



Halk Elinde Yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara Sığır Irklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi*

Onur BAL¹, Bilal AKYÜZ²

¹ Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Melikgazi, Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik ABD, Kocasinan, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada, 100 baş Holştayn, 50 baş Doğu Anadolu Kırmızısı ve 50 baş Yerli Kara sığırında DGAT1 geninin allel yapısının RFLP yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. DGAT1 allellerinin belirlenmesinde, elde edilen PCR ürünleri *Cf1* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim sonunda, KK genotipindeki bireylerde 411 bp'lik tek bant; KA genotipindeki bireylerde 411, 208 ve 203 bp'lik üç bant; AA genotipindeki bireylerde ise 208 ve 203 bp'lik iki bant gözlenmiştir. DGAT1 geni için incelenen ırklarda en yüksek AA genotip frekansı Holştayn ırkında, en yüksek KK genotip frekansı Yerli Kara ırkında ve en yüksek KA genotip frekansı yine Yerli Kara ırkında görülmüştür. İncelenen ırklardan Holştayn ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırklarında A allelinin frekansı K allele göre yüksek bulunmuştur. Ancak Yerli Kara ırkında K allelinin frekansı diğer ırklardan yüksek bulunmuştur. Çalışma sonunda incelenen ırkların DGAT1 lokusu yönünden HW dengesinden sapma görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: DGAT1, genetik belirteç, RFLP, sığır

Detection of Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gene Polymorphism by PCR-RFLP Method in East Anatolian Red and Native Black Cattle Breeds at Villages

Summary: The purpose of this work was to examine the allele structures of DGAT1 gene by RFLP method in 100 head of Holstein, 50 head East Anatolian Red and 50 head Anatolian Black cattle breeds. In order to determine the DGAT1 alleles, the products obtained from PCR were digested with *Cf1* endonuclease enzyme. After digestion, a 411 bp single band in KK genotype; three bands (411, 208 and 203 bp) in KA genotype and two bands (208 and 203 bp) in AA genotype were observed. The AA genotypic frequency was found the highest in the Holstein breed; the KK genotypic frequency was found the highest in the Anatolian Black breed and the KA genotypic frequency was found the highest likewise in the Anatolian Black breed in DGAT1 gene. In this study, the A allele frequency was found higher than the K frequency allele in Holstein and East Anatolian Red cattle breeds. But, the K allele frequency was found higher than the A allele in only the Anatolian Black breed. It was found that HW equilibrium was not in DGAT1 locus in all three breeds examined.

Key Words: Cattle, DGAT1, genetic marker, RFLP

Giriş

Damızlık adaylarının gelecekteki verimlerinin doğru tahmin edilebilmesi, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğindeki en önemli ve en karmaşık konulardan biridir. Tüm seleksiyon yöntemlerinde asıl amaç, damızlık adayının genetik değerini kolay ve yüksek bir doğrulukta tahmin edebilmektir (30). Jenerasyon aralığının uzunluğu nedeniyle, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde mevcut konvansiyonel seleksiyon yöntemleri ile hızlı bir genetik ilerleme sağlayabilmek zordur. Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, jenerasyon aralığını kısaltmak ve damızlık seçiminde başarı oranını artırmak zooteknik biliminin önemli bir uğraş alanıdır. Araştırmacılar klasik yetiştirme yöntemleri

ile genotipik verileri birlikte kullanılarak daha doğru damızlık seçimi üzerine yoğunlaşmışlardır. Doksanlı yıllara kadar protein polimorfizmi ve verimler arasında ilişki kurulup kurulamayacağı konusunda çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla süt protein polimorfizmi, kan grupları ve kan protein polimorfizmi ile sığırlarda süt verimi (29), atlarda yarış performansı (17, 24) arasında ilişkiler araştırılmıştır. Ancak protein polimorfizmi çalışmalarında genetik yapı ve verim arasında ilişkili olabilecek diacylglycerol o-acyltransferase 1 (DGAT1), leptin, büyüme hormonu (GH) veya prolaktin hormonu (PRL) gibi genlerin kodladığı proteinler kolayca izole edilemediği için verimlerle ilişkileri araştırılmamıştır. Damızlıkların yüksek doğrulukta seçilebilmesinde genetik yöntemlerin kullanılması yönelik çalışmalar özellikle 1980'li yılların başında geliştirilen Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi moleküler genetik yöntemler yeni bakış açıları sunmuştur. Geliştirilen bu yöntemler polimorfizmlerin nükleik asit seviyesinde belirlenmesine olanak vermiştir.

