



Holstein Irkı Sığırlarda *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* Genleri ile Bazı Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişkilerin Araştırılması*

Korhan ARSLAN¹, Jale METİN KIYICI², Bilal AKYÜZ¹, Mahmut KALİBER², Esmâ Gamze AKSEL¹, Mehmet Ulaş ÇINAR³

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

³Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

Sorumlu yazar: Korhan ARSLAN; E-mail: korhanars@gmail.com; ORCID:0000-0002-2440-884X

Atıf yapmak için: Arslan K, Metin Kıyıcı J, Akyüz B, Kaliber M, Aksel EG, Çınar MU. Holstein Irkı Sığırlarda *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* Genleri ile Bazı Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişkilerin Araştırılması. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2019; 16(2): 115-121.

Özet: Bu çalışmada Holstein ırkı sığırlarda yağ asit bağlayıcı protein 4 (*FABP4*), nükleer reseptör alt ailesi 1, grup H, üye 3 (*NR1H3*) ve stearyl-CoA desaturaz (*SCD*) proteinlerini kodlayan genler ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın hayvan materyalini 166 baş sağmal Holstein inek oluşturmuştur. İncelenen hayvanlar polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile yukarıda belirtilen genler yönünden genotiplendirilmiştir. İncelenen örneklerde *FABP4* geni için G allel frekansının (% 82), *NR1H3* geni için G allel frekansının (%96) ve *SCD* geni için ise C allel frekansının (%73) en yüksek olduğu görülmüştür. Yapılan Hardy-Weinberg (HW) ki-kare analizleri sonucunda incelenen Holstein ineklerin *FABP4* ve *SCD* genleri yönünden HW dengesinde oldukları, *NR1H3* geni yönünden ise HW dengesinde olmadıkları görülmüştür. Çalışma sonunda, sütteki yağ oranı yönünden *NR1H3* genotipleri arasındaki farklılık ($P<0.05$), yağsız kuru madde oranı yönünden *SCD* genotipleri arasındaki farklılık ($P<0.05$) ve süt yoğunluğu yönünden *FABP4* genotipleri arasındaki farklılık ($P<0.01$) istatistik olarak önemli bulunmuştur. Sonuç olarak incelenen genlerin süt kompozisyonu için yapılacak seleksiyon çalışmalarında kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Genotip frekansı, Holstein, polimorfizm, süt verim özellikleri

Investigation of the Relationship between *FABP4*, *NR1H3* and *SCD* Genes and Some Milk Yield Traits in Holstein Cattle

Summary: The aim of this study was to investigate the relationship between genes that encode fatty acid-binding protein 4 (*FABP4*), nuclear receptor subfamily 1, group H, member 3, (*NR1H3*) and stearyl-CoA desaturase (*SCD*) proteins and some milk yield traits in Holstein cattle. A total of 166 Holstein dairy cows were used for the study. Genotyping was performed by polymerase chain reaction and restriction length polymorphism (PCR-RFLP) method. The frequencies of *FABP4*-G (82%), *NR1H3*-G (96%) and *SCD*-C (73%) alleles were found to be high in the examined Holstein cows. According to chi-square test results, the investigated Holstein cows were in Hardy-Weinberg (HW) equilibrium for the *FABP4* and *SCD* genes while significant deviation was observed from HW equilibrium for the *NR1H3* gene. Regression analyses revealed that *NR1H3* genotypes were associated with milk fat ($P<0.05$), *SCD* genotypes were associated with dry matter without fat ($P<0.05$) and *FABP4* genotypes were associated with milk density ($P<0.01$). Taken together, our results indicate that investigated SNPs may be used in the selection programs related with the milk composition traits in dairy cattle.

Key words: Genotype frequency, Holstein, milk yield traits, polymorphism

Giriş

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, özellikle 1990'lı yıllardan itibaren, ekonomik öneme sahip özelliklerin iyileştirilmesinde moleküler genetik yöntemlerin kullanılması seçeneklerinin araştırılmasına olan ilgi gittikçe artmıştır (24). Günümüz çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, klasik seleksiyon teknikleri ve moleküler gene-

tik tekniklerin birlikte kullanılması ile hedeflenen başarıya daha kolay ulaşılabileceği düşünülmektedir (4).

