



Türkiye’de yetiştirilen bazı sığır ırklarında *MBL-1* gen polimorfizminin araştırılması

Investigation of *MBL-1* gene polymorphism in some cattle breeds raised in Turkey

Esma Gamze AKSEL¹, Korhan ARSLAN¹, Fadime ÖZDEMİR¹, Bilal AKYÜZ¹

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, 38280, Kayseri

Sorumlu yazar (Corresponding author): E. G. Aksel, e-posta (e-mail): gamzeilgar@erciyes.edu.tr

Yazar(lar) e-posta (Author e-mail): korhanars@gmail.com, ozdemir.fdm@gmail.com, bakyuzvet@gmail.com

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 04 Eylül 2018
Düzeltilme tarihi 10 Aralık 2018
Kabul tarihi 11 Aralık 2018

Anahtar Kelimeler:

MBL-1
Sığır
PCR-RFLP
SNP

ÖZ

Çiftlik hayvanlarında son yıllarda hastalıklara karşı daha dirençli sürülerin oluşturulması için genetik yöntemlerin kullanılmasına yönelik ilgi giderek artmaktadır. Bu tür çalışmalarda immün sistemde önemli görevlerinden dolayı mannoz bağlayıcı lektin-1 (*MBL-1*) geni de incelenen genlerden biridir. Sunulan çalışmada araştırma materyali olarak Türkiye’de yetiştirilen yerli sığır ırklarından Zavot (n= 81, Z), Yerli Kara (n= 87, YK), Doğu Anadolu Kırmızısı (n= 72, DAK), Boz ırk (n= 54, BI), Güney Anadolu Kırmızısı (n= 44, GAK) ile Avrupa orijinli sığır ırklarından İsviçre Esmeri (n= 61, BS) ve Simental (n= 65, S) ırkı sığırlar kullanılmıştır. Çalışmada *MBL-1* geninin intron 1 (1252 G>A) ve ekzon 2 bölgelerinde (2534 G>A, 2569 T>C) bulunan toplam üç tek nükleotid polimorfizmi (SNP) yönünden incelenen sığır ırklarına ait örneklerin genotiplendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışma sonunda 1252 G>A kodlu SNP yönünden DAK ve S ırklarında (p<0.05); 2534G>A kodlu SNP yönünden YK ve BS ırklarında (p<0.001, p<0.01 sırasıyla) Hardy Weinberg (HWE) dengesinin bozulduğu görülmüştür. 2569 T>C kodlu SNP yönünden ise tüm ırkların HW dengesinde oldukları belirlenmiştir. Bu çalışma Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarında *MBL-1* geninin intron 1 (1252 G>A) ve ekzon 2 bölgelerinde (2534 G>A, 2569 T>C) bulunan SNP’lerin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışma sonunda bu SNP’ler ile önemli yetiştiricilik hastalıkları arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmaların planlanması gerektiği düşünülmüştür.

ARTICLE INFO

Received 04 September 2018
Received in revised form 10 December 2018
Accepted 11 December 2018

Keywords:

MBL-1
Cattle
PCR-RFLP
SNP

ABSTRACT

The concern in using genetic methods in forming resistant herds against diseases in farm animals has recently been increasing. Mannose-binding lectin-1 (*MBL-1*) gene is one of the genes searched in this kind of research because of this gene's important responsibilities in the immune system. In the presented research, Zavot (n= 81, Z), Anatolian Black (n= 87, AB), Eastern Anatolian Red (n= 72, EAR), Turkish Gray (n= 54, TG), Southern Anatolian Red (n= 44, SAR) which are the cattle breeds raised in Turkey, and Black Switzerland (n= 61, BS) and Simmental (n= 65, S) which are Europe originated cattle breeds were used as the research material. In the research, it was aimed at genotyping the samples of cattle searched in terms of total three single nucleotide polymorphism in the intron 1 (1252 G>A) and exon 2 (2534 G>A, 2569 T>C) regions of *MBL-1* gene. In the end of the study, it was found that Hardy Weinberg (HWE) equilibrium broke down in EAR and S breeds (p<0.05) in terms of 1252 G>A coded SNP; in NB and BS races (p<0.001 and p<0.01 respectively) in terms of 2534G>A coded SNP. It was determined that all breeds are in HWE in terms of 2569 T>C coded SNP. This research is the first research where SNPs in intron 1 (1252 G>A) and exon 2 (2534 G>A, 2569 T>C) regions of *MBL-1* gene in the cattle breeds raised in Turkey have been searched. At the end of the study, it was thought that the studies where the relationships between SNPs and important raising disease are searched should be planned.

