

Et Sığırcılığında Moleküler Genetik Yaklaşımlar¹

Cengiz Elmacı*, Yasemin Öner

Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 16059, Bursa

*e-posta: elmaci@uludag.edu.tr; Tel: +90 (224) 294 15 54; Fax: +90 (224) 442 81 52

Özet

Son yıllarda çiftlik hayvanlarında ekonomik olarak önemli özellikleri belirleyen genlerin tanımlanmalarına yönelik olarak birçok çalışma yapılmıştır. Sığır genomuna yönelik moleküler genetik çalışmalar 19 yüzyılın başlarında başlamıştır. Bu makalede et sığırcılığında, gen markörleri gibi kullanım alanı olan bazı moleküler genetik çalışmalar ele alınmıştır.

Anahtar sözcükler: Moleküler genetik, gen markörleri, et sığırcılığı

Molecular Techniques Approach in Beef Cattle

Abstract

In recent years a numbers of studies have been devoted towards identifying genes underlying economically important traits in farm animals. Extensive molecular genetic studies of cattle genome started in the early nineteenth century. In this paper some molecular genetics studies such as gene marker using in beef cattle industry were discussed.

Key words: Molecular genetics, gene marker, beef cattle

Giriş

Son yıllarda özellikle moleküler genetik alanında, gelişen teknolojilere paralel olarak, moleküler düzeyde daha ayrıntılı araştırmalar yapabilme fırsatı sağlayan özgün yöntemler geliştirilmiş ve bu yöntemler pratik olarak uygulanabilir hale gelmiştir. Bu gelişmeler çeşitli canlı türlerinde fizyolojik olaylar gibi oldukça karmaşık birçok özelliğin kalıtımına ilişkin gen düzeyinde bilgilerin elde edilmesine de olanak sağlamıştır. Bu olanaklar genetik biliminde ve bununla bağlantılı olarak hayvancılıkta oldukça geniş ve yeni çalışma alanlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu bağlamda moleküler genetik yöntemlerde sağlanan gelişmeler karmaşık ökaryotik genomların yapısı ve fonksiyonlarının belirlenmesine yönelik oldukça önemli bilgilerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu konuda yapılan çalışmaların özellikle insanlarda ve farelerde yoğunlaştığı dikkati çekmektedir. Moleküler açıdan bu iki tür karşılaştırıldığında (memeli genomlarının kromozom sayıları ve genom organizasyonları bakımından farklılıklar göstermelerine karşın), moleküler düzeyde gen dizilişleri bakımından büyük benzerlikler gösterdikleri ortaya konulmuştur (Vaiman, 1999). İnsanları ve fareleri konu alan

moleküler genetik çalışmalar genellikle çeşitli hastalıkların daha iyi anlaşılmasına ve tanımlanmalarına yönelik olurken, evcil hayvanlarda yapılan çalışmaların daha çok ekonomik olarak önemli çeşitli özellikler ya da bunlarla ilgili olduğu düşünülen diğer genler üzerinde yoğunlaştığı gözlenmektedir. Bu nedenle gerek sığırlarda gerekse diğer çiftlik hayvanları türlerinde, ekonomik olarak önemli olan lokusların belirlenmelerine ve hayvanların bu özellikleri bakımından genotiplerinin analizine olanak sağlayacak özgün moleküler yöntemlerin geliştirilmesi araştırmacıların önemli hedeflerden biri haline gelmiştir.

Sığırlarda genom analizlerine yönelik yoğun çalışmalar 19.yy'ın başlarında başlamış ve 1990'lı yıllarda da BovMap olarak bilinen Avrupa Sığır Genom Haritası projesi başlatılmıştır. Projenin başlatılmasından günümüze kadar sığır genomunun anlaşılmasına yönelik olarak birçok önemli gelişmeler sağlanmıştır. Özellikle kantitatif özelliklerin belirlenmesinde kritik rol oynayan genlerin tanımlanmalarına yardımcı olan markör genom haritaları hayvan ıslahı çalışmalarının daha etkin bir biçimde yapılmasına olanak sağlayan önemli araçlar haline gelmiştir (Switonski, 2002). Böylece, bazı kantitatif özellik lokuslarının (QTL) ya da bunlarla ilgili olan genetik markör lokuslarının moleküler olarak araştırılabilmesi hayvanların damızlık değerlerinin tahmin edilmesinde daha geniş ve objektif veriler sağlayacaktır. Bu gibi genetik markörlerin Markör Destekli Seleksiyon (MAS) programlarında

¹ Bu makale 27.06.2005 tarihinde 19 Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde (Samsun) düzenlenen *1.Tarımsal Moleküler Genetik Çalıştayı*'nda çağrılı tebliğ olarak sunulmuştur.

kullanılabilmesi olanağı önemli bir avantaj yaratmaktadır. Bu makalede et sığırcılığında moleküler genetik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalardan biri olan gen markörleri üzerinde kısaca durulacaktır.