Suni tohumlama, çoklu ovulasyon ve embriyo transferi gibi yardımcı üreme tekniklerinin de yardımıyla klasik seleksiyon (döl kontrolü-progeny testing vb) uygulamalarıyla çiftlik hayvanlarında ki ıslah çalışmalarında önemli başarılar elde edilmiştir. Ancak uzun jenerasyon aralığı, bir özellik yönünden bireylerdeki fenotipik varyasyonda, genotipin katkısının tam olarak bilinmemesi klasik seleksiyon yöntemlerindeki başarıyı kısıtlayan önemli etmenlerdir (9,24). Süt ve yu-

Geliş Tarihi/Submission Date : 04.05.2018

Kabul Tarihi/Accepted Date : 01.10.2018

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen FCD-2013-4640 kodlu projeden üretilmiştir.

murta verimi gibi cinsiyetle sınırlı özelliklerde, düşük kalıtım derecesine sahip özelliklerde, ilerleyen yaşlarda ortaya çıkan özelliklerde veya hayvanın kesilmesinden sonra ortaya çıkan özelliklerde klasik seleksiyon yöntemleri ile sınırlı genetik ilerleme sağlanmaktadır. Moleküler markörlerin, ortaya çıkmasında çok sayıda genin ve çevrenin de etkili olduğu verim özelliklerinin ıslahında büyük katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (24). Çiftlik hayvanlarında önemli verim özellikleri ile ilişkili olduğu genel olarak kabul görmüş birçok moleküler markör belirlenmiştir. Sığır kantitatif özellik lokusu (QTL) veri tabanında şu ana kadar süt verimi ile ilişkili 2011 civarında QTL tanımlanmıştır (3).

Süt sığırlarında; süt proteinleri (kazein vb), süt üretimi ve salgılanmasında rolü olan hormon ve hormon reseptörleri (büyüme hormonu, leptin, *DGAT1* vb) ile bazı transkripsiyon faktörlerini (hipofiz bezi transkripsiyon faktörü 1, *POU1F1*, *STAT5A* vb) kodlayan genler, süt verim özelliklerinin iyileştirilmesi çalışmalarında en çok kullanılan genlerdir (8,10,11,14,26). Süt verim özellikleri ile ilgili olarak incelenebilecek diğer genlerin ise yağ asidi metabolizmasında görev alan yağ asidi bağlayıcı veya taşıyıcı proteinleri kodlayan genler olduğu bildirilmiştir (8,10,14,26).

Yağ metabolizmasında görevli bir protein olan yağ asit bağlayıcı protein 4'ün (*FABP4*), vücutta yağ depolanması, kolesterol metabolizması ve buna bağlı olarak da et kalitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (23). Sığırlarda 14. kromozom üzerinde bulunan *FABP4* geninin, farklı dokularda yağ oluşum mekanizmasında, lipitlerin hidrolizi ve hücre içi yağ taşınması üzerinde önemli rolü bulunmaktadır (6,18). Bu nedenle *FABP4* geni, daha çok çiftlik hayvanlarında et kalitesi ile ilgili çalışmalarda kullanılmıştır. Ancak bu çalışmada yağ metabolizmasındaki rolü nedeniyle, *FABP4* geninin sütün yoğunluğu, süt verimi ve süt yağı oranı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Nükleer hormon reseptör süper ailesinin bir üyesi olan nükleer reseptör alt ailesi 1, grup H, üye 3 (*NR1H3*) proteini, memelilerde hepatik lipogenezi yöneten ana transkripsiyon faktörü olarak bilinir (17). Karaciğer X reseptör α (*LXR α*) olarak da adlandırılan *NR1H3*'ü kodlayan gen hem diğer lipojenik transkripsiyon faktörlerinin hem de lipojenik enzimlerin ekspresyonunu düzenler (5,17). Bu nedenle *NR1H3* geninin çiftlik hayvanlarında büyüme ve gelişme için önemli bir aday gen olabileceği düşünülmektedir (15).

