızla yok olmaktadır. Bu nedenle ırklara ait genetik çeşitlilik saptanmalı, karşılaştırmalı olarak çalışılarak, ırkların korunmada önceliklerinin belirlenmesinde acil olarak kullanılmalıdır. Genetik çeşitliliği saptamaya uygun ve yaygın olarak kullanılmış genetik işaretler olarak mikrosatelitler ve mtDNA baz dizileri ortaya çıkmaktadır. Bu işaretlere bağlı çalışmalar, arkeolojik bulguları destekleyerek, sığır, keçi, koyun için yerli ırklarımızın, bu türlerin ilk evcilleştirilme merkezlerinden birine yakın olduklarını göstermektedir. Bu ırklar, içerdikleri henüz kullanılmamış, potansiyel genetik bilgiler nedeni ile tüm dünya ırkları arasında korunmada öncelik kazanmalıdır. Yine genetik çalışmalar dış görünümün, ırkın evrimsel tarihi için eksik/yanıltıcı bilgiler verebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, ırkların korunmada öncelik sırasını belirlerken, aynı evrimsel tarihe sahip ırk gruplarını oluşturabilmek için, ırkların genetik çeşitliliği farklı kalıtım mekanizmalarına sahip genetik işaretlerle çalışılmalıdır. Son yıllarda geliştirilmekte olan yaklaşımlarda, ırklara korunmada öncelik sağlayacak kıstaslar arasında, genetik özgünlükleri, genetik çeşitlilik düzeyleri kadar, çevreye özel uyumları, yok olma riskleri, ekonomik önemleri de göz önüne alınmaktadır. Fakat, bu çalışmalar henüz gelişme aşamasındadır.

Son olarak, bir ırkın genetik çeşitlilik düzeyinde, bir generasyondan diğerine geçerken, olacak azalmayı moleküler işaretlerle en az düzeye indirmek mümkündür, bu konuda simülasyon çalışmaları yapılmaktadır, ancak uygulamak için gerekli teknoloji henüz çok pahalıdır.

Anahtar Kelimeler: Irk, koruma, korunmada öncelik, moleküler işaretler, mikrosatelitler, mtDNA.

Molecular Markers in Conservation of the Breeds

Many native breeds are facing the problem of extinction. Therefore, urgently, genetic diversity of breeds must be studied and the results must be employed to find out the conservation priority of the breeds. Microsatellites and mtDNA sequences are the two types of genetic markers that have been found useful and have been employed widely in the studies revealing the genetic diversity of closely related populations. Studies based on these markers, in parallel to Archeological findings, indicated that the native Turkish cattle, goat and sheep breeds are close to one of the centers of domestication. Therefore, it is highly likely that these breeds are harboring potential genetic information to be utilized in the future. Hence, they must have high priority in conservation on the global scale. Again, genetic studies indicated that, morphological characters of the breeds may give incomplete/wrong information about the evolutionary history of the breeds. Furthermore, genetic studies indicated that, before the prioritization of the breeds in conservation, first the group of breeds having the same evolutionary history must be determined. For this, breeds must be examined with respect to several types of genetic markers, differing in their modes of inheritance. Recently, to determine the conservation priorities of the breeds, new methods, using various criteria, such as: genetic distinctness, genetic diversity level, adaptation to special environmental conditions, risk of extinction of the breed, are being developed. Yet, they are not fully developed.

Lastly, it is well known that breeds lose genetic information as they go from one generation to the next. Simulation studies, give insights about how to minimize this inevitable genetic loss by using molecular markers. However, at the current stage of technology, employment of the emerging rules are very expensive.

Keywords: Breeds, conservation, conservation priority, molecular markers, microsatellites, mtDNA

Giriş

İlk evcilleştirildiklerinden bu yana, çiftçiler, sığır, koyun, keçi, manda, at, eşek, tavuk, kaz, tavşan gibi çiftlik hayvanlarından, özel çevre koşullarına uyum sağlamış, üretim özellikleri farklı, çok sayıda yerli ırklar üretti. Tüm insanlar bu ırkların üretimine çeşitli düzeyde bağımlıdır. Birleşmiş Milletler Tarım ve Hayvancılık Örgütü'nün (FAO, 2004) çalışmalarına göre şu anda dünyada yaklaşık iki milyar kişi yaşamları için evcil hayvanlara çok bağlıdır ve fakir diye tanımlanan 110 milyon kişiden 800 milyon kişinin yaşamlarında çiftlik hayvanları çok önemli rol oynamaktadır. Yine FAO'nun (2004) çalışmalarına göre dünyada tarım ürünlerinin %40'ını çiftlik hayvanları üretimi kapsamaktadır ve tahminlere göre önümüzdeki 20 yılda gelişmekte olan ülkelerde talep iki misline çıkacaktır.