Moleküler genetik yöntemlerin çiftlik hayvanları

Geliş Tarihi / Submission Date : 13.05.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 26.08.2013

*TSY-11-3731 Proje Koduyla Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenen "Halk Elinde Yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara Sığır Irklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi" Adlı Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir.

yetiştiriciliğinde kullanılmaya başlanması, bazı kantitatif özellik lokuslarının (Quantitative Trait Loci, QTL) düzenleyici ve yapısal bölgelerindeki veya bu genlerin komşu dizinlerindeki varyasyonlar ile sığırlarda süt verimi, süt proteini ve süt yağı miktarı ile sütün işlenmesi sonucu elde edilen ürünlerin miktarları arasında ilişki olabileceği ve bu genlerin damızlık seçiminde belirteç (marker) gen olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (6, 10, 21, 30).

Bireyin verimi ile ilişkili olduğu düşünülen belirteç genlerin keşfedilmesi, Marker Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection, MAS) olarak adlandırılan moleküler ıslah yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamıştır. MAS yardımıyla ıslah edilmesi istenilen ırkta elde edilmesi hedeflenen genetik ilerleme, klasik seleksiyon yöntemlerine göre çok daha hızlı olabilecektir (21). Diğer yandan istenilen belirteç allele sahip bireylerin seçim ile damızlık seçiminde yüksek doğruluk ve isabet sağlanabilecektir (34). Özellikle sığır yetiştiriciliğinde MAS ile birlikte suni tohumlama, embriyo transferi ve invitro fertilizasyon gibi yardımcı üreme tekniklerinin yaygınlaşması, yöntemin güvenilirliğini dolayısıyla yaygınlığı artıracaktır. MAS'ın yaygınlaşması, klasik ıslah çalışmalarında kullanılacak hayvan sayısını, işçiliği, bakım maliyetini ve süreyi azaltacağı gibi maliyeti de düşüreceği için işletmelerin ekstra kazanç sağlamasına olanak verecektir.

MAS yönteminde, farklı belirteç genleri kullanılarak yapılacak seleksiyon sonucunda daha hızlı bir genetik ilerleme sağlamak ve birim hayvandan elde edilmesi beklenen verim düzeyini artırmak hedeflenmektedir (30). Bu yöntem ile çiftlik hayvanlarında elde edilecek genetik ilerleme hızının %15-30 oranında artırabileceği bildirilmiştir (16, 19). Bishop ve ark. (3) MAS ile suni tohumlama ve embriyo nakli gibi yöntemlerin birlikte kullanılmasının sığırlarda jenerasyon aralığını 69 aydan 45 aya düşürebileceğini bildirmişlerdir.

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, moleküler belirteçlerdeki polimorfizmler ile farklı verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar da artık önem kazanmaya başlamıştır (6). Yapılan çalışmalar sonunda, son yıllarda bazı genler ve bu genlerin allelik yapıları ile süt verimi arasında ilişki olduğu belirlenmiş ve bu genlerin süt verimi için genetik belirteç olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir (1, 2, 5, 10).

Diğer taraftan fenotipik özellikler ve belirteç genlerdeki polimorfizimler ırkların karakterizasyonunda da kullanılmaktadır (9). Ayrıca genetik seçim ve farklı ırklar arasındaki evrimsel ilişkilerin açıklanmasında da aday genlerdeki genetik polimorfizimler önemli bir araştırma konusu olmuştur (27). Fakat, Türkiye'de dahil olmak üzere gelişmekte olan ülkelerde, yerli

sığır ırkları ile diğer ırkların karşılaştırılabilmesine olanak veren bilgiler (gen frekansları, gen çeşitliliği ve ırklar arasındaki farklılıkların belirlenmesi) ve kültür ırklarındaki verimler ile genetik belirteçlerin etkileri hakkında yapılan çalışmalar yetersizdir. Son yıllarda, sığırlarda genetik belirteç olarak seçilen aday genler ve bireylerin verim özellikleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar artmıştır (16).

Tüm dünyadaki süt sığırı yetiştiriciliğinde yapılan seleksiyon çalışmalarında genel olarak süt verimi, süt komponentleri ve süt teknolojisi konuları üzerine odaklanılmaktadır (5). Süt verimi çevre faktörlerinden etkilenen ve çok sayıda genetik lokus tarafından kontrol edilen tipik poligenik bir karakterdir. Son yıllarda süt protein polimorfizmi ile süt verimini etkileyen fizyolojik ve biyokimyasal özellikler arasındaki ilişkide rolü olduğu bilinen bazı genler belirlenmiştir. Bu genlerde bulunan allelik varyasyonların sütün kompozisyonunu, kalitesini ve elde edilen sütteki bireysel farklılıkları etkileyebileceği bildirilmiştir (1). Büyüme hormonu ve prolaktin hormonu gibi bazı hormonlar ile kappa kazein (κ -CN) gibi süt proteinlerinin allelik yapıları ile süt verimi, süt komponentleri ve süt ürünlerinin elde edilmesi gibi özellikler arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (4, 13). Bu nedenle κ -CN, GH ve PRL genlerinin allelik yapılarının sığırlarda damızlık adaylarında laktasyon performansını tahminde aday gen olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (13).