Stearoyl-CoA desaturase (*SCD*) memelilerde doymuş yağ asitlerinin, tekli doymuş yağ asitlerine dönüşümünü katalize eden multifonksiyonel bir enzimdir (25). Bu sebeple süt kompozisyonu ve et kalitesi mekanizması ile ilgili çalışmalarda *SCD* geninin önemli olduğu düşünülmektedir (11). *SCD*'nin ruminant kaynaklı hayvansal ürünlerin yağ kalitesinin iyileştirilmesinde özellikle üzerinde durulması gereken bir gen olduğu

bildirilmiştir (19). İtalyan Holstein'larında yapılan bir çalışmada, *SCD* gen polimorfizmi ile yağ asidi kompozisyonu arasında ilişki olduğu (7), Japon Siyah sığırlarında yapılan bir çalışmada ise *SCD* geni ile düşük erime derecesindeki yağlar ve mermerleşme arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (25).

Yapılan literatür taramalarında, yağ metabolizmasında görev almalarına rağmen *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* genleri ile süt verimi ve süt kompozisyonu arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, Holstein ırkı sağmal ineklerde yağ metabolizmasındaki rolleri nedeniyle *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* gen polimorfizimleri ile bazı süt kompozisyonu özellikleri ve 305 günlük süt verimleri arasındaki ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışma Holstein ırkı sığırlarda *FABP4-Hin1II*, *NR1H3-HpyCH4IV* ve *SCD-Fnu4HI* polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ERÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 10.04.2013 tarih ve 13/72 karar numaralı izin belgesiyle tamamı ikinci laktasyon döneminde bulunan ve 2013 Kasım - 2014 Mart tarihleri arasında buzağılayan toplam 166 baş Holstein ırkı süt sığırı kullanılmıştır.

Süt verim kayıtlarının alınması

Denemede kullanılan her bir inek için laktasyon veri kayıtları doğumu takiben başlamış inekler kuruya çıkana kadar devam etmiştir. Çalışmada 305 günlük laktasyon süt verim kayıtları kullanılmış, eksik laktasyonlar çevirme katsayıları kullanılarak tamamlanmıştır (21).

Çalışmada kullanılan inekler rutin olarak günde üç defa (07:00, 15:00, 23:00 saatlerinde) sağılmışlardır. Süt kompozisyon ve kalite analizleri için her ay bir kontrol günü belirlenmiş ve toplamda 10 kontrol yapılmıştır. Kontrol gününde her bir inekten sabah saat 07:00 sağımı esnasında 50 ml süt numunesi alınmıştır. Analiz yapıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilen süt numunelerinde % yağ, % yağsız kuru madde, % yoğunluk ve % protein oranları belirlenmiştir. Süt kompozisyonu analizlerinde Milkana (Milkana Multi-Test milk analyzer, DeLaval, Stockholm, Swedish) süt ölçüm cihazı kullanılmıştır.

DNA izolasyonu ve PCR-RFLP analizleri

DNA izolasyonu, fenol:kloroform:izoamil alkol yöntemi (22) ile hayvanların kuyruk venalarından vakumlu K₃EDTA'lı tüplere alınan kanlardan yapılmıştır. Tüm genler için yapılan PCR işlemi Bio Rad T100 (Bio-Rad, USA) PCR cihazında yapılmıştır. PCR işlemleri; 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA), 5 pmol ileri ve geri primer, 1 \times PCR tampon solüsyonu, 1 U Taq polimeraz

(Thermo Fisher Scientific, USA) ve 100 ng DNA içeren toplam hacmi 25 µl olan karışımlarla yapılmıştır.

FABP4 geni için yapılan PCR işleminde Maharani ve ark. (17) tarafından önerilen F: 5'-ATTATCCCCACAGAGCATCG-3' ve R: 5'-ACAAGACTTGGCCTCAAGGA-3' primer çifti kullanılmıştır. PCR işlemi, 95°C'de 4 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü; 94°C'de 1 dakika, 62°C'de 1 dakika, 72°C'de 1 dakika olacak şekilde 32 döngü yapıldıktan sonra 72°C'de 10 dakika olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kesim işlemi 5 U *Hin*1I (Thermo Fisher Scientific, USA) enzimi ile prospektüste belirtildiği şekilde yapılmıştır.

