

Erkan GÜLAY¹ , Muhammet KAYA¹ 

¹ Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural, Osmangazi University, Eskisehir, 26040, Türkiye

Investigation of Celtic and Fresian Polledness Variants in Cattle in Eskisehir Region[#]

ABSTRACT

Objective: In this study, the presence of Celtic polled (PoC) and Fresian Pollen (PoF) variants that cause hornlessness in cattle was investigated in the Holstein cattle populations raised in Eskişehir province using PCR and DNA sequence analysis methods.

Material and Methods: DNA obtained from blood samples taken from a total of 100 cattle from some farms in the Eskişehir region were used as animal material for the study. In the study, PoC and PoF variants were detected by PCR and DNA sequence, PCR products were checked on agarose gel and DNA sequence analysis was performed.

Results: While the PoF variant could not be detected in 100 Holstein cattle raised in Eskişehir, a heterozygous cattle with the PoC allele was detected.

Conclusion: While hornless cattle are preferred more in the modern cattle industry, molecular methods will contribute to herd management and planning by guiding the determination of homozygous-heterozygous genotype of polled cattle.

Keywords: Polled, DNA sequence analysis, Holstein Cattle, PoC, PoF

Eskişehir Yöresi Sığırlarında Celtic ve Fresian Boynuzsuzluk Varyantlarının Arastırılması

ÖZ

Amaç: Bu araştırmada; sığırlarda boynuzsuzluğa neden olan Celtic boynuzsuzluk (PoC) ve Fresian boynuzsuzluk (PoF) varyantlarının, Eskişehir ilinde yetiştirilen Siyah Alaca sığır popülasyonundaki varlıkları PCR ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

Materyal ve Metot: Araştırmanın hayvan materyali olarak Eskişehir bölgesindeki bazı işletmelerde yetiştirilen toplam 100 baş sığırdan alınan kan örneklerinden izole edilen DNAlar kullanılmıştır. Araştırmada, PoC ve PoF varyantlarının tespiti için PCR reaksiyonu ile çoğaltılmış, PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edilerek DNA dizi analizi yapılmıştır.

Bulgular: Eskişehir’de yetiştirilen 100 baş Siyah Alaca sığırla PoF varyantı tespit edilemezken PoC alleleline sahip bir heterozigot sığır tespit edilmiştir.

Sonuç: Modern sığır endüstrisinde boynuzsuz sığırlar daha fazla tercih edilirken moleküler yöntemler pol genotipli sığırların homozigot-heterozigot durumunun belirlenmesinde yol göstererek sürü yönetimi ve planlamasına katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelime: Boynuzsuzluk, DNA dizi analizi, Siyah Alaca Sığırları, PoC varyantı, PoF varyantı

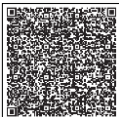
How to cite:

Guay E & Kaya M (2025) Investigation of Celtic and Fresian Polledness Variants in Cattle in Eskişehir Region. Journal of Animal Production, Vol: 66 (1): 73-81 <https://doi.org/10.29185/hayuretim.1619306>

[#]This article was presented as poster presentation at 13. National Animal Science Conference in Ankara on October 26-28, 2023.

[#]This article is summarized from the first author's master thesis.

* Correspondence: muhammetkaya@ogu.edu.tr



GİRİŞ

Sığır, keçi ve koyun gibi türlerin kafatası uzantıları olan boynuzlar, yırtıcılara karşı koruma sağlarken, çiftleşme ve kaynaklara erişimde rekabete için rekabete yardımcı olmak için de kullanılırlar (Grobler et al. 2021). Ancak boynuzlu sığırlar diğer sığırlar ve bakıcıları için risk oluşturur ve et işlenirken kesilmesi gereken hasarlı deriler ile çürük dokular nedeniyle ekonomik kayıplara neden olabilir (Kling-Eveillard et al. 2015). Boynuzlarla ilgili sorunları önlemek amacıyla, sığır yetiştiricileri geçmiş yıllarda boynuzları kesmek için sıcak demir ile dağlama (sıcak demirle dağıtma), kepçe boynuz gidericiler kullanılarak tomurcuk amputasyonu (cerrahi) ve boynuz tomurcuklarına kimyasal kostik yakıcı macun (kimyasal dağıtma) gibi çeşitli yöntemler kullanmışlardır. Boynuzlarla ilgili problemleri ortadan kaldırmayı amaçlayan boynuz kesme işlemlerinin hayvanlara verdiği acı ve sıkıntının yanı sıra, yara bölgesinin enfekte olması ve hayvan büyümesini tehlikeye atması gibi nedenlerle hayvan refahı ve etiği konusunda endişelere neden olmaktadır (Spurlock et al. 2014; Caray et al. 2015).