Bu belirteç genlerden birisi de DGAT1 genidir. Bu gen, yüksek yapılı ökaryotlarda, yağların bağırsaklarda emilimi, lipoprotein yapıların üretimi, adipoz doku yapımı ve laktasyon döneminde bulunan sığırlarda triaçilgliserol metabolizmasında görev alan acyl-CoA enzimini kodlamaktadır (20). DGAT1 geni, sığır (*Bos taurus*) karyotipinin 14. kromozomunun (BTA 14) sentromerik bölgesinde 3 cM'luk bir mesafede bulunmaktadır (26). Bu genin sığırlarda süt verimini etkileyebilme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (8, 35). Yağların esas bileşeni olan trigliseridler yağların uzun zincirine diaçilgliserol bağlanmasıyla oluşmaktadır. Bu reaksiyon bilinen en az iki enzim tarafından katalize edilir.

Bu enzimlerden biri diacylglycerol acyltransferase 1 enzimidir ve DGAT1 geni tarafından kodlanır (31). Diğer taraftan, DGAT1 geninin sığırlarda süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkisinin olduğuda bildirilmiştir (18, 23). DGAT1 geninin 8. ekzon bölgesinde 10433 ve 10434 pozisyonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu, genin kodladığı proteinin 232. amino asidi olan lizin, alanine dönüşmesine (DGAT1 K232A) neden olan bir polimorfizmin varlığı belirlenmiştir (15). Alanin amino asidini kodlayan gen (A alleli) diziliminin sadece gerçek sığırlarda (*Bos taurus*) görüldüğü, lizin amino asidini kodlayan gen diziliminin ise (K alleli) ilkel sığırlarda görüldüğü bildirilmiştir (33).

Bu baz değişimi *Cfr1* restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parçacık Büyüklük Polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile kolayca belirlenebilmektedir. Holştayn ırkında, DGAT1 geninde A allelinin düşük süt yağı ve yüksek süt protein içeriği; yüksek süt verimi ve düşük kas içi yağlanma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (31, 32). Protein ve süt verimindeki önemli derecede azalma ile yağ verimindeki artış lizin varyantı (K alleli) ile; alanin varyantı (A alleli) süt ve protein veriminde artış, yağ verimindeki azalma ile ilişkili bulunmuştur (11, 31). Bu çalışmada Türkiye'de yetiştirilen yerli sığır ırklarından Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara ve kültür ırklarından Holştayn ırkına ait örneklerde, DGAT1 geninin allelik yapısının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın hayvan materyalini 100 baş Holştayn, 50 baş Doğu Anadolu Kırmızısı ve 50 baş Yerli Kara ırkı sığırlardan, dişi ve erkek toplam 200 baş hayvan oluşturmuştur. Çalışmada kullanılacak hayvanların ırkın saf örneklerinden olmasına dikkat edilmiştir. Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara ırklarına ait örnekler, ait oldukları ırka özgü fenotipik özelliklerini göstermeleri ve ırkın yetiştirildiği bölgelerden toplanmalarına dikkat edilmiştir. Holştayn ırkına ait örnekler ise Damızlık Sığır Yetiştiriciler Birliğine kayıtlı bireylerden seçilmiştir. Çalışmada kullanılan ırklara ait bireylerin Vena jugularislerinden alınan kan örneklerinden fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi (25) ile DNA izolasyonları yapılmıştır.

İncelenen hayvanlarda DGAT1 allellerini belirlemek için yapılacak polimeraz zincir reaksiyonunda forward: 5'- GCA CCA TCC TCT TCC TCAA G -3'; reverse: 5'- GGA AGC GCT TTC GGA TG -3' olacak şekilde bir primer seti (31) kullanılmıştır. PCR karışımı; 0.1 µl Taq polimeraz (5 U/µl), 50 µM dNTP, 0.2 µM primer, 6 µl MgCl₂, 100 ng/µl yoğunluğundaki stok DNA'lardan 3 µl karışım dH₂O ile 25 µl'ye tamamlandı. Toplam hacmin %10'u oranında DMSO eklenerek hazırlanmıştır. PCR cihazı 95 °C'de 5 dk başlangıç denatürasyonundan sonra her bir döngüsü; 94 °C'de 60 sn, 60 °C'de 60 sn ve 72 °C'de 60 sn olacak şekilde 35 döngü ve son döngüyü takiben 72 °C'de 10 dk şeklinde programlanmıştır.