Yine FAO (2004), memeli ve kuşları kapsayan, dünyada 6400 ırk tanımlamıştır ve bunlardan 300'ü son 15 yılda yok olmuştur, 1350 tanesi de yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Bu ırkların çok hızla yok olma felaketinin sebepleri şöyle sıralanabilir: (1) Holstein inekleri gibi ekonomik getirisi yüksek bir ırkın, yaygın olarak tercih edilerek yerli ırkların yerini alması (Alderson, 1998) (2) ayrı ırklara ait bireylerin, bazen de pazar koşulları gereği, bir ırka katılması (3) yerel ırkların yaşadığı yörelerde savaş gibi bir sosyal huzursuzluğun varlığı. Her yok oluş ile özel çevre koşullarına uyum sağlamış olan veya kullanılma potansiyeli henüz ortaya konmamış, geleceğimiz için çok önemli, genetik bilgi da sonsuza kadar kayıp edilmekte olabilir.

Bir taraftan çiftlik hayvanları üretimine artan talep, bir taraftan özellikle alt gelir gruplarının ucuza üretebileceği, çevreye uygun özel genetik yapıya erişmiş yerli ırkların hızla yok olması, çok acil olarak yerli ırklar için koruma planlarının oluşturulması

planlarının oluşturulması gerekliliğini ortaya çıkarmıştır.

Evcilleştirmenin başında, türün sayılı yaban bireyleri ile bir gen havuzu oluşturulmaktadır. Gen havuzu bir taraftan insan eliyle, bir taraftan çevre koşulları ile seçilime uğrayıp değişmekte, yeni ırklar ortaya çıkarken orjinal havuzdan kayıplar olmaktadır. Yine, bir ırkın yeni yerlere zincirleme taşınması esnasında sınırlı sayıda bireylerin götürülebilmesi nedeniyle, ırkın her yeni vardığı yerdeki genetik çeşitliliği bir öncekinden daha az olacaktır. Ayrıca, aynı yerde korunanların bile bir generasyondan diğerine geçerken rastlantısal genetik kayıp (random genetic drift) nedeni ile, kaçınılmaz olarak genetik bilgi kaybedeceği bilinmektedir. Bütün bu nedenlerden evcilleştirmenin başında oluşmuş gen havuzuna, günümüzde yaşayanlar içinde en yakın ırkların öncelikle bulunup, yüksek düzeyde kullanılabilir genetik bilgi içermeleri nedeni ile, tanı konup, gen kaynağı olarak büyük öncelikle korunmaları gerekir.

İrkların hızla yok olduklarının farkına varan FAO (2004) dünyadaki Hayvan Gen Kaynaklarının (Animal Genetic Resources, AnGR) durumunu araştırma projesini 1993'de başlatmıştır. Proje ile ırk içi ve ırklar arası çeşitliliğin moleküler işaretlerle saptanması ve ırkların korunmada önceliklerinin belirlenmesinde kullanılması mümkün olacaktır. Bu yazıda, çiftlik hayvanlarında moleküler işaretlerle şimdiye kadar yapılmış çalışmalarda ortaya çıkan bazı ilginç sonuçlar ve bunların ırkların korunmasına ait bilgilerimize katkıları özetlenecektir.

Sığır, keçi, koyun, manda, domuz, at ve kamelid türlerinin evcilleştirilme tarihleri üzerinde yapılmış çalışmaları, karşılaştırmalı olarak ele alan makalede (Bruford ve ark., 2003) öncelikle kullanılmış moleküler işaretlerin

mikrosatelitler ve mtDNA baz dizileri olduğunu vurgulanmaktadır. Mikrosatelitler genomik DNA üzerinde iki baz gibi kısa birimlerin tekrarı ile oluşur (örn: ACACAC...). Tüm genoma yayılmış olmaları, genomda çok sayıda bulunmaları, DNA'nın kodlanmayan intron bölgelerini temsil etmeleri, çok sayıda ve koddominant alellere sahip olmaları nedeni ile mikrosatelitlerin çiftlik hayvanlarında ırk içi ve ırklar arası genetik çeşitliliği saptamadaki önemi fark edilmiş (MacHugh ve ark., 1994) ve kullanılmıştır (Diez-Tascon ve ark., 2000).