1. Giriş

Çiftlik hayvanı türlerinde yapılan ıslah çalışmalarında yakın zamana kadar öncelik verim özelliklerine verilmişken, son yıllarda bireyin immün sisteminin rol oynadığı hastalıklara

direnç özelliklerinin iyileştirilmesi konusuna ilgi giderek artmaktadır (Mallard ve ark. 2015). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, seleksiyon ile çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde

önemli ekonomik kayıplara neden olan hastalıklara karşı dirençli, yüksek verimli ve bu sayede işletme karlılığını artırılabilir damızlıkların seçilebileceği bildirilmiştir (Thompson-Crispi ve ark. 2014). Sağlık özelliklerinin iyileştirilmesiyle hayvanlarda üreme ve büyümenin dahil olduğu bir çok önemli verim özelliklerinin de iyileştirilebileceği bildirilmektedir (Thompson-Crispi ve ark. 2012). Tüm hayvancılık alanlarında üretim maliyetlerinin düşürülmesi ve gerek hayvan sağlığı gerekse insan sağlığı yönünden önemli bir sorun olan antibiyotiğe dirençli patojenlerin oluşumunu azaltmak için antibiyotik kullanımının azaltılması ihtiyacı bir zorunluluk haline gelmiştir (Mallard ve ark. 2015). Bu nedenle çiftlik hayvanlarında sağlıkla ilgili iyileştirme çalışmalarında alternatif metotların uygulamaya konulmasına ihtiyaç vardır. Genetik yaklaşımların çiftlik hayvanlarında sağlıkla ilgili özelliklerin ıslahında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir (Mallard ve ark. 2015). Yapılan çalışmalar farklı çiftlik hayvanı türlerinde, patojen etkenlere kuvvetli immün yanıtla yüksek verim arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu göstermiştir (Mallard and Wilkie 2007; Aleri ve ark. 2015).

Ökaryotlarda enfeksiyon etmenlerine karşı oluşan immün yanıt, karmaşık olarak düzenlenmiş genetik mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkar. Memelilerde patojene karşı immün yanıtın ortaya çıkmasında 2000 ile 3000 genin rol oynadığı tahmin edilmektedir (Breuer ve ark. 2013). Bu genlerden biri, doğal bağışıklık sisteminde rol oynayan önemli bir akut faz proteini olan mannoz bağlayıcı lektin (MBL) proteinini kodlayan genidir (Thiel ve ark. 1997). Mannoz bağlayıcı lektin, geni bir mikroorganizma yelpazesini tanıyan ve doğal bağışıklıkta lektin-komplement yolağını aktive eden kollektin protein ailesinin bir üyesidir (Holmskov ve ark. 2003; Liu ve ark. 2011). Enfeksiyonun erken dönemlerinde makrofajlardan salınan MBL öncelikle mannoz ve N-asetilglukozamin kalıntıları olmak üzere patojenlerin hücre duvarlarında bulunan karbohidratlara bağlanmaktadır (Thiel ve ark. 1997; Schwaebler 2002; Delves ve ark. 2011). Mannozun yanı sıra çeşitli şeker gruplarına bağlanabilmesi nedeniyle MBL'nin pek çok gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler ile mayalar, viruslar ve parazitlere de bağlanabildiği bildirilmiştir (Janeway ve Medzhitov 2002). MBL'nin patojen ile ilişkili moleküler paternler (PAMP) olarak adlandırılan yapılara bağlandıktan sonra, MBL aracılı serin proteaz-1 (MASP-1) ve MBL aracılı serin proteaz-2 (MASP-2) adı verilen iki serin proteazı aktifleştirdiği, dolayısıyla tamamlayıcı (komplement) sistem aracılı öldürme ve/veya fagositoza yol açan, C1 ve antikor bağımsız tamamlayıcı sistemin aktivasyonunu teşvik ettiği bildirilmiştir (Delves ve ark. 2011). Çoğu memelide MBL1 ve MBL2 adlı iki ayrı gen tarafından kodlanan MBL'nin, MBL-A ve MBL-C olarak da adlandırıldığı, MBL eksikliğinin insan, fare, domuz, sığır ve diğer memeliler arasında birçok hastalık mekanizmasında rol oynadığına dair veriler olduğu bildirilmiştir (Turner ve Hamvas 2000). MBL eksikliğinde ciddi enfeksiyöz hastalıklar meydana geldiği bildirilmiştir (Turner 2004). MBL-A proteinini kodlayan *MBL-1* geni sığırlarda 28. kromozomda bulunurken (Gjerstorff ve ark. 2004), MBL-C proteinini kodlayan *MBL-2* geninin 26. kromozomda bulunduğu bildirilmiştir (Eggen ve ark. 2002).

Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin en önemli bileşenlerinden biri olan MBL, hastalık patogenezinde de önemli rol oynamaktadır (Super ve ark. 1989; Neth ve ark. 2000; Fraser ve ark. 2018). Lektin yolağı üzerinde bulunan genlerin içlerinde mastitisin de bulunduğu 16 hastalık yönden hastalığa ve sağlıklı sığırları inceledikleri çalışmalarında,

hastalığa yakalanma ile ilişkili 74 kısa nükleotid varyantın bulunduğunu bildirmişlerdir (Fraser ve ark. 2018). Sığır yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olan bulaşıcı hastalıklara karşı daha dirençli bireylerin seçilerek damızlıkta kullanılmasının düşük maliyetli ve sürdürülebilir bir uygulama olduğu bildirilmiştir (Prajapati ve ark. 2017). Bu amaçla hastalıklara direnç yönünden yapılacak seleksiyon çalışmalarında kullanılabilir aday genlerden birinin de *MBL* olduğu bildirilmiştir (Prajapati ve ark. 2017).

Süt sığırcılığında yaygın görülen maliyetli bir hastalık olan mastitis, süt veriminin ve kalitesinin azalması ile laktasyon periyodunun kısalması ve hatta damızlık hayvanın kesimine sebep olarak işletmelerde önemli ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır (Seegers ve ark. 2003). Ciddi ekonomik kayıplara sebep olan mastitis ile somatik hücre skoru (SCS) arasında ilişki vardır (Yuan ve ark. 2011). Düşük SCS'na sahip hayvanlarda mastitis görülme olasılığı yüksek SCS'na sahip olanlardan daha düşüktür (Yuan ve ark. 2011). Bu nedenle mastitise dirençli sürülerin elde edilmesinde düşük SCS'na sahip hayvanların erken yaşlarda seçilmesi önemlidir. Düşük SCS'na sahip hayvanların seçimde *MBL-1* geninin bir aday gen olabileceği bildirilmiştir (Yuan ve ark. 2011). Wang ve ark. (2011), Holştayn ırkı sığırlarda *MBL-1* geninin ekzon-2 bölgesinde bulunan 2651G>A kodlu SNP ile somatik hücre sayısı arasında istatistiksel olarak ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Liu ve ark. (2011), Çin'de yetiştirilen Holştayn'larda *MBL-1* geninin ekzon-2 bölgesinde bulunan 1330G> A kodlu SNP'nin SCS ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada ise Türkiye'de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarında hastalıklara direnç konusunda potansiyel bir aday gen olan *MBL-1* geninin, birinci intron ve ikinci ekzon bölgelerinde bulunan üç farklı SNP yönünden genotiplendirilmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmanın hayvan materyalini Türkiye'de yetişen yerli sığır ırklarından; Zavot (Z, n=81), Yerli Kara (YK, n=87), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK, n=72), Boz Irk (BI, n=54), Güney Anadolu Kırmızısı (GAK, n=44) ve Avrupa orijinli sığır ırklarından İsviçre Esmeri (BS, n=61) ve Simental (S, n=65) ırkına ait toplam 464 baş sığır oluşturmuştur.

Çalışmada kullanılan hayvanların Vena jugularis'lerinden vakumlu K₃EDTA'lı tüplere alınan kanlardan fenol- kloroform-izoamil alkol yöntemi ile genomik DNA'lar izole edilmiştir (Sambrook ve Russell 2001). Elde edilen DNA'lar kullanılarak yapılacak PCR işlemi, her SNP için reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde; 50 ng DNA, 1X buffer (KCl 500 mmol l⁻¹), 2.0 mmol l⁻¹ MgCl₂, 0.25 mmol l⁻¹ dNTP, and 0.5 U Taq DNA polimeraz ve Çizelge 1'de verilen primerler kullanılarak ayrı ayrı hazırlanmıştır. Her üç SNP için de PCR reaksiyonu; 95 °C'de, 5 dakika ön-denatürasyon sonrası, 95 °C'de 30 saniye, her bir primer için Çizelge 1'de (1252 G>A için 62.5 °C , 2534 G>A için 52.5 °C, 2569 T>C için 63.5 °C) belirtilen bağlanma sıcaklıklarında 30 saniye ve 72 °C'de 30 saniye olacak şekilde 35 döngü yapılmış ve son olarak 72 °C'de 7 dakika tutularak sonlandırılmıştır. *MBL-1* genine ait her üç SNP için elde edilen PCR ürünleri % 1.5'lik jel elektroforezi ile tespit edildikten sonra (elde edilmesi beklenen PCR ürünlerine ait ürün büyüklükleri Çizelge 1'de gösterilmiştir), 1252 G>A, 2534 G>A, 2569 T>C SNP bölgeleri için Çizelge 1'de verilen kesim

Çizelge 1. PCR-RFLP yöntemi ile genotiplendirilen SNP'lerin primer bağlanma sıcaklığı, bulunduğu bölge, kesim enzimi ve genotipleri.