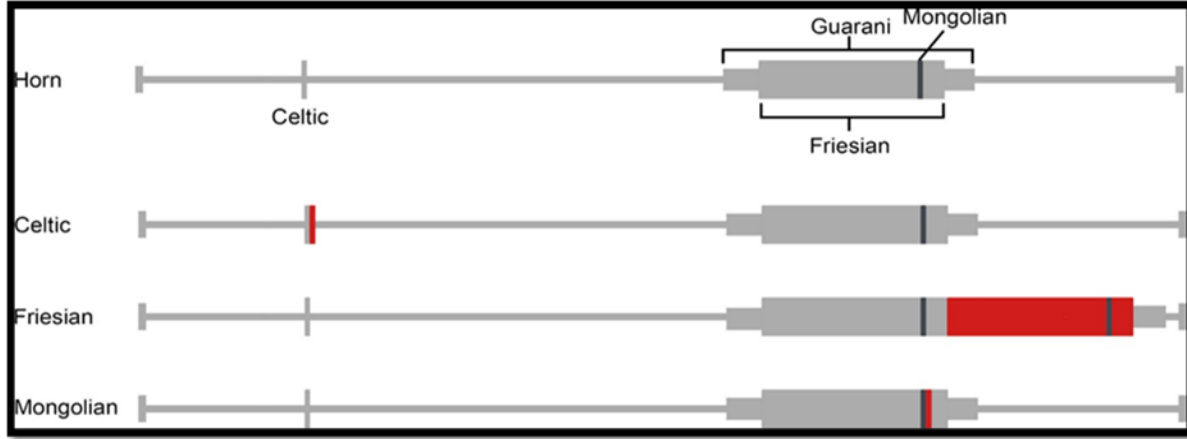
Sığırlarda genel olarak, baş fenotipinde kafatasına sabitlenmiş keratin kaplı sivri çıkıntılara boynuzlu (Horned-Horn), ilkel boynuzlar kafatası yerine cilde gevşek bir şekilde bağlandığında yalancı boynuz (Scurred-Scur) ve boynuzların veya boynuz izlerinin yokluğunda boynuzsuzluk (Polled-Pol) olarak adlandırılmaktadır (Kling-Eveillard et al. 2015; Randhawa et al. 2020). Boynuzsuz sığırların tarih öncesi ve antik çağlarda var olduğu bilinmektedir. Boynuzsuz sığırlara ait izlere Eski Mısır, Roma İmparatorluğu ve İskandinavya gibi bölgelerde rastlanmıştır (Grobler et al. 2021). Chamberlain'in (2017) bildirdiğine göre Bateson ve Saunders (1902), sığırlarda boynuzsuzluk (Pol) fenotipinin boynuzluya baskın olduğunu bildiren ilk kişilerdi. Lloyd Jones and Evvard (1916) da Galloway inekleriyle çiftleştirilen Shorthorn boğalarında boynuzsuzluk genin baskınlığını gösterirken, Williams and Williams'in (1952) boynuzsuz ve boynuzlu Hereford'ları çaprazlamanın sonuçlarını ortaya koymasıyla desteklemiştir. Polled lokusu ilk olarak 1993 yılında sığır kromozomu 1'e (Bos Taurus Autosome 1- BTA1) haritalanırken (Georges et al. 1993), kromozom 1'in sentromerine çok yakın olan 1q12-14 bölgesinde olduğunu 1995 yılında Schmutz et al. (1995) tahmin etmişlerdir. Pol lokusunun ıslah popülasyonlarında frekansının artırılması ve marker yardımcı seleksiyonda kullanılması için sığır 1. kromozomu üzerindeki TGLA49 ve AGLA17 adlı mikrosatelit markerlarıyla Pol lokusunun ilişkili olduğu bildirilmiştir (Brenneman et al. 1996). Simental sığırlarda boynuzsuzluk lokusu ile BM6438 ve SODIMicro2 markerları arasında tam bağlantı olduğu belirlenmiştir (Brookman et al. 2000). Drögemüller et al. ise 2005 yılında bu bölgeyi 1Mb'lık bir segmente daraltmışlardır. 2009 yılında sığır referans genomunun (Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, 2009) tamamlanmasının ardından Seichter et al. (2012) farklı sığır ırklarında yürüttüğü GWAS çalışmasıyla bu bölgeyi 381 kb'ye kadar daraltmışlardır.

Moleküler olarak sığır kromozomu 1'in (BTA1) sentromerik bölgesine haritalanmış olan otozomal dominant Polled (boynuzsuzluk) lokusunun (000483-9913) (OMIA, 2024) Bos taurus'ta boynuzsuzluk özelliğini determine ettiği bildirilmiştir. Polled lokusunun BTA1 üzerindeki konumu tanımlanmış ve aday nedensel mutasyonlar belirlenmiştir. Moleküler çalışmalarla sığırlarda boynuzsuzluk fenotipi ile ilişkili dört DNA dizi varyantı tanımlanmıştır; Celtic Polled (PolC) (Medugorac et al. 2012; Allais-Bonnet et al. 2013; Rothhammer et al. 2014), Friesian Polled (PolF) (Medugorac et al. 2012; Allais-Bonnet et al. 2013; Rothhammer et al. 2014), Mongolian Polled (PolM) (Medugorac et al. 2017) ve Guarani Polled (PolG) (Utsunomiya et al. 2019). Her boynuzsuzluk varyantının kaynaklandığı mutasyon, değişken boyutlu karmaşık bir ekleme-silme (indel) işlemidir (Şekil 1). Bilinen tüm Pol varyantları baskındır ve tek bir pol alleli taşıyan sığırlar, scur lokuslarındaki genotiplerine bağlı olarak boynuzsuz veya scur olacaktır. Farklı popülasyonlarda ve ırklarda başka tanımlanmamış Pol varyantların da bulunması muhtemeldir (örn. Shuxuan ırkı; Chen et al. 2017).

Celtic (PolC) varyantı Kelt coğrafi bölgelerinden kaynaklanan birkaç Avrupa sığır ırkında karmaşık bir ekleme ve silme işlemi olarak tanımlanmıştır. 212 bç'lik bir dizi (1705834–1706045 bç) kopyalanır ve orijinal diziden 6 bç aşağıda olan 10 bç'lik (1706051–1706060 bç) bir dizinin yerini alır (Şekil 1) (Medugorac et al. 2012). Boynuzlu bir Holstein-Friesian boğasından alınan fibroblastların genomuna PolC varyantının 202 bç ekleme-silme mutasyonu CRISPR/Cas12a tekniği ile gen düzenlemesi yapılarak boynuzsuz buzağı üretilerek bu mutasyonun boynuzsuz fenotipine neden olduğu belirlenmiştir (Schuster et al. 2020). Holstein-Friesian sığırlarında tanımlanan Fresien (PolF) varyantı, PolC varyantından yaklaşık 200 kb aşağıdadır ve 1909352 ile 1989480 bç arasındaki dizinin 80128 bç'lik bir kopyasıdır (Şekil 1) (Medugorac et al. 2012; Allais-Bonnet et al. 2013; Rothhammer et al. 2014). Kopyalanan segment orijinal dizinin hemen ardında yer alır ve aynı yöndedir. Üçüncü pozisyonda bir T>A transversiyonu ve 45. pozisyonda 2 bç'lik bir delesyon (TG) ile referans diziden farklıdır (Medugorac et al. 2012).



Moğol Yak ve Turano sığırlarında keşfedilen PolM varyantı BTA1'deki 800 kb'lik bir bölgeye yerleşmiştir (Medugorac et al. 2017). PolM varyantına ait iki mutasyondan ilki, orijinal diziden 61 bç aşağı akışta 219 bç'lik bir duplikasyon-eklemedir (P219ID: 1976128 bç'de başlıyor) ve ikincisi, P219ID'den 621 bç yukarı akışta 6 bç'lik bir delesyon ve 7 bç'lik bir eklemedir (Medugorac et al. 2017) (Şekil 1). PolG, Brezilya'dan Nellore sığırlarında (*Bos indicus*) (Utsunomiya et al. 2019) yaklaşık 110 kb'lik bir çoğaltmanın neden olduğu bir kopya sayısı varyasyonu olarak (1893790–2004553 bç) tanımlanmıştır. Bilinen dört Pol varyantının, herhangi bir kodlama dizisini, intronik bölgeyi veya bilinen herhangi bir düzenleyici bölgeyi etkilemediği bildirilmiştir (Aldersey et al. 2020).