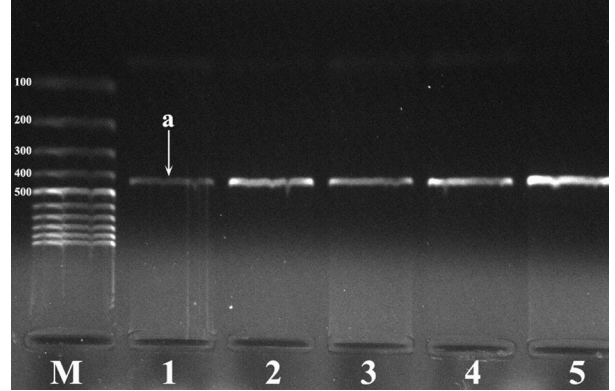
Kesim işlemi için bir tüpe 5 µl PCR ürünü 9 µl dH₂O, 1.5 µl enzim tampon solüsyonu ve 0.5 µl *Cfr1* endonükleaz enzimi eklenmiştir. Hazırlanan karışım 37 °C'lik etüvde 4.5 saat bekletildikten sonra restriksiyon enzimini inaktive etmek amacıyla karışım 65 °C'de 20 dk tutularak kesim işlemi sonlandırılmıştır.

İncelenen örnekler için DGAT1 geninin allel frekansları sayım yolu ile elde edilmiştir. İncelenen ırkların DGAT1 geni yönünden genetik denge testi Ki-kare ile yapılmıştır.

Bulgular

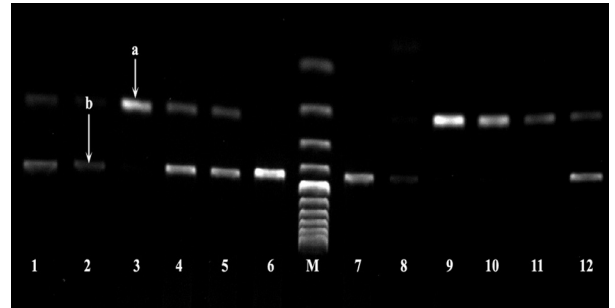
PCR sonunda %2'lik agaroz jel elektroforezlerinde 411 bp'lik tek bant görülmüştür (Resim 1).

Resim 1. 1-5: PCR ürünleri (a: 411 bp'lik bant), M: 100 bp'lik DNA merdiveni



Elde edilen 411 bp'lik PCR ürünlerinin *Cfr1* restriksiyon endonükleaz ile kesilmesi sonunda yapılan %4'lük agaroz jel elektroforezinde KK genotipindeki bireylerde 411 bp'lik tek bant, KA genotipindeki bireylerde 411, 208 ve 203 bp'lik üç bant, AA genotipindeki bireylerde ise 208 ve 203 bp'lik iki bant gözlenmiştir (Resim 2).

Resim 2. 1, 2, 4, 5, 12; KA genotipindeki bireyler: 3,9-11; AA genotipindeki bireyler: 6-8; KK genotipindeki bireyler: M; 100 bp'lik DNA merdiveni (a; 208 ve 203 bp'lik bantlar; b; 410 bp'lik bant)



DGAT1 geni için incelenen örnekler için PCR ürünlerinin *Cfr1* endonükleaz enzimi kesimi sonucunda elde edilen bantlara göre en yüksek AA ve KK genotip frekansı Holştayn ırkında, en yüksek KA genotip frekansı ise Yerli Kara ırkında bulunmuştur. İncelenen ırklara ait örneklerde A allelinin frekansı Holştayn ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırklarında; K allelinin frekansı ise Yerli Kara ırkından yüksek bulunmuştur. İncelenen ırklara ait genotip ve allel frekansları Tablo 1'de verilmiştir. Bu çalışmada, DGAT1 gen allel frekanslarının Ki-kare test sonuçları incelendiğinde Doğu Anadolu Kırmızısı ırkına ait örneklerin 0.005; Yerli Kara ve Holştayn ırkına ait örneklerin ise 0.001 düzeyinde istatistik olarak önemli oldukları belirlenmiştir.

Tablo 1. DGAT1 geni yönünden incelenen ırklara ait Ki-kare analizleri, genotip ve allele frekansları

İrk	N	Genotip Frekansı						Allel Frekansı		X ² (HW)	P
		AA		KK		KA		A	K		
		Göz (Bek)	F	Göz (Bek)	F	Göz (Bek)	F				
HL	100	63(56.16)	0.63	13(6.16)	0.13	24(37.69)	0.24	0.7500	0.2500	13.401	P<0.001
YK	50	7(11.88)	0.14	8(12.88)	0.16	35(25.24)	0.70	0.4900	0.5100	7.628	P<0.001
DAK	50	15(19.10)	0.30	3(7.10)	0.06	32(23.80)	0.64	0.6200	0.3800	6.073	P<0.005