Table 1. Primer binding temperature of genotyped SNPs by PCR-RFLP method, region, restriction enzyme and genotypes.

SNP	Primer Sekansları	TA (°C)	Bölge	RE	Genotip /bç	Kaynak
1252 G>A	F: ACCTTGGGTCACCTGCAACAG R: GGTAGTTTAGGCAGCCCTAAAGC	62.5	Int-1	<i>AvaII</i>	AA: 226 GA: 226, 193, 33 GG: 193,33	Yuan ve ark. (2013)
2534 G>A	F: GTATCCTTCTCAAATACAAAAGAC R: CCCCTGTCTCTATGCTAGAC	52.5	Ex-2	<i>MaeII</i>	AA: 194 GA: 217, 194, 23 GG: 194, 23	Yuan ve ark. (2013)
2569 T>C	F: GTGGTGGCAAATGTTGGCTAAAC R: TGGCTCTCCCTTTTCTCCCTT	63.5	Ex-2	<i>HaeIII</i>	TT:255 TC:255, 178, 77 CC:178, 77	Yuan ve ark. (2013)

TA: Bağlanma sıcaklığı; bç: PCR ürününün büyüklüğü; RE: Kesim enzimi; Int: İntron; Ex: Ekzon.

enzimleri ile kesilerek bireylerin genotipleri belirlenmiştir. Enzim kesim işlemleri, her bir PCR ürünü için 1 U kesim enzimi kullanılarak *AvaII* enzimi için: 37 °C'de 4 saat tutulduktan sonra enzim inaktivasyonu 65 °C'de 20 dakika tutularak; *MaeII* enzimi için: 65 °C'de 2 saat tutulduktan sonra enzim inaktivasyonu 80 °C'de 20 dakika tutularak; *HaeIII* enzimi için: 37 °C'de 4 saat tutulduktan sonra enzim inaktivasyonu 80 °C'de 20 dakika tutularak yapılmıştır. Kesim ürünleri % 2'lik jel elektroforezde görüntülenerek bireylerin genotipleri belirlenmiştir. Kesim uzunluklarına ait bilgiler Çizelge 1'de belirtilmiştir.

Genonipik frekanslar ve allel yapıları FSTAT 2.9.3.2 filogenetik analiz programı ile belirlenmiştir (Goudet 1995). *MBLI* SNP'leri yönünden popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıklarının belirlenmesi için de Ki-kare (χ^2) analizi yapılmıştır (OEGE 2008).

3. Bulgular ve Tartışma

PCR işlemi sonunda, 1252G>A kodlu SNP için 226 bç uzunluğunda bir PCR ürünü elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin *AvaII* restriksiyon enzim ile kesilmiş ve bu SNP yönünden incelenen sığır ırklarında üç genotip (AA, AG ve GG) bulunduğu görülmüştür. AA genotipli bireylerde 226 bç büyüklüğünde tek bant, GG genotipli bireylerde 193 ve 33 bç büyüklüğünde iki bant ve GA genotipli bireylerde ise 226, 193 ve 33 bç'de üç bantın görülmesi beklenmiştir (Şekil 1). Ancak yapılan %2'lik agaroz jel elektroforezinde 33 bp küçük olduğu için gözlenmemiş olmasına rağmen 226 ve 193 bç uzunluğundaki bantların birlikte veya tek olmasının genotiplerin belirlenmesi için yeterli olduğu görülmüştür.

2534 G>A kodlu SNP için yapılan PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen 217 bç uzunluğunda ürünler *MaeII* restriksiyon enzim kesilmiştir. Kesim işlemi sonunda incelenen örneklerde AA (217 bç uzunluğunda tek bant), GG (194 ve 23 bç büyüklüğünde iki bant) ve GA (217, 194 ve 23 bç'de üç bant) olarak adlandırılan üç genotip belirlenmiştir (Şekil 2). Ancak 23 bç'lik bant çok küçük olduğu için jel elektroforezinde gözlenmemiştir.

2569 T>C kodlu SNP için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 255 bç'lik ürünler *HaeIII* restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Enzim kesimi sonucu incelenen örneklerde TT (255 bç büyüklüğünde tek bant), CC (178 ve 77 bç büyüklüğünde iki bant) ve TC genotipi (255, 178 ve 77 bç'de üç bant) olarak adlandırılan üç genotip görülmüştür (Şekil 3).