Şekil 1. Celtic, Friesian ve Moğol boynuzsuzluk varyantları. Gri dikdörtgenler, tekrarlanan diziyi temsil eder ve kırmızı dikdörtgenler, kopyaların ekleme bölgesini temsil eder. (Utsunomiya et al. 2019; Aldersey et al. 2020).

Figure 1. Celtic, Friesian, Mongolian and Guarani polledness variants. Grey rectangles represent the duplicated sequence and red rectangles represent the insertion site of the duplicates.

BTA1 (bovine genome assembly ARS-UCD1.2 (GCA_002263795.2): https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_002263795.1/) üzerinde yer alan boynuzsuzlukla ilişkili mutasyonların konumları şöyledir: PolC g.[22429326_2429335del;2429109_2429320dupins], PolF g.2629113_2709240dup (80,128 bç), PolM g.[2695261_2695267delinsTCTGAA;2695889_2696047dupins] ve PolG g.2614828_2724315dup (110 kb). BTA1 kromozomunda, Celtic Polled IFNAR2 ve OLIG1 genleri arasında konumlanmıştır. Bilinen herhangi bir kodlama dizisini, bağlantı bölgesini, intronik değişimi veya herhangi bir birleştirmeyi etkilemediği gözlemlenmiştir (Medugorac et al. 2012; Aldersey et al. 2020). Boynuzsuzluk genotiplerinin moleküler yöntemle belirlenmesi için, türe özgü kullanılan birkaç MSAT (mikrosatellit) marker ve SNP (Single Nucleotide Polimorphism) tabanlı testler geliştirilmiştir (Mariasegaram et al. 2012; Grobler et al. 2021).

Bu çalışmanın amacı, farklı ülkelerdeki sığır popülasyonlarında varlığı belirlenen PolC ve PolF varyantlarının, Eskişehir ilinde yetiştirilen Siyah Alaca sığır popülasyonunda varlığını moleküler yöntemlerle araştırmaktır. PolF varyantı Jersey, Holstein ve Witrug ırkı sığırlarda görülürken PolC varyantı Angus, Blonde d'Aquitaine, Dexter, Limousin, Charolais, ve Hereford ırkında görüldüğü bildirilmektedir (Medugorac et al. 2012). Her ne kadar PolC varyantının varlığı Holstein ırkında daha önce bildirilmese de bu çalışmada farklı bir popülasyonla çalışıldığından PolC varyantı da araştırılmıştır. Eskişehir'de yetiştirilen Siyah Alaca sığır işletmelerindeki 100 baş sığırdan alınmış kan örneklerinden DNA saflaştırılarak, PCR yöntemi ile Pol geni varyasyonlarından Celtic (PolC) ve Friesian (PolF) boynuzsuzluk varyantlarının varlığı PCR ve DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Yapılan çalışma ile Türkiye'de ilk defa boynuzsuzluk genotipinin varlığı araştırılmıştır. PolC ve PolF varyantların tespiti modern sığır endüstrisinde öne çıkan hayvan refahını iyileştirmek için oluşturulacak boynuzsuz sığır sürülerinin geliştirilmesine katkı sağlanacaktır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Hayvan materyali

Araştırmada, Eskişehir Odunpazarı (n:40), Alpu (n:30) ve Beylikova (n:30) ilçelerinde bulunan üç işletmeden toplam 100 baş boynuzsuz Siyah Alaca (Holstein) sağmal inekten alınan kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler DNA saflaştırma çalışmaları yapılana kadar -20 °C 'de saklanmıştır.



Yöntem

Kandan DNA izolasyonu

Toplam genomik DNA (gDNA) izolasyonu PureLink Genomic DNA Kiti (Invitrogen, Almanya) kullanılarak, üretici firmanın belirttiği DNA izolasyon protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonrası gDNA'lar %1'lik agaroz jel kullanılarak kontrol edilmiş Nanodrop yardımıyla miktar ve kalitesi ölçülmüştür. Örnek DNA miktarları 40-60 ng/ul olarak ayarlanmıştır.

PCR çalışmaları

Araştırmada, polled varyantlarından PolC ve PolF varyantlarının tespiti için hedef bölgenin çoğaltılması amacıyla Medugorac et al. (2012) tasarladığı primerlerden yararlanılarak PCR reaksiyon çözeltileri hazırlanmıştır. PCR reaksiyon karışımı 50 µl olacak şekilde (1 U Taq DNA Polimeraz (Thermo Scientific), 10 X PCR tamponu (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH. 8,8), 1,5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (Fermentas), 5 pM ve 1 µl DNA (50-100 ng)) hazırlanmıştır. PCR işleminde primer bağlanma sıcaklığı 58 °C (P202ID) ve 59 °C (P1909396D2) 60 sn süre ile uygulanırken P202ID 31 ve P1909396D2 için 32 PCR döngüsü yapılmıştır. PCR reaksiyonu tamamlandıktan sonra, mutasyonun meydana geldiği lokusu kontrol etmek için PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde koşturularak kontrol edilmiştir.

Genotiplerin belirlenmesi

Eskişehir'de yetiştirilen Holştayn sığırlarında PolC ve PolF varyantlarına ait mutasyonu araştırmak için PCR ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanılmıştır (Tablo 1). PolC varyantına sebep olan P202ID insersiyonun değişken bölgesini içeren P1909396D2 primerleri boynuzlu sığırlarda 369 bp ve boynuzsuz sığırlarda 571 bp PCR ürünü verecek şekilde dizayn edilmiştir (Medugorac et al. 2012). PCR ürünlerinin ayırımı ve genotipler %2'lik agaroz jelde elektroforezi yapılarak belirlenmiştir. PolF varyantına sebep olan P80kbID delesyonun değişken bölgesini içeren P1909396D2 primerleri boynuzlu ve boynuzsuz sığırlarda PCR ürünü verecek şekilde dizayn edilmiştir (Medugorac et al. 2012). Elde edilen PCR ürünün büyüklüğü 152 baz çiftidir. Araştırmada, hayvanların çoğaltılan DNA bölgesindeki 2 baz (TG) çifti delesyonunun tespiti için PCR ürünlerinin dizi analizi yapılmıştır. PCR ile çoğaltılan bölgede PolF sığırlarda görülen 2 baz (TG) çifti delesyonu araştırılıp bu delesyona sahip sığırlar PolF haplotipi olarak belirlenmiştir. Dizi analizi sonuçları hizmet alımı yoluyla yapılmış, DNA dizi analizi ham sonuçları laboratuvarımızda incelenip MEGA 12 (Kumar et al. 2024) ve CodonCode Aligner (2021) programları kullanılarak analiz edilmiş ve ilgili genotipler araştırılmıştır.