Göz: Gözlenen genotip; Bek: Beklenen genotip; F: Frekans; HL: Holştayn; YK: Yerli Kara; DAK: Doğu Anadolu Kırmızısı; HW: Hardy-Weinberg dengesi

Tartışma ve Sonuç

Sığır yetiştiriciliğinde uygulanan seleksiyon programları öncelikli olarak süt ve et verim özelliklerinin ıslahı göz önünde tutularak yapılmıştır. Ortaya çıkmasında aditif genlerin rol oynadığı kantitatif karakterler yönünden bireylerin fenotipik değerleri çoğunlukla genotipik değerlerini doğru olarak yansıtmamaktadır. Dolayısıyla, kantitatif özellikleri iyileştirmek amacıyla yapılacak seleksiyon çalışmalarında bireylerin fenotipik değerlerinin göz önünde tutulması seleksiyonun etkinliğini ve başarısını düşürebilmektedir. Bu nedenle, ıslahı düşünülen karakter yönünden damızlıkların genotipik değerlerinin tahmin edilmesi, ıslahın başarısı için büyük önem taşımaktadır. Jenerasyon aralığının uzun olması sığır, koyun ve keçi gibi çiftlik hayvanlarında kullanılan mevcut ıslah yöntemlerinin başarısı ve etkinliği için önemli bir problemdir. Ayrıca bu türlerde başarı, dikkatli çalışmayı ve düzenli kayıt tutmayı zorunlu kılan uzun bir çalışma süresini gerektirmektedir. Bu problemler, ıslah çalışmalarının etkinliğinin artırılması ve hedeflenen başarıya ulaşmak için yeni yöntemlerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Özellikle son yıllarda moleküler genetik alanında elde edilen ilerlemeler, verimle ilişkili olduğu düşünülen lokusların belirlenmesine, varyasyonların tanımlanmasına ve bu varyasyonlarla verim özellikleri arasındaki ilişkilerin incelenmesine olanak sağlamaktadır.

Belirli genlerde görülen varyasyonlar ile verimler arasındaki ilişkilerin araştırılmasında öncelikle fenotiple ilişkisi olduğu düşünülen genler yönünden eldeki hayvan varlığının genetik karakterizasyonunun yapılması önemlidir.

Sığırlarda DGAT1 polimorfizmi ilk olarak Spelman ve ark. (28) tarafından belirlenmiştir. Daha sonra Winter ve ark. (35) inceledikleri 16 farklı sığır ırkında K frekansının 0.10 ile 1.00 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. En düşük K allel frekansını (0.1) Alman Fleckvieh ırkında, en yüksek K allel frekansının (1.0) ise manda (Bubalus bubalus) da olduğunu bildirmişlerdir (35).

Thaller ve ark. (31) tarafından Alman sığır ırklarında

DGAT1 allel polimorfizmi ile süt verimi arasındaki ilişkinin incelendiği bir başka çalışmada, K allel frekansı Fleckvieh sığırlarında 0.072, Holştayn ırkında ise 0.548 olarak bulunmuştur. Yüksek süt yağı verimi nedeniyle Almanya'da en çok tercih edilen ırk olan Fleckvieh sığırında K allel frekansının beklenmedik bir şekilde çok düşük olduğu görülmüştür. Diğer taraftan yüksek süt verimi ile karakterize olan Alman Holştayn'larında K allelinin frekansı yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin, çalışmanın yapıldığı zamana kadar Almanya'da Fleckvieh ırkında yüksek süt verimi, Holştayn ırkında ise yüksek süt yağı verimi yönünden yapılan seleksiyon çalışmaları olabileceği düşünülmüştür.

Sanders ve ark. (26) tarafından Almanya'da yetiştirilen Angeln ırkı sığırlarda K allel frekansının diğer Avrupa sığır ırklarına göre oldukça yüksek (0.61) olduğunu bildirilmiştir. Bunun sebebinin de, Angeln ırkında süt kompozisyonu yönünden yapılan seleksiyon çalışmalarının olabileceği ifade edilmiştir.

Lacorte ve ark. (15) tarafından Brezilya'da yetiştirilen dört farklı zebu ırkında K allelinin frekansının 0.96 ile 1 arasında değiştiğini, yine bu ülkede yetiştirilen saf Holştayn'larda K allel frekansının 0.27 olduğu ve Gyr (bir zebu ırkı) x Holştayn melezlerinde de K allel frekansının 0.27 olduğunu belirlemişlerdir.

Avrupa orijinli sütçü sığır ırklarından Jersey ırkında DGAT1 geninin K allelinin frekansı 0.69 ile 0.88 arasında değiştiği bildirilmiştir. Diğer Avrupa ırklarına göre Jersey ırkında K allelinin frekansı oldukça yüksek bulunmuştur (11, 20, 28, 35). Yapılan bir başka çalışmada, K alleli etçi sığır ırklarında yüksekten sütçü ırklarda çok düşük ile çok yüksek seviye arasında değiştiği bildirilmektedir (11).