Enzim kesim işlemleri sonrası elde edilen sonuçlara göre; 1252G>A ve 2534 G>A kodlu SNP'lerde G allel frekansı A allele göre tüm ırklarda yüksek bulunmuştur (Çizelge 2). 2569 T>C kodlu SNP'de ise T allel frekansı Z (0.53), YK (0.51) ve GAK ırkında (0.65) yüksek bulunmuşken; DAK (0.58), BI

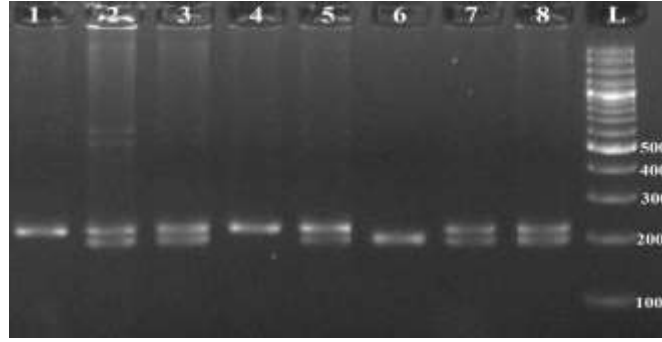
(0.58), BS (0.55) ve S (0.63) ırklarında C allel frekansı yüksek bulunmuştur (Çizelge 2).

Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; 1252 G>A SNP'si yönünden DAK ($p<0.05$) ve S ($p<0.05$) ırklarının; 2534 G>A SNP'si yönünden YK ($p<0.001$) ve BS ($p<0.01$) sığır ırklarının Hardy Weinberg (HWE) dengesinden saptıkları, 2569 T>C SNP'si yönünden tüm ırkların HW dengesinde oldukları belirlenmiştir (Çizelge 3).

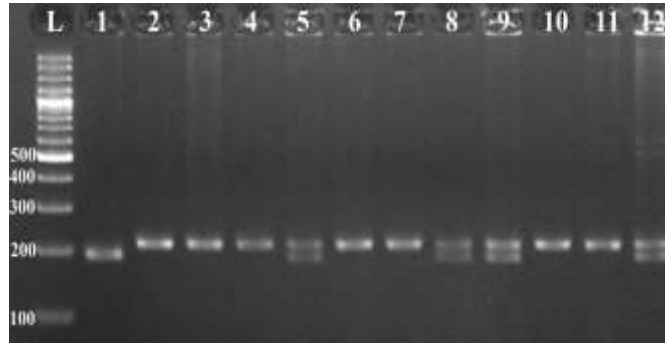
Türkiye'de yetiştirilen yedi sığır ırkı *MBL-1* geninin intron ve ekzonlarında bulunan üç farklı SNP yönünden genotiplendirildiği bu çalışmada, daha önce Yuan ve ark. (2013) tarafından SCS ile ilişkili olduğu bildirilen 2534G>A kodlu SNP'nin GG genotip ve G allel frekansının Zavot ırkında 0.59, Yerli Karada 0.56, Doğu Anadolu Kırmızısı da 0.65, Boz ırkta 0.71, Güney Anadolu Kırmızısı ırkında 0.86, Montofonda 0.67, Simentalde ise 0.48 bulunmuştur. Türkiye yerli sığır ırklarından sütçülük özelliği ile öne çıkan GAK ırkında G allel frekansının en yüksek (0.86), Simental ırkında ise en düşük (0.48) olduğu görülmüştür.

Çin'de yetiştirilen Holştayn, Simental ve yerli Sanhe ırkı sığırların bu çalışmada seçilen SNP'ler yönünden genotiplerinin belirlendiği bir çalışmada incelenen sığır ırklarının üç SNP yönünden HW dengesinde olmadıkları bildirilmiştir (Yuan ve ark. 2013). Buna karşılık Türkiye'de yetiştirilen beş yerli ve iki Avrupa orijinli sığır ırkının *MBL-1* geninde bulunan üç SNP yönünden genotiplemesinin yapıldığı bu çalışmada, incelenen sığır ırklarından Z, BI ve GAK'ın her üç SNP yönünden de HW dengesinde olduğu belirlenmişken, DAK ve S ırklarının 1252 G>A kodlu SNP yönünden, YK ve BS ırklarının ise 2534 G>A kodlu SNP yönünden HW dengesinden saptığı gözlenmiştir. Bu sonuç ise gerek yerli sığır ırklarında gerekse BS ve S ırklarında bu üç SNP yönünden genetik varyasyonun devam ettiğini göstermektedir.