Tablo 1. PolC ve PolF varyant lokuslarına ait primerler

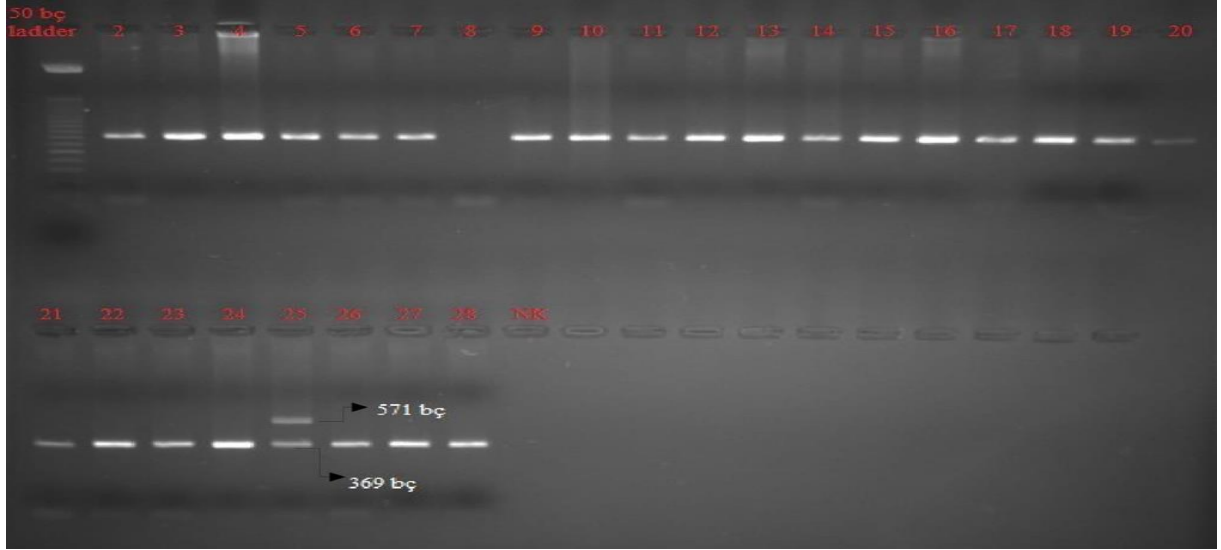
Table 1. Primers for PolC and PolF variant loci

Varyant	Primer	Kaynak
P _{202ID}	Forward: 5'-TCAAGAAGGCGGCACTATCT-3' Reverse: 5'-TGATAAACTGACCCTCTGCCTATA-3'	Medugorac et al. 2012
P _{1909396D2}	Forward: 5'-GAAGTCGGTGGTCTGAAAGG-3' Reverse: 5'-TGTTCTGTGTGGGTTTGAGG-3'	

BULGULAR

PolC PCR reaksiyonu sonuçları

Araştırmada PolC (Celtic varyantı) için yapılan ve P202ID primerleri kullanılarak çoğaltılan PCR ürünleri %2'lik agaroz jele yüklenerek elektroforetik ayırım yapılmıştır. PCR ürünü jel görüntüleri Şekil 2'de verilmiştir. Görüntüleme işleminde PolC varyantı ile ilgili yapılan PCR çalışmalarında, 100 baş sığır içerisinde bir bireyin heterozigot genotipte olduğu belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. PolC için yapılan PCR ürünleri %2'lik agaroz jel görüntüsü (Invitrogen 50 bç DNA Ladder)

Figure 2. The agarose gel image of PCR products for PolC (Invitrogen 50 bç DNA Ladder)

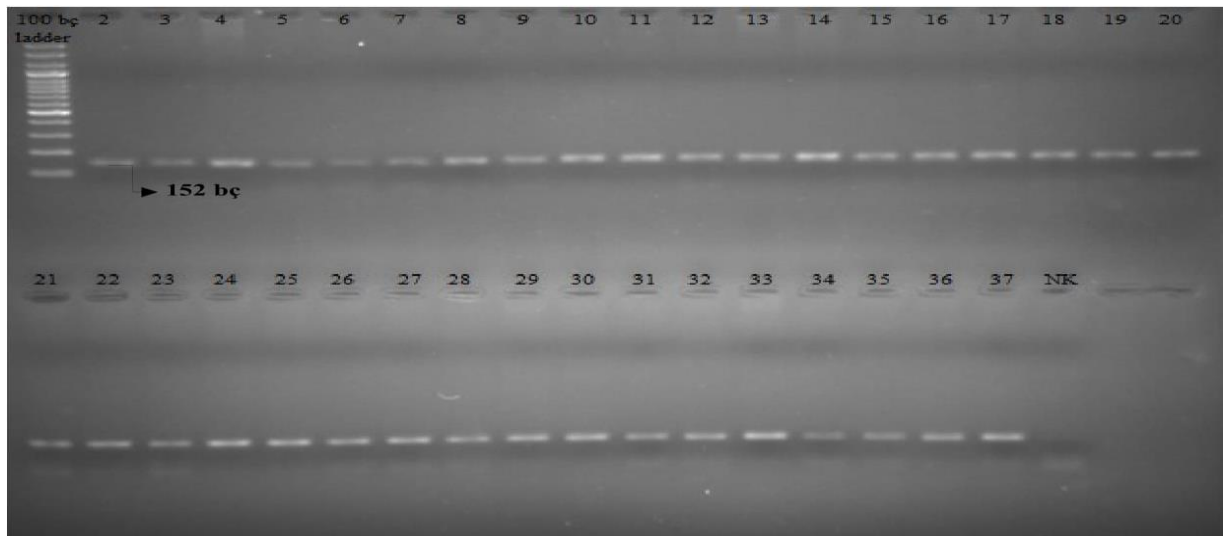
PolF PCR reaksiyonu sonuçları

Boynuzsuzluk (Polled) geninin PolF (Fresien varyantı) için yapılan PCR işlemi sonucu elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. Bu PCR ürünlerinin jel görüntüleri Şekil 3'de verilmiştir. PolF varyantını belirlemek amacıyla yapılan PCR sonucunda, 152 bç büyüklüğünde ürünler elde edilmiş ve bu ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edilerek (Şekil 3) DNA dizi analizine gönderilmiştir.