mtDNA sadece mitokondiride bulunan, genelde memelilerde 20 kilobazdan daha kısa olan bir plazmid benzeri dairesel DNA'dır. mtDNA, özellikle kontrol bölgesi, çok hızlı evrimleştiğinden bir tür içinde çok varyasyon gösterir (örneğin evcil keçilerde, Luikart ve ark., 2001) bu nedenle mikrosatelitler gibi ırk içi ve ırklar arası varyasyonu saptamakta kullanılır. Bu işaretlerin kullanımının bir dezavantajı, kalıtımının sadece yavruya geçişle olması nedeniyle, bir gruba ait olan erkek katkısının mtDNA çalışmalarında gözlenememesidir. Diğer taraftan bu işaretin kullanılmasının bir avantajı da mtDNA rekombinasyon geçirmediği için annesel de olsa ırkların birbirleri ile ve yaban türlerle filogenetik ilişkilerini ortaya çıkarması, evcilleştirme merkezlerinin yerini göstermesidir (Luikart ve ark., 2001; Troy ve ark., 2001; Hiendleder ve ark., 2002).

Bir türe ait evcilleştirmenin neresinde başlamış olabileceği mikrosatelit işaretleri ile de gözlenebilmektedir. İlk kapsamlı çalışmalar sığırlar için yapılmıştır ve evcil sığır ırklarının yakın doğu (Taurin ırkları, hörgüçsüz) ile Indus Vadisi (Zebu ırkı, hörgüçlü) civarlarında en az iki ayrı merkezde evcilleştirilmeye başlandığı moleküler işaretlere (mikrosatelitlere)

dayanarak gösterilmiştir (Loftus ve ark., 1999). Afrika'da Zebu görünümlü sığırlardan da toplanan örnekler Asya, Avrupa ırklarından toplanan örneklerle bir arada incelendiğinde çok şaşırtıcı bir sonuç gözlenmiştir: Afrika Zebu görünümlü sığırlarının anneleri Taurin sığırlarıdır (Troy ve ark., 2001). Bu son sonuç, dış görünümün ırk gurupları içinde, bir ırkın yerinin tanımlanmasında nasıl yanıltıcı olabileceğini göstermektedir. Mikrosatelitler de, hörgüç gibi, Doğu Afrika sığırlarının Indus Vadisi sığırlarına yakın olduğuna işaret etmektedir. Eğer sadece mikrosatelitleri kullanıp mtDNA gibi ikinci, kalıtımı değişik bir işaret ile araştırma yapılmamış olsaydı Doğu Afrika hörgüçlü sığır ırklarının annelerinin Taurin babalarının Zebu olduğu, onların bir hibrit olduğu anlaşılmamış olacaktı (MacHugh ve ark., 1997).

Ayrıca sığırdaki mtDNA ile gözlenen, Zebu ve Taurin olarak ayrılan, iki ayrı anneler öbeklerinin (Troy ve ark., 2001) en az iki olarak geçide (Luikart ve ark., 2001) ve koyunda (Hiendleder, 2002; Bruford ve Townsend, 2004) gözlenmiş olması bütün bu türlerde en az iki evcilleştirme merkezinin bulunduğu işaret etmektedir (Bruford ve ark., 2003). Genetik analizler sığır, keçi ve koyunda merkezlerden birinin arkeolojik verileri destekleyerek Anadolu'nun doğu veya güneydoğusuna yakın olduğunu (Loftus ve ark., 1999; Luikart ve ark., 2001; Bruford ve Townsend, 2004) ve bu merkezin büyük bir olasılıkla bu türler için evcilleştirmenin başladığı en eski merkez olduğunu göstermektedir (Luikart ve ark., 2001). Bu sonuçlar, dünyadaki pek çok ırka atalık etmiş ilk evcil sürülerin günümüzde yaşayan en yakın akrabalarından olan Anadolu yerli ırklarımızın dünyadaki diğer birçok yerli ırktan daha büyük bir öncelikle korunmaları gerektiğini (Bruford ve ark.,

2003) ortaya çıkartmaktadır.

Irklar arasında korunmada öncelik sırasını belirleyecek diğer kıstasların geliştirilme çalışmaları devam etmektedir. Weitzman (1992) tarafından yapılan ilk öneride ırklar arası yakınlığı gösteren ağaçta, bir ırkın analizlerden çıkartılması (senaryo olarak yok olması) durumunda, ağacın toplam dal uzunluklarında görülecek azalmanın kıstas olarak alınması düşünülmüştür. Bu yaklaşımda eksikliği ile en fazla kısaltmaya sebep olan genetik birim (ırk) korunmada en fazla önceliğe sahip olmalıdır, çünkü bu ırk kaybı ile en büyük genetik bilgi kaybına da sebep olmaktadır. Ancak bu yaklaşımın darboğazdan geçmiş, genetik varyasyonunun büyük bir kısmını kaybetmiş, bir birimin diğer birimlerden çok farklı görünüp öncelik kazanabileceği gibi eksiklikleri olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından (Roosen ve ark., 2003, Bruford ve ark., 2003) gösterilmiştir.