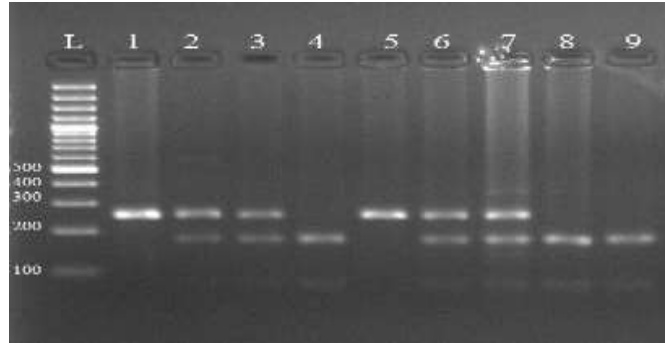
Çin'de yetiştirilen Sanhe, Holştayn ve Simental ırkı sığırlarda *MBL-1* geninin ekzon-2 bölgesinde bulunan 2534G>A kodlu SNP ile SHS arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada, GG genotipli bireylerde SCS'nun GA ve AA genotipine sahip hayvanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir (Yuan ve ark. 2013). Türkiye'de yetiştirilen yedi (üçü kültür ırkı, dördü yerli ırk) sığır ırkından ülkemizde özellikle süt verimi amacıyla yetiştiriciliği gittikçe yaygınlaşan Simental ırkında en 2534G>A kodlu SNP yönünden GG genotip frekansının diğer ırklara göre oldukça düşük olduğu (0.18) görülmüştür (Çizelge 2). Simental ırkında GG genotip frekansının artırılmasının ülkemizde mastitis hastalığının görülme sıklığının azaltılmasında katkı sağlayabileceği düşünülebilir.



Şekil 1. *AvaII* enzimi ile kesilen 1252 G>A SNP'sine ait jel-elektroforez görüntüsü. L: 100 bç'lik DNA merdiveni; AA: 1, 4; GA: 2, 3, 5, 7, 8; GG: 6.
Figure 1. Gel-electrophoresis image of 1252 G>A SNP which restricted with *AvaII* enzyme. L: 100 bp DNA strand; AA 1, 4; GA: 2, 3, 5, 7, 8; GG: 6.



Şekil 2. *MaeII* enzimi ile kesilen 2534 G>A SNP'sine ait jel-elektroforez görüntüsü. L: 100 bç'lik DNA merdiveni; AA: 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11; GA: 4, 8, 9, 12; GG: 1.
Figure 2. Gel-electrophoresis image of 2534 G>A SNP which restricted with *MaeII* enzyme. L: 100 bp DNA strand; AA: 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11; GA: 4, 8, 9, 12; GG: 1.



Şekil 3. *HaeIII* kesim enzimi ile kesilen 2569 T>C SNP'ine ait jel-elektroforez görüntüsü. L: 100 bç'lik DNA merdiveni; TT: 1, 5; TC: 2, 3, 6, 7; CC: 4, 8, 9.
Figure 3. Gel-electrophoresis image of 2569 T>C SNP which restricted with *HaeIII* enzyme. L: 100 bp DNA strand; TT: 1, 5; TC: 2, 3, 6, 7; CC: 4, 8, 9.

Çizelge 2. Sığır ırklarına göre üç SNP'ye ait genotip ve allelik frekansları.

Table 2. Genotype and allelic frequencies of three SNPs according to cattle breeds.

Irk	n	1252 G>A Genotype Frequency (n)			Allel Frequency		2534 G>A Genotype Frequency			Allel Frequency		2569 T>C Genotype Frequency			Allel Frequency	
		GG	GA	AA	G	A	GG	GA	AA	G	A	TT	TC	CC	T	C
Z	81	0.80 (65)	0.19 (15)	0.01 (1)	0.89	0.11	0.37 (30)	0.43 (35)	0.20 (16)	0.59	0.41	0.23 (19)	0.58 (47)	0.19 (15)	0.52	0.48
YK	87	0.77 (67)	0.20 (17)	0.03 (3)	0.87	0.13	0.22 (19)	0.68 (59)	0.10 (9)	0.56	0.44	0.27 (23)	0.49 (43)	0.24 (21)	0.51	0.49
DAK	72	0.74 (53)	0.19 (14)	0.07 (5)	0.83	0.17	0.46 (33)	0.39 (28)	0.15 (11)	0.65	0.35	0.22 (16)	0.40 (29)	0.38 (27)	0.42	0.58
BI	54	0.81 (44)	0.15 (8)	0.04 (2)	0.89	0.11	0.57 (31)	0.28 (15)	0.15 (8)	0.71	0.29	0.17 (9)	0.50 (27)	0.33 (18)	0.42	0.58
GAK	44	0.82 (36)	0.16 (7)	0.02 (1)	0.9	0.1	0.75 (33)	0.23 (10)	0.02 (1)	0.86	0.14	0.41 (18)	0.48 (21)	0.11 (5)	0.65	0.35
BS	61	0.82 (50)	0.18 (11)	0.00 (0)	0.91	0.09	0.52 (32)	0.30 (18)	0.18 (11)	0.67	0.33	0.20 (12)	0.51 (31)	0.29 (18)	0.45	0.55
S	65	0.76 (49)	0.18 (12)	0.06 (4)	0.85	0.15	0.18 (12)	0.59 (38)	0.23 (15)	0.48	0.52	0.14 (9)	0.46 (30)	0.40 (26)	0.37	0.63