Uruguay'da yetiştirilen Creole, Holştayn ve Creole x Holştayn melezlerinde DGAT1-A allel frekansının K allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir (33). Saf Creole sığır ırkına ait 23 boğa, 447 inek ve her iki cinsiyetten 105 buzağıda DGAT1-A allel frekansının (0.8964) K allelinden (0.11) yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda, melez bir sığır ırkı olan Creole ırkının

geliştirilmesinde hangi ırkın daha çok etkisi olduğunun belirlenmesinde de DGAT1 geninin yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (22).

Polonya'da yetiştirilen Holştayn damızlık boğa adaylarında DGAT1-K allel frekansının damızlık boğalardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada Holştayn ırkı ineklerde her iki allelin hemen hemen eşit olduğu bildirilmiştir (20). Bu araştırmacılar, Polonya'da yetiştirilen Holştayn'larda DGAT1-K allelinin A alleleline göre daha düşük frekansta olduğu, bu durumun ise diğer Avrupa ülkelerinde yetiştirilen Holştayn popülasyonlarından farklı, ancak Amerikan Holştayn'ları ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Bunun sebebinin Polonya'daki mevcut Holştayn varlığının %90 oranında Amerikan Holştayn sığırlarından genetik olarak etkilenmesinden kaynaklanmış olabileceğini bildirilmişlerdir Amerika ve Avrupa orijinli Holştayn'larda DGAT1 geninin allel frekansları farklılık göstermektedir (20). Amerika orijinli Holştayn sığırlarında K allel frekansı Avrupa orijinlilere göre daha yüksektir. Diğer taraftan Alman Holştayn sığırları yüksek A allel frekansına sahiptirler (32, 33). Türkiye'de yetiştirilen Holştayn ırkına ait 100 baş örneğin DGAT1 geninin allelik yapısının incelendiği bu çalışmada da A allel frekansının K allelinden oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum her ne kadar son yıllarda gerek damızlık dişi ve gerekse sperm ithalatı ile ABD orijinli Holştayn genotipinde bir artış olmasına rağmen, hala Türkiye'de Avrupa orijinli Holştayn genotipinin yüksek olduğunun göstergesi olabilir.

Pareek ve ark. (21) tarafından yapılan çalışma sonunda, DGAT1 geni sadece incelenen popülasyonun süt verim özellikleri yönünden iyi bir belirteç gen olarak kullanması dışında, eldeki DNA havuzunu oluşturan sığır ırkları arasındaki genetik ilişkilerin araştırılmasında da kullanılabilirliğini bildirilmiştir. Benzer şekilde Fisher ve Spelman (7), Yeni Zelanda Holştayn popülasyonunda yaptıkları çalışma sonunda, DGAT1 gen polimorfizminin incelenen popülasyon içindeki genetik ilişkilerin araştırılmasına olanak verebileceğini bildirmişlerdir.

DGAT1 geninin süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkisi olan bir kantitatif özellik lokusu (QTL) olduğu kabul edilmektedir. Bu genin A alleli ile düşük süt yağı, yüksek süt protein oranı yüksek süt verimi (8, 28, 35) ve düşük intramusküler yağ dağılımı (mermerleşme) (32, 33) üzerine etkisi olduğu bildirilmiştir.

Kaupe ve ark. (11) tarafından beş kıtadan 13 farklı ülkede yetiştirilen arasında Türkiye yerli sığır ırklarının da bulunduğu çalışmada, kullanılan ırkları süt yağı oranına göre dört gruba ayrılmış; 38 farklı gerçek sığır ve zebu (*Bos indicus*) ırkına ait toplam 1748 baş örnek üzerinde DGAT1 lokusunda K232A polimorfizminin incelendiği çalışmada; etçi sığır ırklarında A allel

frekansının, sütçü ırklarda ise K allelinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine bu çalışmada K allel frekansı incelenen 73 baş Yerli Kara ırkında 0.38; 50 baş Doğu Anadolu Kırmızısı ırkında ise 0.25 olarak gözlemlenmiştir.

Kepenek (12) 20 baş Yerli Kara ve 34 baş DAK ırklarında DGAT1-K allel frekansının en yüksek Yerli Kara (0.9211) ırkında, en düşük ise Doğu Anadolu Kırmızısı (0.7795) ırkında olduğunu gözlenmiştir. İncelenen ırklarda sadece KK ve KA genotipleri gözlenmiş, ancak Türkiye yerli sığır ırklarındaki K allel frekansının Avrupa ırklarından yüksek olduğu bildirilmiştir (12). Bu çalışmada DGAT1-K allelinin frekansı Yerli Kara (0.51) ve DAK (0.38) ırklarında orta düzeyde; ancak yine de Avrupa ırklarından yüksek bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmada da K allel frekansının Yerli Kara'da Doğu Anadolu Kırmızısı'ndan yüksek olduğu görülmüştür. Türkiye yerli sığır ırklarıyla yapılan çalışmalarda K ve A allel frekansları farklı bulunsun da, K allelinin frekansının Avrupa sütçü ırklarından daha yüksek olduğu görülmektedir.