NR1H3 geni için yapılan PCR işleminde Maharani ve ark. (17) tarafından önerilen F: 5'-GCGTGGCGTATGAGAGCTAC-3' ve R: 5'-TAGACGTGGTCTTGCTGTGG-3' şeklinde bir primer çifti kullanılmıştır. PCR işlemi, 94°C'de 10 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü; 94°C'de 30 sn, 65°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C'de 10 dakika tutularak tamamlanmıştır. Kesim işlemi, elde edilen PCR ürünlerinin 5 U *Hpy*CH4IV (Thermo Fisher Scientific, USA) enzimi ile prospektüste belirtildiği şekilde yapılmıştır.

SCD geni için yapılan PCR işleminde Maharani ve ark. (17) tarafından önerilen F: 5'-CCCGGTGTCCTGTTGTTGTG-3' ve R: 5'-TAGACGTGGTCTTGCTGTGG-3' şeklinde bir primer çifti kullanılmıştır. PCR protokolü, 94°C'de 10 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü; 94°C'de 30 sn, 62°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C'de 10 dakika tutularak tamamlanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri 5 U *Fnu*4HI (Thermo Fisher Scientific, USA) enzimi ile prospektüste belirtildiği şekilde muamele edilerek RFLP işlemi tamamlanmıştır.

Kesim sonrasında incelenen polimorfizmler yönünden bireylerin genotipler işleminde etidyum bromür katılmış %3'lük agaroz jel (Prona, Madrid, Spain) elektroforezi ile belirlenmiştir.

İstatistik analizler

İncelenen genler yönünden genotip ve allel frekansları ile Hardy-Weinberg (HW) dengesi ücretsiz OEGE internet sitesinde hesaplanmıştır (20). Çalışmada elde edilen verilerin normal dağılışa uygunluğu kontrol edilerek SAS v9.0 versiyonunda UNIVARIATE prosedüründe analiz edilmiştir (SAS Institute, Cary, NC). Süt verim ve kompozisyon özellikleri (yağ, yağsız kuru madde, yoğunluk, protein) SAS v9.0 mixed modeli kullanılarak analiz edilmiştir. Modelde baba (1-19) ve genotip (2 veya 3) etkileri sabit etki, kontrol test günü (1-10) etkisi ise random etki olarak yer almıştır. Kontrol test günleri laktasyon boyunca ayda 1 defa toplamda 10 defa olarak yapılmıştır.

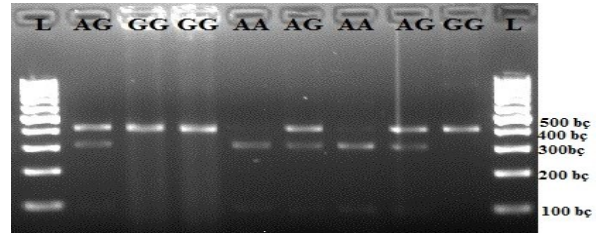
İstatistik model aşağıdaki gibi verilmiştir:

$$Y_{ijk} = \mu + S_j + G_i + C_k + e_{ijk}$$

Y_{ij} çalışmada ölçülen fenotipik özellikleri, μ ölçülen fenotipik özelliğin ortalamasını, S_j jth babanın sabit etkisi, G_i araştırılan gen için i. genotipin sabit etkisi, C_k test kontrol gününün tesadüfi etkisi, e_{ijk} tesadüfi rezidual hata.

Bulgular

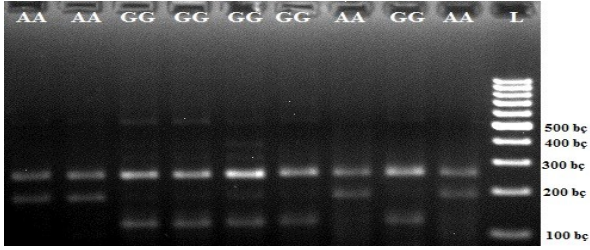
*FABP4-Hin*1I polimorfizmi için yapılan PCR işlemi ile elde edilen 399 bç'lik ürünlerin restriksiyon işlemi sonucunda A ve G olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (AA, AG ve GG) belirlenmiştir. GG genotipli bireylerde 399 bç'lik tek bant, AG genotipli bireylerde 399, 302 ve 97 bç'lik üç bant, AA genotipli bireylerde ise 302 ve 97 bç'lik iki bant gözlenmiştir (Şekil 1). İncelenen Holstein sığırlarında GG genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek (%69), AA genotipinin ise en az görülen (%4.8) genotip olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).