Çizelge 3. Sığır ırklarına göre χ^2 ve P değerleri.

Table 3. χ^2 values according to Cattle breeds and P values.

İrk	n	χ^2		χ^2		χ^2	
		1252 G>A	P	2534 G>A	P	2569 T>C	P
Z	81	0.02	p>0.05	0.097	p>0.05	2.16	p>0.05
YK	87	1.91	p>0.05	12.20*	p<0.001	0.01	p>0.05
DAK	72	6.48*	p<0.05	1.45	p>0.05	2.21	p>0.05
BI	54	3.38	p>0.05	5.58	p<0.05	0.04	p>0.05
GAK	44	0.79	p>0.05	0.05	p>0.05	0.09	p>0.05
BS	61	0.60	p>0.05	6.66*	p<0.01	0.04	p>0.05
S	65	5.50*	p<0.05	1.92	p>0.05	0.01	p>0.05

χ^2 : Ki-kare; P: P değeri; *: istatistiksel olarak anlamlı.

Bu çalışmada kullanılan SNP'ler yönünden farklı sığır ırklarının genotiplerinin yapıldığı çalışma sayısı az olmasına rağmen Ensembl veri tabanında sığır *MBL-1* geninde 1028 SNP bulunmaktadır (Anonim 1). Yapılan literatür taramasında bu SNP'lerden bazılarının başta SCS ve mastitis olmak üzere sığırlarda ki bazı hastalıklara dirençle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Phatsara ve ark. 2007; Wang ve ark. 2011; Yuan ve ark. 2013; Kamaldeep ve ark. 2017; Fraser ve ark. 2018). Dolayısıyla *MBL-1* geninin sığırlarda hastalıklarda direnç konusunda markır olma potansiyeli bulunmaktadır.

4. Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen veriler ile yerli ve Avrupa orijinli sığır ırklarında *MBL-1* geninde bulunan ve genotiplerini yapılan SNP'ler ile özellikle mastitise yakalanma oranı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmüştür. Bu sayede mastitis gibi önemli ekonomik kayba neden olan hastalık yönünden dirençli sürüler oluşturulabilecektir. Bunun yanında diğer enfeksiyöz hastalıkların fenotipleri ile *MBL-1* geni ifade düzeyleri arasında planlanacak çalışmaların konakçı ile patojen arasındaki bağışıklık mekanizmasının anlaşılması açısından araştırmacılara yol gösterici nitelikte olabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Aleri JW, Hine BC, Pyman MF, Mansell PD, Wales WJ, Mallard BA, Fisher AD (2015) Immune function as a predictor of dairy cattle health and disease. In: Australian Cattle and Sheep Veterinarians Conference. Hobart, Australia.
- Anonim 1 (2018) https://www.ensembl.org/Bos_taurus/Location/Variant/Table?db=core;g=ENSBTAG00000023032;r=28:35840849-35854765. Erişim 07 Aralık 2018.
- Breuer K, Foroushani AK, Laird MR, Chen C, Sribnaia A, Lo R, Winsor GL, Hancock RE, Brinkman FS, Lynn DJ (2013) InnateDB: Systems biology of innate immunity and beyond. *Nucleic Acid Research* 41: 1228-1233.
- Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM (2011) *Roitt's essential immunology*. 7th Edition, Wiley-Blackwell, UK.
- Eggen Å, Ferretti L, Farr CJ, Gautier M, Amati G, Williams JL, Ball G, Caramorr T, Critcher R, Costa S, Hextall P, Hills D, Jeulin A, Kiguwa SL, Ross O, Smith AL, Saunier K, Urquhart B, Waddington D (2002) A bovine whole-genome radiation hybrid panel and outline map. *Mammalian Genome* 13(8): 469-474.
- Fraser RS, Lumsden JS, Lillie BN (2018) Identification of polymorphisms in the bovine collagenous lectins and their association with infectious diseases in cattle. *Immunogenetics* 70(8): 533-543.
- Gjerstorff M, Hansen S, Jensen B, Dueholm B, Horn P, Bendixen C, Holmskov U (2004) The genes encoding bovine SP-A, SP-D, MBL-A, conglutinin, CL-43 and CL-46 form a distinct collectin