PolF DNA Dizi analizi sonuçları

PolF PCR ürünlerinin hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilen DNA dizi analizi ham verileri, MEGA 12 ve CodonCode programları ile analiz edilmiştir. Elde edilen dizi analiz sonuçları, The UCSC Genome Browser Genbankası'nda sığır Polled geni için bilinen mutasyonla karşılaştırılmış ve bu alignment Şekil 4'te gösterilmiştir (UCSC, 2025).

PCR ile çoğaltılan bölgede, PolF varyantına sahip sığırlarda görülen 2 baz (TG) çifti delesyon (P1909396D2) araştırılmış, bu delesyona sahip sığırlar PolF haplotipi olarak belirlenebilirken, çalışmada bu mutasyona sahip herhangi bir örnek tespit edilememiştir (Şekil 4).

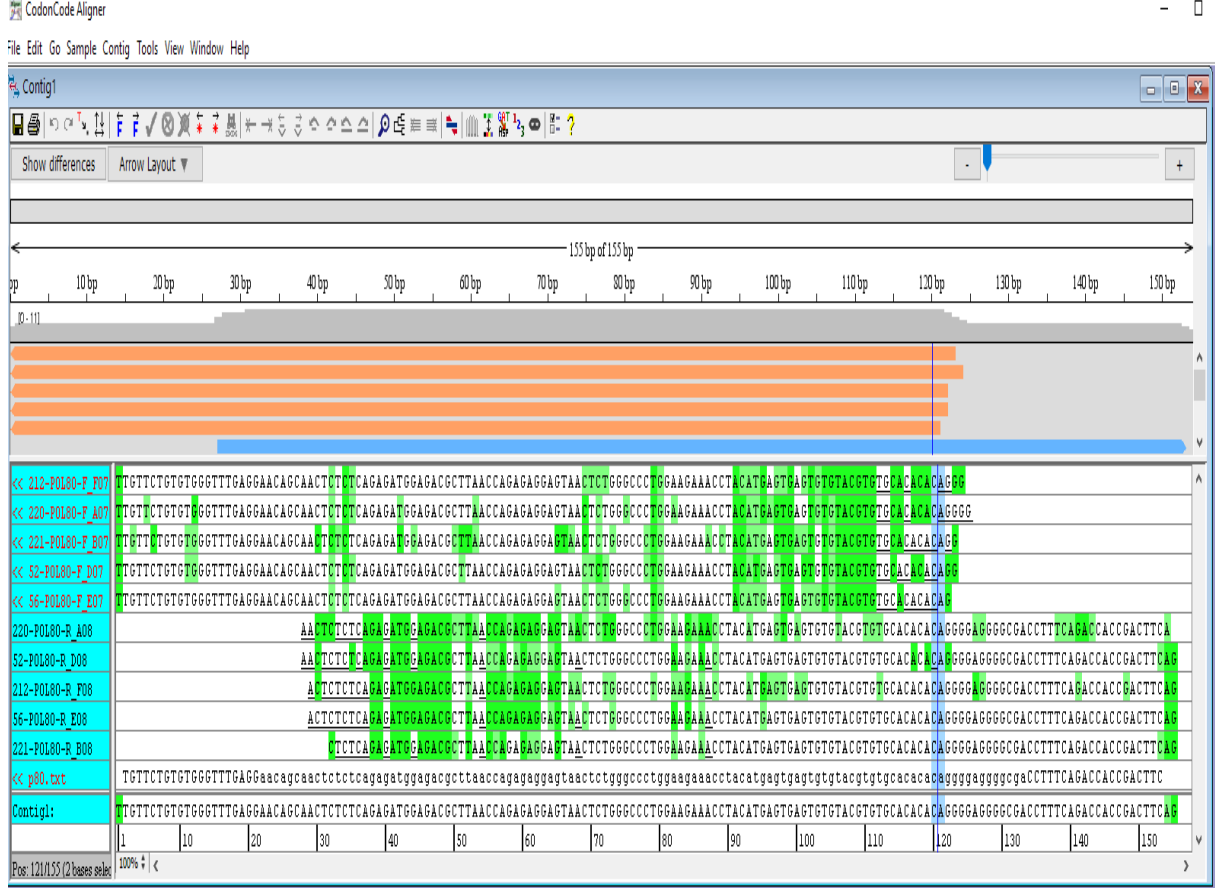


Şekil 3. PolF için yapılan PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü (Hibrişen 100 bç ladder)

Figure 3. The agarose gel image of PCR products for PolF (Hibrişen 100 bç ladder)

Gen frekanslarının tahmin edilmesi

Çalışmada materyal olarak kullanılan ve Eskişehir ilinde yetiştirilen 100 baş sığır arasında PolF varyantı görülmezken, PolC mutasyonuna sahip bir sığır tespit edilmiştir. Buna göre çalışan popülasyonun PolF bakımından boynuzluluk alleli için monomorfik olduğu belirlenmiştir. PolC (P) mutasyonun frekansı ise PopGene programı kullanılarak 0.005 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. Codon and Code programında örneklerin PolF varyantı bölgesinin DNA dizi analizi sonuçlarının karşılaştırılması
Figure 4. Alignment of DNA sequence results of PolF variant region of samples with the CodonCode aligner program

TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye’de ilk defa sığırlarda boynuzsuzluk (polled) geni varyasyonlarından olan PolC ve PolF varyantlarının, Eskişehir ilinde yetiştirilen Siyah Alaca sığırlarında PCR ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanılarak araştırıldığı bu çalışmada, Friesian polled varyantı Pol80kbID mutasyonu tespit edilemezken bir sığırın PolC bakımından heterozigot olduğu belirlenmiştir. PolF varyantı Jersey ve Siyah Alaca ırkı, PolC varyantının ise Angus, Limousin, Charolais ve Hereford ırkı sığırlarda (Medugorac et al. 2012) görülürken çalışma materyalini oluşturan Siyah Alaca sığırlarda PolC bakımından heterozigot bir sığır belirlenmesi suni tohumlamada farklı ırklardan boğalarında kullanılmış olabileceği olasılığını akla getirmektedir. Ayrıca çalışma materyali seçilirken sürülerden boynuzsuz olan inekler seçilmiş ancak boynuzların köreltilme durumları belirlenememiştir.