İrk içi genetik çeşitliliğin de öncelik için bir kıstas oluşturacağı yaklaşımlar geliştirilmektedir (Eding ve ark., 2002). Bu yaklaşımda ırkların ve bireylerin arasındaki akrabalık katsayıları (kinship coefficient) ile akrabalığın en az olduğu, karışık ırklardan oluşmuş bir çekirdek grup (core set) tanımlanmakta ve ırklar bu çekirdek gruba katkıları ile değerlendirilmekte en büyük katkısı olan, korunmada en büyük önceliği almaktadır. Bu yaklaşımda yine moleküler işaretler akrabalık katsayılarının tahmininde kullanılmaktadır. Ancak içinde ırkların katışımının (admixed) fazla olduğu ve sadece bir "ırk" temsil ettiği düşünülen bir birim (ırk olmayan bir birim) bu yaklaşımda öne çıkabilir. İrk tanımlayan bireylerle ırkın özgünlüğü ve farklı ırktan gelen bireylerin tanımlanıp (Pritchard ve ark., 2000) ayıklanabilmesi durumunda ve yine salt genetik varyasyonun (ırk içi, ırklar arası) değerlendirilmeye alındığı bir

durumda bu yaklaşım kullanılabilir. Ancak yine de değerlendirmeler sadece nükleer genetik işaretlerle yapıyorsa ve annesel orijinler farklıysa yanlış değerlendirme yapılacaktır. Korunma öncelikleri tartışılan ırkların, önce evcilleşme kökenleri aynı olan gruplara ayrılması gerekmektedir.

Son yıllarda ırkların öncelikli korunma sıralarının saptanması için ırklar içi ve ırklar arası genetik varyasyonun yanı sıra, ilerde kullanım potansiyelleri (Anadolu ırklarını öne çıkaran kıstas) şu andaki risk durumları, özel çevre koşullarına uyum sağlamış olmaları ve ekonomik önemlerinin de değerlendirmeye alınmasına çalışılmaktadır (Simianer ve ark., 2003). Bu geniş kapsamlı yaklaşım henüz gelişme aşamasında olan Roosen ve arkadaşlarının (2003) hazırladığı taslak çalışmadan görülebilir.

Moleküler işaretler ırk içi genetik erozyonu yavaşlatmak, ırk içi genetik çeşitliliği olabilecek en yüksek düzeyde korumak, için de kullanılabilir. Ancak, bu amaçla kullanılması gerekli lokus sayısı çok fazladır. Simulasyon çalışmaları ile, bir taraftan kullanılması gerekli lokus sayısı hakkında fikir edinilmekte, örneğin 19 kromozom için 1900 lokus (mikrosatelit gibi bir moleküler işaret için) çalışılması gerektiği anlaşılmakta, diğer taraftan her ailenin gelecek nesle eşit katkı yapmasının sağlanmasının yanı sıra, seçilecek yavrularda heterozigotluk düzeyinden çok ender rastlanan alelleri taşıyan bireylerin seçilmesinin genetik erozyonu yavaşlatacağı görülmektedir (Toro ve ark., 1998). Teknolojinin günümüzdeki aşamasında ırklar sürdürülürken bu kadar çok lokusla takip edilebilmeleri gelişmiş ülkeler için bile çok pahalıdır. Ancak simulasyon çalışmaları ile ırk için genetik çeşitliliğin korunmasının nasıl yapılmasının uygun olacağı hakkındaki bilgiler zenginleşmektedir. Yine bir simulasyon

çalışmasında, işaretlerin kullanıldığı seleksiyon (marker assisted selection, MAS) ile ebeveynlerin farklı alellerinin bir sonraki generasyona eşit katkı ile geçmesinin de genetik çeşitlilik kaybını yavaşlatacağı gözlenmiştir (Wang ve Hill, 2000).