Gen Markörleri

Gen markörleri **bağlı gen markörleri** ve **direkt gen markörleri** olmak üzere iki şekilde incelenebilir. **Bağlı gen markörleri**, aynı kromozom üzerinde bir ya da daha fazla genin komşu olarak bulunmasından (yani bağlantıdan) kaynaklanmaktadır. Bu durumda genler arasındaki uzaklık genellikle 30 cM'a kadardır. Bu gibi markörler genellikle gen haritalamalarında yaygın olarak kullanılmakta buna karşılık, et sığırcılığı endüstrisinde pek fazla kullanılmamaktadır (Hetzl, 2004). Et sığırcılığında daha yaygın kullanım alanı bulan **direkt markörler** ise bir gen bölgesi içindeki (coding ve/veya non-coding bölge) DNA sırasındaki varyantlar olarak tanımlanmaktadır (Hetzl, 2004).

Sürü içinde istenen genlerin frekansının artırmak için yapılan seleksiyona dayalı yetiştirme programlarında kullanılabilen gen markörleri, özellikle doğru bir biçimde ölçülmesi zor ya da görece pahalı olan, yaşamın daha sonraki dönemlerinde veya sadece eşeyin birinde ortaya çıkan özellikler bakımından oldukça yararlıdır. Bu gibi özelliklere büyüme etkinliği, hastalıklara direnç, karkas ve et kalitesi ile üreme performansı örnek olarak verilebilir.

Leptin(Lep)

Leptin adipoz doku tarafından salgılanan ve yem değerlendirme, metabolizma ve üremenin denetiminde önemli rol oynayan bir hormondur. Pomp ve ark. (1997) ile Wilkins ve Davey (1997) yaptıkları çalışmalarda leptin geninin polimorfik olduğunu göstermişlerdir. Pomp ve ark. (1997), 1820 bp'lik olan leptin genine ilişkin PCR ürünlerini *Sau3AI* restriksiyon enzimi kullanarak fragmentlere ayırmıştır. Zwierzchowski ve ark. (2001), farklı etçi sığır ırkları ile yaptıkları çalışmada leptin genindeki polimorfizm ile yem tüketimi ve yemden yararlanma arasında bir ilişkinin olduğunu ve bazı karkas özelliklerinin genotipik farklılıktan etkilendiğini göstermiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar AA genotipli (A alleli 3 restriksiyon fragmenti meydana getirmektedir) boğaların daha yüksek yem tüketimine sahip olduğunu, AB (B alleli 4 fragment meydana getirir) genotiplilerin ise parçalanmış karkastan seçilen örneklerde daha fazla yağsız et ürettiklerini ortaya çıkarmıştır. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda leptin geninin karkas özellikleri ve yem tüketimi için markör gen olarak

kullanılabileceğini ifade etmektedirler. Benzer bir şekilde Oprzadek ve ark. (2003) Siyah-Alaca ırkıyla yaptıkları çalışmada karkas özellikleri ile polimorfik leptin geni varyantları arasında önemli ilişkiler bulunduğunu bildirmişlerdir. Hale ve ark. (1998), tarafından Angus sığır ırkı ile yapılan bir başka çalışmada, leptin geninin karkas özelliği için markör olarak kullanılmasının yararlı olabileceği öne sürülmektedir (Hale ve ark. 1998).

Insulin-like growth factor-I (IGF-I)

Etçi sığırlarda IGF-I geni içinde verim özellikleri ile ilişkili olan iki polimorfik sistem belirlenmiştir. Moody ve ark. (1996) Hereford sığırlarında, promotör bölgedeki (CA)_n mikrosatelit polimorfizmi ile doğum ağırlığı ve doğumdan bir yaşına kadar geçen sürede sağlanan canlı ağırlık artışı arasında bir ilişki saptamıştır. Ancak, Ge ve ark. (2001) Hereford sığırlarında gözlenen bu tip polimorfizmin Angus sığırlarında bulunmadığını bildirmektedir. Bununla birlikte Ge ve ark. (2001), promotör bölgede bir başka mutasyon belirlemiş (T→C transitionu) ve mutasyon sonucu meydana gelen BB genotipinin süttan kesimi takiben ilk 20 gündeki yüksek canlı ağırlık artışı ile ilişkili olduklarını göstermişlerdir.