Şekil 1. *FABP4* geni için yapılan *Hin*1I enzim kesim görüntüsü. L: 100 bp'lik DNA merdiveni

*NR1H3-Hpy*CH4IV polimorfizmi için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 436 bç'lik PCR ürünlerinin enzim kesimi sonucunda A ve G olarak adlandırılan iki allel ve üç genotipin (AA, AG ve GG) görülmesi beklenmiştir. AA genotipli bireylerde 251 ve 185 bç'lik iki bant, GA genotipli bireylerde 251, 185, 95 ve 90 bç'lik dört bant, GG genotipli bireylerde ise 251, 95 ve 90 bç'lik üç bandın görülmesi beklenmiştir. Ancak 95 ve 90 bç'lik bantlar birbirlerine çok yakın oldukları için bu iki bant agaroz jel elektroforezinde birbirinden ayıramamıştır. Buna rağmen 251, 185, 95 bç'lik bantların bir arada veya ayrı ayrı görülmeleri bireylerin genotiplerinin belirlenmesi için yeterli olduğu kabul edilmiştir (Şekil 2). *NR1H3-Hpy*CH4IV polimorfizmi yönünden incelenen Holstein ırkı sığırlarda GG genotip frekansının en yüksek (%96.4) olduğu, buna karşın AG genotipli bireylere rastlanılmadığı görülmüştür (Tablo 1).

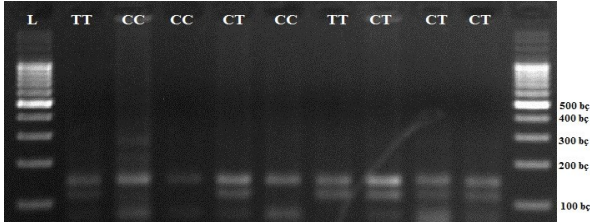
*SCD-Fnu*4HI polimorfizmi için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 256 bç'lik ürünlerin enzim kesimi sonucunda C ve T olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (CC, CT ve TT) belirlenmiştir. CC genotipli bireylerde 143 ve 75 bç'lik iki bant, CT genotipli bireylerde 143, 113 ve 75 bç'lik üç bant, TT genotipli bireylerde ise 143 ve 113 bç'lik iki bandın görülmesi bek-



Şekil 2. *NR1H3* geni için yapılan *HpyCH4IV* enzim kesim görüntüsü. L: 100 bp'lik DNA merdiveni

lenmiştir (Şekil 3). Enzim kesimi sonunda Holstein ırkı sığırlarda CC genotipi frekansının en yüksek (%56), TT genotipi frekansının ise en düşük olduğu (%9.5) görülmüştür (Tablo 1).

Çalışmada ele alınan fenotipik özelliklerden sütteki yağ oranı yönünden *NR1H3* genotipleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Tablo 2). İncelenen özelliklerden yağsız kuru madde özelliğinde ise



Şekil 3. *SCD* geni için yapılan *Fnu4HI* enzim kesim görüntüsü. L: 100 bp'lik DNA merdiveni

SCD genotipleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Tablo 2). Yoğunluk özelliğinde ise *FABP4* geninde belirlenen genotipler arasında farkın önemli olduğu ($P<0.01$) belirlenmiştir (Tablo 2). Protein ve 305 günlük süt verimi yönünden incelenen genlere ait genotipler arasında bir fark ($P>0.05$) bulunmamıştır (Tablo 3).

tiplerden yüksek (%69), AA'nın ise en az görülen (% 4.8) genotip olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Benzer şekilde, Maharani ve ark.'nın (17) yerli bir Kore sığıır ırkı olan Hanwoo ırkında *FABP4-Hin1II* polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında, GG genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğu ve AA genotipinin ise en az görülen genotip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada incelenen *FABP4-Hin1II* polimorfizmi ile ilgili başka bir sığıır ırkında yapılan bir çalışmaya rastlanılmaması nedeniyle, diğer sığıır ırkları ve farklı Holstein popülasyonlarındaki *FABP4-Hin1II* polimorfizimleri ile bizim elde ettiğimiz sonuçlar karşılaştırılmamıştır.