Türkiye yerli sığır ırklarında süt verimini artırmaya yönelik sistematik bir seleksiyon yapılmamıştır. Fakat Anadolu'da erkek sığırların güçlü ve kuvvetli olanlarının çekim güçlerinden yararlanılmak üzere kısırlaştırılması nedeniyle negatif bir seleksiyon baskısına maruz kalmışlardır.

Diğer taraftan bu çalışmada incelenen Anadolu yerli ırklarında (Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara) K allelinin yüksek olması ancak A allelinde bulunması, bu ırkların hala varyasyonlarını devam ettirdiklerinin ve seleksiyon çalışmalarının yapılabileceğinin bir göstergesidir. Türkiye yerli sığır ırklarında süt verimi düşük ancak süt yağı oranları yüksektir. Bu bilgide yapılan çalışmada K allelinin yüksek olması bulgusu ile örtüşmektedir. Ancak bu projede incelenen ırklara ait örneklerde DAGT1 lokusu yönünden HW dengesinden ayrıldığı görülmüştür. Bu dengesizliğin sebebi inbreed yetiştirme, seleksiyon veya göçten kaynaklanmış olabilir. Ancak daha doğru sonuç için daha çok örnekle çalışılmalıdır.

Sığır yetiştiriciliğinde DGAT1 gen polimorfizminin seleksiyon çalışmalarında belirteçler olarak kullanılabilmesi yönünde yapılan çalışmalar bulunmaktadır (7, 14). Ancak DGAT1 genindeki varyantlarla, süt verim parametreleri arasında ilişkilerin daha kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir. Bu varyantlar, genetik çalışmalar ve yetiştiricilik alanlarında uygun test sistemlerinin geliştirilmesi için de kullanılabilir. Türkiye'de, incelenen lokus sayısının artırıldığı ve bu lokuslardan elde edilen sonuçların hayvanlara ait verim ve pedigrî kayıtları ile birleştirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Alipanah M, Kalashnikova L, Rodionov G. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. *Iran J Biotech* 2007; 5(3): 158-61.
2. Bennewitz J, Reinsch N, Paul S, Looft C, Weimann C, Erhardt G, Thaller G, Kühn C, Schwerin M, Thomsen H, Reinhardt F, Reents R, Kalm E. The DGAT1 K232A mutation is not solely responsible for the milk production quantitative trait locus on the bovine chromosome 14. *J Dairy Sci* 2004; 87: 431-42.
3. Bishop MD, Hawkins GA, Keener CL. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology* 1995; 43: 61-70.
4. Bobe G, Beitz DC, Freeman AE, Lindberg GL. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J Dairy Sci* 1999; 82(12): 2797-804.
5. Dybus A. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black-and-White cattle. *Arch Tierz* 2002; 45(5): 421-8.
6. Dybus A, Grzesiak W, Szatkowska I, Błaszczuk P. Association between the growth hormone combined genotypes and dairy traits in Polish Black-and-White cows. *Anim Sci Pap Rep* 2004; 22(2): 185-94.
7. Fisher PJ, Spelman RJ. Verification of selective DNA pooling methodology through identification and estimation of the DGAT1 effect. *Anim Genet* 2004; 35: 201-5.
8. Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim, L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Mni M, Reid S, Simon P, Spelman R, Georges M, Snell R. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res* 2001; 12: 222-31.
9. Jeichitra V, Kandasamy N, Panneerselvam S. Milk protein polymorphism in Kangayam cattle. *Trop Anim Health Prod* 2003; 35(2): 147-53.
10. Joudrey EM, Lechniak D, Petrik J, King WA. Expression of growth hormone and its transcription factor, Pit-1, in early bovine development. *Mol Reprod Dev* 2003; 64: 275-83.
11. Kaupe B, Winter A, Fries R, Erhardt G. DGAT1 polymorphism in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds. *J Dairy Res* 2004; 71: 182-7.
12. Kepenek EŞ. Polymorphism of Prolactin (PRL), Diacylglycerol Acyltransferase1 (DGAT-1) and Bovine Solute Carrier Family 35 Member 3 (SLC35A3) Genes in Native Cattle Breeds and Its Implication for Turkish Cattle Breeding. The Degree of Master. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University. Ankara-Türkiye, 2007.
13. Kovács K, Völgyi-Csík J, Zsolnai A, Györkös I, Fésüs L. Associations between the Alul polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Arch Tierz* 2006; 49(3): 236-49.
14. Kühn C, Thaller G, Winter A, Bininda-Emonds ORP, Kaupe B, Erhardt G, Bennewitz J, Schwerin M, Fries R. Evidence for multiple alleles at the DGAT1 locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genet* 2004; 167: 1873-81.
15. Lacorte GA, Machado MA, Martinez ML, Campos AL, Maciel RP, Verneque RS, Teodoro RL, Peixoto MGCD, Carvalho MRS, Fonseca CG. DGAT1 K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. *Genet Mol Res* 2006; 5(3): 475-82.
16. Litwinczuk Z, Krol J. Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. *Anim Sci Pap Rep* 2002; 20(Suppl 1): 33-40.
17. Mullen PA, Hopes R, Sewell J. The biochemistry, haematology, nutrition and racing performance of two-year-old thoroughbreds throughout their training and racing season. *Vet Rec* 1979; 104: 90-5.
18. Oikonomou G, Angelopoulou K, Arsenos G, Zygoyiannis D, Banos G. The effects of polymorphisms in the DGAT1, leptin and growth hormone receptor gene loci on body energy, blood metabolic and reproductive traits of Holstein cows. *Anim Genet* 2008; 40: 10-7.
19. Özdemir M, Doğru Ü. Sığırların verim özellikleri üzerine etkili önemli moleküler markörler. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg* 2008; 39 (1): 127-35.
20. Pareek CS, Czarnik U, Zabołewicz T, Pareek RS, Walawski K. DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide polymorphism in Polish Black-and-White cattle. *J Appl Genet* 2005; 46(1): 85-7.
21. Reis C, Navas D, Pereira M, Cravador A. Growth hormone Alul polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch Zootec* 2001; 50: 41-8.