Boynuzlar, sığırların doğal savunma ve rekabet araçları olarak evrimsel süreçte gelişmiştir. Ancak, boynuzlu sığırların taşıdığı potansiyel tehlikeler ve olası zararları nedeniyle, bazı yetiştiriciler ve endüstri uzmanları tarafından boynuzsuz sığırlar daha tercih edilebilir hale gelmiştir. Bu nedenle, genetik mühendislik ve seleksiyon yöntemleriyle boynuzsuz sığırların üretilmesine ve tercih edilmesine yönelik çalışmalar artmıştır. Boynuzsuzluk (Pol) geni taşıyan sığırların yetiştiriciler tarafından daha çok tercih edilmesi, boynuzsuz sığırların daha yaygın ve etkili bir şekilde yetiştirilmesine olanak tanımaktadır.

Götz et al. (2015) bildirdiğine göre Almanya Bavyera’da boynuzsuz Fleckvieh (Simmental) sığırlarının sistemli üretimi, ilk boynuzsuz ineğin 1974 yılında satın alınması ile başlamış 1985’e kadar üç boynuzsuz boğa ve iki baş boynuzsuz inek daha alınarak sürü büyütülmüştür. Embriyo transferi yoluyla 1984’ten itibaren ilk



homozigot boynuzsuz danalar üretilmiştir. Bu araştırma çiftliğinde üretilen boynuzsuz boğa ve inekler kullanılarak 2013 ve 2014 yıllarında sırasıyla yılda yaklaşık 22.000 ve 32.000 boynuzsuz buzağı doğmuştur. Boynuzsuz boğaların suni tohumlamada kullanılmasıyla sığır popülasyonunda boynuzsuzluk frekansının artışının hızlanmasını beklemektedirler. Bu durum yetiştiriciler arasında boynuzsuz sığırların kabul gördüğünü göstermektedir.

Polled genotipleri belirlemek için ilk olarak geliştirilen mikrosatelit markerlara dayalı MSAT testi (Mariasegaram et al. 2012) kullanılmış, sonraları moleküler yöntemlerin gelişmesine bağlı olarak SNP testi kullanılmıştır. Geliştirilen bazı ticari testler (zoetis 2025- Yeni Zellanda-Brahman, Brangus, Limousin, Charolais, Hereford, Simmental vb) bazı ülkelerde yaygın olarak yetiştirilen ırkların bazılarında çalışırken bazı testler (Veterinary Genetics Laboratory 2025) ise belirli varyantları (PolC ve PolF) belirlemeye yönelik geliştirilmiştir. Yeni Zellanda'da geliştirilen PCR-SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) tekniğinin bazı ırklarda güvenilir sonuçlar vermediği görülmüştür (Chamberlain 2017). Yapılan çalışmada PolC ile F varyantlarını belirlemek için kullanılan Medugorac et al. (2012) tespit ettikleri üç SNP noktasının etkili bir şekilde belirleyebileceği başka çalışmalarda (Randhawa et al. 202) da bildirilmiştir. Modern sığır endüstrisinde boynuzlu hayvanların beslenme, taşıma ve çiftlik çalışanlarına karşı potansiyel tehlike oluşturmaları ve hayvan refahı endişeleri nedeniyle, boynuzsuz sığırlar daha fazla tercih edilirken (Randhawa et al. 2020) moleküler yöntemler pol genotipli sığırların homozigot-heterozigot durumunun belirlenmesine yol göstererek yardımcı olacaktır. Hayvan refahını dikkate alan gelişmiş ülkelerde (ABD- Spurlock et al. 2014; Almanya-Götz et al. 2015) boynuzsuz boğaların suni tohumlamada kullanılmasıyla bu ülke etçi ve sütçü sığır popülasyonlarında boynuzsuz sığır sayısı artmaktadır.

Yürütülen çalışmada pedigree kayıtları bilinmeyen az sayıda hayvan kullanılmasına rağmen heterozigot bir ineğin bulunması Türkiye'de de boynuzsuz sığır popülasyonunun kurulup moleküler yöntemlerle geliştirilebileceği gösterilmiştir. Boynuzsuz fenotipli sığırların pedigree kayıtlarında incelenerek yapılacak moleküler çalışmalarda Polled genotipli sığırlar belirlenebilecektir.

Teşekkürler: -

Veri kullanılabilirliği: Veriler makul talep üzerine sağlanacaktır.

Author contributions: All authors contributed equally to the preparation of the article.

Yazar katkıları: Tüm yazarlar makalenin hazırlanmasına eşit katkıda bulunmuştur.

Etik beyan: Bu araştırma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi Komitesi (TİKAM) Etik Kurulu tarafından 11/11/2011 tarih ve 2011/242 belge numarası ile onaylanmıştır.

Finansal Destek: Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Projeler Koordinatörlüğü tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje No; FYL-2023-2821). Yazarlar finansal destek için teşekkür ederler.

Article description: This article was edited by Editor Çağrı KANDEMİR.

KAYNAKLAR

- Aldersey JE, Sonstegard TS, Williams JL, and Bottema CDK. 2020. Understanding the effects of the bovine POLLED variants. *Anim Genet*, 51, 166–176, <https://doi.org/10.1111/age.12915>.
- Allais-Bonnet A, Grohs C, Medugorac I, Krebs S, Djari A, Graf A, Fritz S, Seichter D, Baur A, Russ I, Bouet S, Rothhammer S, Wahlberg P, Esouerré D, Hoze C, Boussaha M, Weiss B, Thépot D, Fouilloux M, Rossignol M, van Marle-Köster E, Hreiðarsdóttir GE, Barbey S, Dozias D, Cobo E, Reversé P, Catros O, Marchand J, Soulas P, Roy P, Marquant-Leguienne B, Le Bourhis D, Clément L, Salas-Cortes L, Venot E, Pannetier M, Phocas F, Klopp C, Rocha D, Fouchet M, Journaux L, Bernard-Capel C, Ponsart C, Eggen A, Blum H, Gallard Y, Boichard D, Pailhoux E, Capitan A. 2013. Novel insights into the bovine polled phenotype and horn ontogenesis in Bovidae. *PLoS One*, 8, e63512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063512>.
- Barendse W, Armitage SM, Kossarek LM, Shalom A, Kirkpatrick BW, Ryan AM, Clayton D, Li L, Neibergs HL, Zhang N, Grosse WM, Weiss J, Creighton P, McCarthy F, Ron M, Teale AJ, Fries R, McGraw RA, Moore SS, Georges M, Soller M, Womack JE, Hetzel DJS. 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nat Genet*, 6:227–235.



- Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium; Elisk CG, Tellam RL, Worley KC, Gibbs RA, Muzny DM, Weinstock GM, Adelson DL, Eichler EE, Elnitski L, Guigó R, Hamernik DL, Kappes SM, Lewin HA, Lynn DJ, Nicholas FW, Raymond A, Rijnkels M, Skow LC, Zdobnov EM, Schook L, Womack J, Alioto T, Antonarakis SE, Astashyn A, Chapple CE, Chen HC, Chrast J, Câmara F, Ermolaeva O, Henrichsen CN, Hlavina W, Kapustin Y, Kiryutin B, Kitts P, Kokocinski F, Landrum M, Maglott D, Pruitt K, Sapozhnikov V, Searle SM, Solovyyev V, Souvorov A, Ucla C, Wyss C, Anzola JM, Gerlach D, Elhaik E, Graur D, Reese JT, Edgar RC, McEwan JC, Payne GM, Raison JM, Junier T, Kriventseva EV, Eyraas E, Plass M, Donthu R, Larkin DM, Reecy J, Yang MQ, Chen L, Cheng Z, Chitko-McKown CG, Liu GE, Matukumalli LK, Song J, Zhu B, Bradley DG, Brinkman FS, Lau LP, Whiteside MD, Walker A, Wheeler TT, Casey T, German JB, Lemay DG, Maqbool NJ, Molenaar AJ, Seo S, Stothard P, Baldwin CL, Baxter R, Brinkmeyer-Langford CL, Brown WC, Childers CP, Connelley T, Ellis SA, Fritz K, Glass EJ, Herzig CT, Iivanainen A, Lahmers KK, Bennett AK, Dickens CM, Gilbert JG, Hagen DE, Salih H, Aerts J, Caetano AR, Dalrymple B, Garcia JF, Gill CA, Hiendleder SG, Memili E, Spurlock D, Williams JL, Alexander L, Brownstein MJ, Guan L, Holt RA, Jones SJ, Marra MA, Moore R, Moore SS, Roberts A, Taniguchi M, Waterman RC, Chacko J, Chandrabose MM, Cree A, Dao MD, Dinh HH, Gabisi RA, Hines S, Hume J, Jhangiani SN, Joshi V, Kovar CL, Lewis LR, Liu YS, Lopez J, Morgan MB, Nguyen NB, Okwuonu GO, Ruiz SJ, Santibanez J, Wright RA, Buhay C, Ding Y, Dugan-Rocha S, Herdandez J, Holder M, Sabo A, Egan A, Goodell J, Wilczek-Boney K, Fowler GR, Hitchens ME, Lozado RJ, Moen C, Steffen D, Warren JT, Zhang J, Chiu R, Schein JE, Durbin KJ, Havlak P, Jiang H, Liu Y, Qin X, Ren Y, Shen Y, Song H, Bell SN, Davis C, Johnson AJ, Lee S, Nazareth LV, Patel BM, Pu LL, Vattathil S, Williams RL Jr, Curry S, Hamilton C, Sodergren E, Wheeler DA, Barris W, Bennett GL, Eggen A, Green RD, Harhay GP, Hobbs M, Jann O, Keele JW, Kent MP, Lien S, McKay SD, McWilliam S, Ratnakumar A, Schnabel RD, Smith T, Snelling WM, Sonstegard TS, Stone RT, Sugimoto Y, Takasuga A, Taylor JF, Van Tassell CP, Macneil MD, Abatepaulo AR, Abbey CA, Ahola V, Almeida IG, Amadio AF, Anatriello E, Bahadue SM, Biase FH, Boldt CR, Carroll JA, Carvalho WA, Cervellati EP, Chacko E, Chapin JE, Cheng Y, Choi J, Colley AJ, de Campos TA, De Donato M, Santos IK, de Oliveira CJ, Deobald H, Devinoy E, Donohue KE, Dovc P, Eberlein A, Fitzsimmons CJ, Franzin AM, Garcia GR, Genini S, Gladney CJ, Grant JR, Greaser ML, Green JA, Hadsell DL, Hakimov HA, Halgren R, Harrow JL, Hart EA, Hastings N, Hernandez M, Hu ZL, Ingham A, Iso-Touru T, Jamis C, Jensen K, Kapetis D, Kerr T, Khalil SS, Khatib H, Kolbehdari D, Kumar CG, Kumar D, Leach R, Lee JC, Li C, Logan KM, Malinverni R, Marques E, Martin WF, Martins NF, Maruyama SR, Mazza R, McLean KL, Medrano JF, Moreno BT, Moré DD, Muntean CT, Nandakumar HP, Nogueira MF, Olsaker I, Pant SD, Panzitta F, Pastor RC, Poli MA, Poslusny N, Rachagani S, Ranganathan S, Razpet A, Riggs PK, Rincon G, Rodriguez-Ororio N, Rodriguez-Zas SL, Romero NE, Rosenwald A, Sando L, Schmutz SM, Shen L, Sherman L, Southey BR, Lutzow YS, Sweedler JV, Tammen I, Telugu BC, Urbanski JM, Utsunomiya YT, Verschoor CP, Waardenberg AJ, Wang Z, Ward R, Weikard R, Welsh TH Jr, White SN, Wilming LG, Wunderlich KR, Yang J, Zhao FQ. 2009. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science*. 324(5926):522-8. doi: <https://doi.org/10.1126/science.1169588>
- Brenneman RA, Davis SK, Sanders JO, Burns BM, Wheeler TC, Turner JW, Taylor JF. 1996. The polled locus maps to BTA1 in a *Bos indicus* × *Bos taurus* cross. *J Hered*, 87(2), 156-161
- Brockmann GA, Martin J, Teuscher F, and Schwerin M. 2000. Marker controlled inheritance of the polled locus in Simmental cattle, *Arch. Anim. Breed.*, 43, 207–212, <https://doi.org/10.5194/aab-43-207-2000>
- Caray D, des Roches ADB, Frouja S, Andanson S, and Veissier I. 2015. Hot-iron disbudding: stress responses and behavior of 1-and 4-week-old calves receiving anti-inflammatory analgesia without or with sedation using xylazine. *Lives Sci*, 179, pp.22-28.
- Carlson DF, Lancto CA, Zang B, Kim E-S, Walton M, Oldeschulte D, Seabury C, Sonstegard TS, Fahrenkrug SC. 2016. Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. *Nat Biotechnol*, 34;479–481.
- Chamberlain A. 2017. Identification of a Horned and Polled *Bos taurus* using a Gene Test. Degree of Bachelor of Agricultural Science, Lincoln University
- Chen SY, Liu LH, Fu MZ, Zhang GW, Yi J, Lai SJ, Wang W. 2017. Simultaneous introgression of three POLLED mutations into a synthetic breed of Chinese cattle. *PLOS ONE* 12, e0186862.
- CodonCode Corporation. 2024. www.codoncode.com. Erişim Tarihi: 22/12/2024