- locus on Bos taurus chromosome 28 (BTA28) at position q.1.8-1.9. *Animal Genetics* 35: 333-337.
- Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. *Journal of Heredity* 86(2): 485-486.
- Holmskov U, Thiel S, Jensenius JC (2003) Collectins and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Annual Review of Immunology* 21: 547-578.
- Janeway CA, Medzhitov R (2002) Innate Immune Recognition. *Annual Review of Immunology* 20: 197-216.
- Kamaldeep, Magotra A, Pander BL, Malik A, Garg AR, Dalal DS, Malik BS (2017) Association of G.2686T>C mutation of *MBL1* gene with reproduction traits in Sahiwal cattle. *International Journal of Agricultural Science Research* 7: 159-164.
- Liu J, Ju Z, Li Q, Huang J, Li R, Li J, Ma L, Zhong J, Wang C (2011) Mannose-binding lectin 1 haplotypes influence serum MBL-A concentration, complement activity, and milk production traits in Chinese Holstein cattle. *Immunogenetics* 63: 727-742.
- Mallard BA, Wilkie BN (2007) Phenotypic, genetic and epigenetic variation of immune response and disease resistance traits of pigs. *Advances in Pork Production* 18: 139-146.
- Mallard BA, Emam M, Paibomesai M, Thompson-Crispi K, Wagter-Lesperance L (2015) Genetic selection of cattle for improved immunity and health. *Japanese Journal of Veterinary Research* 63(1): 37-44.
- Neth O, Jack DL, Dodds AW, Holzel H, Klein NJ, Turner MW (2000) Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infection and Immunity* 68: 688-693.
- OEGE (2008) Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology studies. <http://www.oege.org/software/hardy-weinberg.html>. Erişim 05 Aralık 2018.
- Phatsara C, Jennen DGJ, Ponsuksili S, Murani E, Tesfaye D, Schellander K, Wimmers K (2007) Molecular genetic analysis of porcine mannose-binding lectin genes, MBL1 and MBL2, and their association with complement activity. *International Journal of Immunogenetics* 34: 55-63.
- Prajapati BM, Gupta JP, Pandey DP, Parmar GA, Chaudhari JD (2017) Molecular markers for resistance against infectious diseases of economic importance. *Veterinary World* 10: 112-120.
- Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schwaeble W (2002) The Mannan-Binding Lectin-Associated Serine Proteases (MASPs) and MAP19: Four Components of the Lectin Pathway Activation Complex Encoded by Two Genes. *Immunobiology* 205: 455-466.
- Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F (2003) Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research* 34: 475-491.
- Super M, Lu J, Thiel S, Levinsky RT, Turner MW (1989) Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* 334: 1236-1239.

- Thiel S, Vorup-Jensen T, Stover CM, Schwaeble W, Laursen SB, Poulsen K, Willis AC, Eggleton P, Hansen S, Holmskov U, Reid KBM, Jensenius JC (1997) A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature* 386: 506-510.
- Thompson-Crispi KA, Hine B, Quinton M, Miglior F, Mallard BA (2012) Short communication: Association of disease incidence and adaptive immune response in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95: 3888-3893.
- Thompson-Crispi KA, Atalla H, Miglior F, Mallard BA (2014) Bovine mastitis: *Frontiers in immunogenetics*. *Frontiers in Immunology* 5: 493.
- Turner MW, Hamvas RM (2000) Mannose-binding lectin: Structure, function, genetics and disease associations. *Reviews in Immunogenetics* 2(3): 305-22.
- Turner MW (2004) The role of mannose-binding lectin in health and disease. *The Netherland Journal of Medicine* 62: 4-9.
- Wang C, Liu M, Li Q, Ju Z, Huang J, Li J, Wang H, Zhong J (2011) Three novel single-nucleotide polymorphisms of MBL1 gene in Chinese native cattle and their associations with milk performance traits. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 139: 229-236.
- Yuan ZR, Li J, Liu L, Zhang LP, Zhang LM, Chen C, Chen XJ, Gao X, Li JY, Chen JB, Gao HJ, Xu SZ (2011) Single nucleotide polymorphism of CACNA2D1 gene and its association with milk somatic cell score in cattle. *Molecular Biology Reports* 38: 5179-5183.
- Yuan ZR, Li J, Li J, Gao X, Xu S (2013) SNPs identification and its correlation analysis with milk somatic cell score in bovine MBL1 gene. *Molecular Biology Reports* 40: 7-12.