Sonuç

Hızla yok olmakta olan yerel ırkların içerdiği genetik çeşitlilik düzeyi belirlenerek korumada öncelikleri saptanmalıdır. Bu amaçla seçilecek genetik işaret mikrosatellitler olabilir. Sonuçların önceki çalışmalarla bütünleştirilebilmesi için seçilecek lokusların önceki çalışmalarda kullanılmış mikrosatellit lokusları arasından seçilmesi uygun olacaktır. İrk içi genetik çeşitlilik düzeyleri farklı ırklar arasında karşılaştırmalı olarak ele alındığında bir türün evcilleşme merkezi (merkezleri) civarındaki ırkların yüksek çeşitlilik sergilemeleri ile genellikle ortaya çıkmaktadır. Bir başka moleküler işaret : mtDNA baz dizisi da evrimleşme

merkezine yakın ırkları ve ırkların annesel yakınlığını sergilemektedir. Evrimleşme merkezine (merkezlerine) yakın ırklar içerdikleri potansiyel genetik bilgi nedeni ile korunmada öncelik kazanmalıdır. Yerel sığır, koyun ve keçi ırklarımız evcilleşme merkezlerine yakın (belki de en yakın) ırklardır. Bu önemli gerçeğin farkındalığının yaratılması gerekmektedir. Ayrıca insanlığın geleceğinde rol oynayabilecek potansiyel genetik bilgilere sahip genetik çeşitliliği yüksek ırklar arasında hangilerinin korunmada öncelikli olacağı hakkında genetik özgünlük, çevreye özel uyum, ekonomik önem gibi farklı boyutlarda değerlendirilmelerle karar verilmesi yaklaşımları geliştirilmektedir. Bu yaklaşımlar yakından izlenerek / geliştirilerek karar verilmelidir. Son olarak korunan bir ırkta ırk içi çeşitliliği en üst düzeyde korumak için moleküler işaretler yardımcı olacaktır. Ancak MAS kullanılması için teknolojinin ucuzlaması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Alderson, L. 1998. The chance to survive, Pilkington Press Ltd. 164 p.
- Bruford, M. W., Bradley, D.G., and Luikart, G. 2003. DNA Markers Reveal The Complexity of Livestock Domestication. Nature Review Genetics 4: 900-910.
- Bruford, M.W. and Townsend, S.J. 2004. Case studies in the genetics of animal domestication: sheep in: Zeder, M., Decker-Walkers, D., Bradley, D., Smith, B.D (eds): Documenting Domestication: New genetic and archaeological paradigms, California University press.
- Diez-Tascon, C., Littlejohn, R.P., Almeida, P.A.R., Crawford, A.M. 2000. Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. Animal Genetics. 31: 243-251.
- Eding, H., Crooijmans, R.P.M.A., Groenen M.A.M, Meuwissen, T.H.E. 2002. Assessing the contribution of breeds to genetic diversity in conservation schemes. Genetics Selection Evolution 34: 613-633.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), State of the World Animal Genetic Resources Brochure (2) (<http://dad.fao.org>, 5 Kasım 2004 itibarı ile).
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuthic, R., Janke, A. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep are derived from two ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. Journal of Heredity. 89: 113-120.
- Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El-Barody, M. A. A., Machugh, D. E., Park, S. D. E., Bradley, D. G. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. Molecular Ecology 8: 2015-2022.
- MacHugh, D.E., Loftus, R.T., Bradley, D.G., Sharp, P.M., Cunningham, P. 1994. Microsatellites DNA variation within and among European cattle breeds. Proceedings of Royal Society London B. 256: 25-31.

- MacHugh, D.E., Shriver, M.D., Loftus, R.T., Cunningham, P., Bradley, D.G. 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurin and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos Indicus*). *Genetics* 146: 1076-1086.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using microsatellite genotype data. *Genetics*. 155: 945-959.
- Roosen, J., Fadlaoui, A., Bertaglia, M. 2003. Economic evaluation and biodiversity conservation of animal genetic resources (<http://www.food-econ.uni-kiel.de>).
- Simianer, H., Marti, S.B., Gibson, J., Hanotte, O., Rege, J.E.O. 2003. An approach to the optimal allocation of conservation funds to minimize loss of genetic diversity in livestock breeds. *Ecological Economics* 45: 377-392.
- Troy, C.S., MacHugh, D.E., Balley, J.F., Magee, D.A., Loftus, T.R., Cunningham, P., Chamberlain, A.T., Sykes, B.C., Bradley, D. G. 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*. 410: 1088-1091.
- Toro, M., Silio, L., Rodriganez J., Rodriguez, C. 1998. The use of molecular markers in conservation programs of live animals. *Genetics Selection Evolution* 30:585-600.
- Wang, J and Hill, W.G. 2000. Marker-Assisted Selection to Increase Effective Population Size by Reducing Mendelian Segregation Variance. *Genetics* 154: 475-489.
- Weitzman, S. 1992. On diversity. *The Quarterly Journal of Economics* 107: 363-405.