- Drögemüller C, Wöhlke A, Mömke S, Distl O. 2005. Fine mapping of the polled locus to a 1-Mb region on bovine chromosome 1q12. *Mamm Genome*. 16, 613–620. <https://doi.org/10.1007/s00335-005-0016-0>.
- Georges M, Drinkwater R, King T, Mishra A, Moore SS, Nielsen D, Sargeant LS, Sorensen A, Steele MR, Zhao X, Womack JE, Hetzel J. 1993. Microsatellite mapping of a gene affecting horn development in *Bos taurus*. *Nat Genet*, 4(2), 206-210. <https://doi.org/10.1038/ng0693-206>
- Götz K, Luntz B, Robeis J, Edel C, Emmerling R, Buitkamp J, Anzenberger H, Duda J. 2015. Polled Fleckvieh (Simmental) cattle - current state of the breeding program. *Lives Sci*, 179, 80–85.
- Grobler R, van Marle-Köster E, and Visser C. 2021. Challenges in selection and breeding of polled and scur phenotypes in beef cattle. *Lives Sci*, 247, p.104479.
- Kling-Eveillard F, Knierim U, Irrgang N, Gottardo F, Ricci R, Dockès AC. 2015. Attitudes of farmers towards cattle dehorning. *Lives Sci*, 179, 12-21.
- Kumar S, Stecher G, Suleski M, Sanderford M, Sharma S, and Tamura K. 2024. MEGA12: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution* 41:1-9
- Mariasegaram M, Harrison BE, Bolton JA, Tier B, Henshall JM, Barendse W, and Prayaga KC. 2012. Fine-mapping the POLL locus in B rahman cattle yields the diagnostic marker CSAFG29. *Anim Genet*, 43(6); 683-688.
- Medugorac I, Graf A, Grohs C, Rothhammer S, Zagdsuren Y, Gladyr E, Zinovieva N, Barbieri J, Seichter D, Russ I, and Eggen A. 2017. Whole-genome analysis of introgressive hybridization and characterization of the bovine legacy of Mongolian yaks. *Nat Genet*, 49(3); 470-475.
- Medugorac I, Seichter D, Graf A, Russ I, Blum H, Göpel KH, Rothhammer S, Förster M, and Krebs S. 2012. Bovine polledness—an autosomal dominant trait with allelic heterogeneity. *PloS one*, 7(6), p.e39477.
- Randhawa IA, Burns BM, McGowan MR, Porto-Neto LR, Hayes BJ, Ferretti R, Schutt KM, and Lyons RE. 2020. Optimized genetic testing for polledness in multiple breeds of cattle. *G3-Genes Genom Genet*, 10(2);539-544. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400866>
- Rothhammer S, Capitan A, Mullaart E, Seichter D, Russ I, Medugorac I. 2014. The 80-kb DNA duplication on BTA1 is the only remaining candidate mutation for the polled phenotype of Friesian origin. *Genet Sel*, 46:44. doi:10.1186/1297-9686-46-44
- OMIA, 2024, <https://www.omia.org/OMIA001965/9913/>, Erişim Tarihi: 22/12/2024
- Schmutz SM, Marquess FLS, Berryere TG, Moker JS. 1995. DNA marker-assisted selection of the polled condition in Charolais cattle. *Mamm Genome*, 6(10), 710713.
- Schuster F, Aldag P, Frenzel A, Hädeler K-G, Lucas-Hahn A, Niemann H, Petersen B. 2020. CRISPR/Cas12a mediated knock-in of the Polled Celtic variant to produce a polled genotype in dairy cattle. *Sci. Rep*, 10(1):13570.
- Seichter D, Russ I, Rothhammer S, Eder J, Förster M, & Medugorac I. 2012. SNP-based association mapping of the polled gene in divergent cattle breeds. *Anim Genet*, 43(5); 595-598.
- Spurlock DM, Stock ML, Coetzee JF. 2014. The impact of 3 strategies for incorporating polled genetics into a dairy cattle breeding program on the overall herd genetic merit. *Journal of Dairy Science*. 1;97(8):5265-74.
- UCSC, 2025. UCSC Genome Browser Genbank. https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=bosTau8&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr1%3A1909358%2D1909509&hgslid=2319655858_gACDQZ7bXRenODY1ySRj4OREVoc7 . Erişim tarihi: 03/01/2025.
- Utsunomiya YT, Torrecilha RBC, Milanese M, Paulan SdC, Utsunomiya ATH, Garcia JF. 2019. Hornless Nellore cattle (*Bos indicus*) carrying a novel 110 kbç duplication variant of the polled locus. *Anim Genet*, 50; 187-8.
- Veterinary Genetics Laboratory. 2025, <https://vgl.ucdavis.edu/test/polled-vs-horned> . Erişim tarihi:03/01/2025
- Wiedemar N, Tetens J, Jagannathan V, Menoud A, Neuenschwander S, Bruggmann R, et al. (2014) Independent Polled Mutations Leading to Complex Gene Expression Differences in Cattle. *PLoS ONE* 9(3): e93435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093435>
- Zoetis. 2025, <https://www2.zoetis.co.nz/products-solutions/genetics/beef/hornpoll> . Erişim tarihi: 03/01/2025.