Growth hormone receptor gene (Ghr)

Ghr geni büyüme hormonu aktivitesinde oldukça önemli role sahiptir. Angus sığırlarında Ghr geninin promotör bölgesindeki bir mikrosatelit polimorfizmi (TG kısa tandem tekrarlar) tanımlanmıştır (Hale ve ark. 2000). *Bos indicus*'larda kısa allel (ardışık 12 TG sırası) olarak bilinen bu sıralar yaygın iken, *Bos taurus* sığırlarında ise daha uzun alleller (16–20 tekrar) yaygındır. Uzun tekrarlar bakımından homozigot genotipli Angus öküzlerinin karşılaştırılması ile elde edilen sonuçlar bu genotipin süttan kesim ağırlığı ve karkas ağırlığına önemli etkileri olduğunu göstermiştir (Hale ve ark. 2000). Araştırmacılar bu polimorfizmin markör destekli seleksiyon programlarında kullanım potansiyeli bulunduğunu da bildirmektedirler.

Pituitary-specific transcription factor (Pit-1)

Memeli organizmalarda büyüme hormonu geninin ekspresyonundan sorumlu olan *Pit-1* geninin (Renaville ve ark. 1997) sığırların 1 numaralı kromozomu üzerinde yer aldığı ve *HinfI* enzimi kullanılarak da polimorfik varyantlarının saptanabileceği belirlenmiştir (Moddy ve ark., 1995). Renaville ve ark. (1997) İtalyan Holştayn-Frisian boğaları ile yaptıkları çalışmada söz konusu polimorfik varyantlarda, A allelinin süt ve protein

verimi, vücut derinliği, kalça dolgunluğu ve arka bacakların yapısı üzerine pozitif etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Oprzadek ve ark. (2003) Siyah-Alaca ırkıyla yaptıkları araştırmada karkas özelliklerine *Pit-1* genotiplerinin etkileri olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte etçi sığırlarının boğalarında *Pit-1* geni ve et verimi özellikleri arasında (Di Stasio ve ark. 2002) ve Angus sığırlarında da gelişme ve karkas özellikleri arasında (Zhao ve ark. 2004) herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Ticari Olarak Kullanılan Bazı Gen Markörleri

Günümüzde bazı firmalar tarafından geliştirilmiş et sığırcılığına yönelik az da olsa bazı gen markörleri söz konusudur. Örneğin, et sığırcılığında et kalitesini etkileyen önemli özellikler arasında sayılan etin mermerleşmiş görüntüsü (Marbling, kaslar arasında yağ biriktirme özelliği) ve etin gevrekliği (tenderness) gibi özellikleri için geliştirilmiş ve hâlihazırda kullanılan ticari gen markörleri bulunmaktadır (Hetzl, 2004).

Etin marbling özelliğinin belirlenmesi amacıyla ticari olarak kullanılan iki direkt gen markörü bulunmaktadır. Bunlardan birincisi **Genetic Solution** adlı şirket tarafından önerilen ve 3-4 yıldır kullanılan bir markördür. "**GeneSTAR**[®] marbling" testi olarak adlandırılan bu test Thyroglobulin genindeki polimorfizm temelinde geliştirilmiştir. Bu test verim özellikleri için kullanılan ilk ticari markör olma özelliğine sahiptir. Yine aynı özellik için kullanım potansiyeli olan bir diğer direkt gen markörü ise **Quantum Genetics** şirketi tarafından geliştirilmiş olup **Leptin** genindeki polimorfizmi esas almaktadır (Hetzl, 2004; Anonim, 2005). İkinci direkt gen markör testi, etin gevrek oluş (Tenderness) özelliği için **Genetic Solution** adlı şirket tarafından geliştirilmiştir. "**GeneSTAR** tenderness" testi sığırlarda calpastatin genin (Calpastatin ölümünden sonraki süre içinde etin normal gevrekliğini engelleyen bir enzimdir) varyantlarını temel alan bir DNA testidir. Bu test genin iki farklı formunun ortaya çıkarılmasını sağlar; bunlardan birincisi etin gevrekliğinin arttırır iken diğeri de etin daha sert oluşunu sağlamaktadır (Hetzl, 2004; Anonim, 2005).