22. Rincón G, Armstrong E, Postiglioni A. Analysis of the population structure of Uruguayan Creole cattle as inferred from milk major gene polymorphisms. *Genet Mol Biol* 2006; 29(3): 491-5.
23. Ripoli MV, Corva P, Giovambattista G. Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods. *Res Vet Sci* 2006; 80: 287-90.
24. Rose RJ, Hodgson DR. Haematological and plasma biochemical parameters in endurance horses during training. *Equine Vet J* 1982; 14: 144-8.
25. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Second Edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
26. Sanders K, Bennewitz J, Reinsch N, Thaller G, Prinzenberg EM, Kühn C, Kalm E. Characterization of the DGAT1 mutations and the CSN1S1 promoter in the German Angeln dairy cattle population. *J Dairy Sci* 2006; 89: 3164-74.
27. Sodhi M, Mukesh M, Prakash B, Mishra BP, Sobti RC, Singh KP, Singh S, Ahlawat SPS. MspI allelic pattern of bovine growth hormone gene in Indian Zebu cattle (*Bos indicus*) breeds. *Biochem Genet* 2007; 45(1/2): 145-53.
28. Spelman RJ, Ford CA, McElhinney P, Gregory GC, Snell RG. Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. *J Dairy Sci* 2002; 85: 3514-7.
29. Şekerden Ö, Doğrul F, Erdem H. Türkiye'de Simental ineklerde kan ve süt protein polimorfizmi ve bunların muhtelif verim özelliklerine etkileri. *Tr J of Vet Anim Sci* 1999; 23 (Ek Sayı 1): 87-93.
30. Tambasco DD, Paz CCP, Tambasco-Studart MD, Pereira AP, Alencar MM, Freitas AR, Coutinho LL, Packer IU, Regitano LCA. Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. *J Anim Breed Genet* 2003; 120: 51-6.
31. Thaller G, Kühn C, Winter A, Ewald G, Bellmann O, Wegner J, Zühlke H, Fries R. DGAT1 a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim Genet* 2003; 34: 354-7.
32. Thaller G, Krämer W, Winter A, Kaupe B, Erhardt G, Fries R. Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Anim Sci* 2003; 81: 1911-8.
33. Tandia MS, Vijn RK, Mishra BP, Mishra B, Kumar STB, Sodhi M. DGAT1 and ABCG2 polymorphism in Indian cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) breeds. *BMC Vet Res* 2006; 2: 32.
34. Unanian MM, Barreto CC, Cordeiro CMT, Freitas AR, Josahkian LA. Possible Associations between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. *Braz Arch Biol Technol* 2002; 45(3): 293-9.
35. Winter A, Krämer W, Werner F, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J, Womack J, Thaller G, Fries R. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *PNAS* 2002; 99(14): 9300-5.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Bilal AKYÜZ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Genetik Anabilim Dalı

Melikgazi/KAYSERİ

Tel: 0352 2076666-29721

E-mail: bakyuz@erciyes.edu.tr