Sonuç

Gen markörleri gibi moleküler genetik yaklaşımların özellikle ekonomik olarak önemli özellikler için önümüzdeki dönemlerde et sığırcılığında giderek önem kazanan uygulamalar haline geleceği kuşkusuzdur. Bu konuda çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar gerek morfolojik, gerekse çeşitli verim ya da hastalıklarla

ilgili özelliklerle ilişkili olan çeşitli genler ortaya çıkarmaktadırlar. Sığırlarda et kalitesini arttırmaya yönelik çalışmalarda et kalitesini doğrudan ya da dolaylı olarak ilgilendiren genler için moleküler markör arama ve geliştirme çalışmalarının son derece yararlı araştırmalar olduğunu açıktır. Dolayısıyla, bu gibi moleküler genetik çalışmaların et sığırcılığında özellikle etin kalitesine yönelik bazı özelliklerin ıslahı açısından önemli kazanımlar sağlayacağını da söylemek mümkündür.

Kaynaklar

- Anonim, 2005. <http://www.geneticsolutions.com.au>. Erişim: 01.06.2005.
- Di Stasio, L., Sartore, S., Albera, A. 2002. Lack of association of GH1 and POU1F1 gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. *Animal Genetics*. 33: 61–64.
- Ge W., Davis, M.E., Hines, H.C., Irvin, K.M., Simmen, R.C.M. 2001. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 79:1757-1762.
- Hale, C.S., Herring, W.O., Johnson, G.S., Shibuya, H., Lubahn, D.B., Keisler, D.H. 1998. Evaluation of the leptin gene as a possible marker of carcass traits in Angus cattle. *Animal Science* 1998, Departmental Report University of Missouri, Columbia, <http://www.asrc.agri.missouri.edu/deptrpt/25-27.pdf> Erişim: 01.06.2005
- Hale, C.S., Herring, W.O., Shibuya, H., Lucy M.C., Lubahn, D.B., Keisler, D.H., Johnson, G.S. 2000. Decreased growth in Angus ster with short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of the growth hormone receptor gene. *J. Anim. Sci.* 78: 2099–2104.
- Hetzl, J. 2004. Delivery of gene marker technology to the beef industry. The John M. Airy Beef Cattle Symposium, Visions for genetics and breeding, 15-17 May 2003, Iowa State University, CAB International, AgBiotechNet Proceedings 004 Paper 6, p.1-4.
- Moddy, D.E., Pomp, D., Barendse, W. 1995. Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1. *Anim. Genet.* 26:45-47.
- Moddy, D.E., Pomp, D., Newman, S., MacNeil, M.D. 1996. Characterization of DNA polymorphism in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EDP in line 1 Herefords. *J. Anim. Sci.* 74:1784–1793.
- Oprzadek, J., Flisikowski, K., Zwierzchowski, L., Dymnicki, E. 2003. Polymorphisms at *loci* of Leptin (*LEP*), *Pit1* and *STAT5A* and their association with

- growth, feed conversion and carcass quality in Black-and White bulls. *Animal Science Paper and Reports*. 21(3):135.145.
- Pomp, D., Zout, T., Clutter, A.C., Barendse, W. 1997. Rapid communication: Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analyses of a PCR based polymorphism. *J. Anim. Sci.* 75:1427–1427.
- Renaville, R., Gengler, N., Vrech, E., Prandi, A., Massart, S., Corradini, C., Bertozzi, C., Mortiaux, F., Burny, A., Portetelle, D. 1997. Pit-1 Gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein-Friesian Bulls. *J. Dairy Sci.* 80: 3431–3438.
- Switonski, M. 2002. Molecular genetics in beef cattle- a review. *Animal Sciences Papers and Reports*. 20(Suppl. 1): 7–18.
- Vaiman, D. 1999. The molecular genetics of cattle. In: *The genetics of cattle*(Eds: R.Fries and A. Ruvinski), CAB International.
- Wilkins, R.J., Davey, H.W. 1997. A polymorphic microsatellite in the bovine leptin gene. *Anim. Genet.* 28: 376-376.
- Zhao, Q., Davis, M.E., Hines, H.C. 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci.* 82:2229-2233.
- Zwierzchowski, L., Oprzadek, J., Dymnicki, E., Dzierzbicki, P. 2001. An association of growth hormone, k-kazein, B-lactoglobulin, leptin and Pit-1 loci polymorphism with growth rate and carcass trait in beef cattle. *Animal Science Papers and Reports*. 19: 65-78.