Yapılan literatür taramasında, *FABP4-Hin1II* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında ilişkinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada incelenen Holsteinlerde *FABP4-Hin1II* polimorfizmi ile süt yoğunluğu arasında ilişki olduğu, süt yoğunluğunun AA genotipli bireylerde diğer genotipli bireylerden yüksek olduğu, sütteki yağ oranı bakımından da AA genotipli bireylerin diğer genotiplere göre daha düşük yağ oranına sahip oldukları belirlenmiştir. Buna karşılık *FABP4-Hin1II* polimorfizmi ile 305 günlük süt verimi, yağsız kuru madde ve protein oranları arasında ilişki bulunamamıştır.

Beslenme ve genotip gibi birçok faktör tarafından etkilenen süt yoğunluğunu, süt proteini, yağsız kuru madde, süt şekeri laktöz ve sütteki mineral madde oranları artırırken, sütteki yağ oranındaki artış düşürmektedir (12). Bunu destekler şekilde yapılan bu çalışmada belirlenen genotipler ve sütteki yağ oranı arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmamasına rağmen AA genotipli bireylerin sütlerindeki yağ oranının diğer genotipli bireylerden daha düşük olduğu görülmüştür (Tablo 2). Süt yağı oranı ve süt yoğunluğu arasındaki negatif ilişkiden dolayı, AA genotip frekansının azaltılmasına yönelik bir seleksiyonun sütteki yağ oranının artırılmasını sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu görüşü destekler şekilde süt yağı oranı en düşük ve yoğunluğu en yüksek olan AA

Tablo 1. İncelenen hayvanların *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* genotip ve allel frekansları

| Gen | | Genotip Frekansları (%) | | | Allel Frekansları | | HWE Ki-kare (SD=1) |
|--------------|----------|-------------------------|------------|-------------|-------------------|-----|----------------------------------|
| <i>FABP4</i> | Gözlenen | AA | AG | GG | A | G | $\chi^2 = 1.83^{NS}$ P= 0.165 |
| | Beklenen | 8 (%4.8) | 44 (%26.2) | 114 (%69) | %18 | %82 | |
| <i>NR1H3</i> | Gözlenen | AA | AG | GG | A | G | $\chi^2 = 166^{***}$ P= 0.001 |
| | Beklenen | 6 (%3.6) | 0 | 160 (%96.4) | %4 | %96 | |
| <i>SCD</i> | Gözlenen | CC | CT | TT | C | T | $\chi^2 = 2.99^{NS}$ P= 0.121 |
| | Beklenen | 94 (%56) | 56 (%34.5) | 16 (%9.5) | %73 | %27 | |
| | | | | | | | |

HWE: Hardy-Weinberg Dengesi; SD: serbestlik derecesi

Tartışma ve Sonuç

FABP4-Hin1II polimorfizmi yönünden incelenen Holstein ırkı sığırlarda GG genotip frekansının diğer geno-

genotipli birey sayısının (8 birey) diğer genotiplerden düşük olduğu görülmektedir (Tablo 2). Diğer taraftan sütteki somatik hücre sayısı da sütün yoğunluğunu etkilemektedir (1). Bu nedenle *FABP4-Hin1II* polimor-

Tablo 2. *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* genlerine ait genotiplerde süt verimi ve bazı kompozisyon özelliklerine ait tanımlayıcı istatistikler ve önem kontrolü

| Gen | Genotip | N | Süt Kompozisyon Özellikleri | | | |
|--------------|---------|-----|--------------------------------------|--|---|--|
| | | | Yağ ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) | Yağsız KM ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) | Yoğunluk ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) | Protein ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) |
| <i>FABP4</i> | AA | 8 | 2.991±0.161 | 9.111±0.063 | 32.210±0.376 ^a | 3.411±0.093 |
| | AG | 44 | 3.288 ±0.096 | 9.090±0.032 | 30.847±0.197 ^b | 3.417±0.043 |
| | GG | 114 | 3.166±0.083 | 9.087±0.025 | 31.037±0.156 ^b | 3.445±0.029 |
| P | | | 0.079 | 0.927 | 0.002 | 0.783 |
| <i>NR1H3</i> | AA | 6 | 2.783±0.179 ^a | 9.110±0.071 | 31.538±0.426 | 3.444±0.106 |
| | GG | 161 | 3.201±0.082 ^b | 9.088±0.023 | 31.037±0.149 | 3.436±0.027 |
| | P | | 0.012 | 0.756 | 0.227 | 0.943 |
| <i>SCD</i> | CC | 93 | 3.165±0.085 | 9.117±0.026 ^a | 31.165±0.162 | 3.461±0.031 |
| | CT | 57 | 3.229 ±0.092 | 9.067±0.030 ^{ab} | 30.886±0.184 | 3.405±0.039 |
| | TT | 16 | 3.169 ±0.123 | 9.009±0.045 ^b | 30.974±0.275 | 3.402±0.065 |
| P | | | 0.614 | 0.022 | 0.214 | 0.335 |

Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar: ^a ve ^b $P < 0.05$; KM: Kuru madde; $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$: ortalama ± standart hata

Tablo 3. *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* genlerine ait genotipler ile süt verimi arasındaki ilişki

| Gen | Genotip | N | 305 Günlük Süt Verimi ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) |
|--------------|---------|-----|---|
| <i>FABP4</i> | AA | 8 | 8259.87±266.63 |
| | AG | 44 | 7756.20±121.88 |
| | GG | 114 | 7796.86±84.06 |
| P değeri | | | 0.207 |
| <i>NR1H3</i> | AA | 6 | 8193.44±303.44 |
| | GG | 160 | 7798.23±76.98 |
| P | | | 0.195 |
| <i>SCD</i> | CC | 93 | 7765.62±89.82 |
| | CT | 57 | 7895.24±110.46 |
| | TT | 16 | 7818.10±186.64 |
| P değeri | | | 0.557 |

fizmi ile sütteki somatik hücre sayısı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar da planlanabilir.

Bu çalışmada *NR1H3-HpyCH4IV* polimorfizmi yönünden incelenen Holstein ırkı sığırlarda GG (%96.4) genotipinin en yaygın genotip olduğu, AG genotipine ise rastlanılmadığı görülmüştür. Hanwoo sığırlarda yapılan çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde GG genotipini en yüksek olduğu (%68) bildirilmiştir. Buna karşılık AG genotipinin bu ırkta bulunduğu (%30) ve AA genotipinin ise en az görülen genotip (%2) olduğu bildirilmiştir (18). Bu durumun Hanwoo ırkının Uzak Doğu kökenli ve etçi bir ırk olmasından buna karşılık Holsteinların Avrupa kökenli ve sütçü bir ırk olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada kullanılan SNP'nin incelendiği başka bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Yağ metabolizmasındaki rolü nedeniyle, süt verimi ve süt kompozisyonu ile ilişkilerinin olabileceği düşünülen *NR1H3* geni yönünden verileri alınan özelliklerden sadece sütteki yağ oranı bakımından genotipler

arasında fark bulunmuştur. Belirlenen genotiplerden AA genotipli bireylerde süt yağı oranının diğer genotipten düşük olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taramasında, meme bezinde süt yağı transkripsiyonunun düzenlenmesinde önemli rolü olduğu bildirilen (13) *NR1H3* geni ile sütteki yağ oranı arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma, yağ metabolizmasındaki rolü nedeniyle *NR1H3* geninin sığırlarda süt yağı oranı ile ilişkisi ilk kez ortaya konmuştur. Çalışma sonunda *NR1H3-HpyCH4IV* polimorfizminin sığırlarda yapılacak süt yağı oranının artırılması çalışmalarında markör olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan sığırlarda *NR1H3* geni ile yağ asidi kompozisyonu arasındaki ilişkisi bulunduğu bildirilmektedir (18). Dolayısıyla *NR1H3-HpyCH4IV* polimorfizminin aynı zamanda sığır sütlerindeki yağ asidi kompozisyonu ile ilgili çalışmalarda da kullanılabileceği düşünülmüştür.

SCD-Fnu4HI polimorfizmi yönünden incelenen Holsteinlarda CC genotip frekansının (%56) diğer genotipler

den yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşılık Hanwoo sığırlarında CT genotip frekansının (%41) diğer genotiplerden yüksek olduğu, CC genotip frekansının (%19) ise en düşük olduğu bildirilmiştir (17). Bunun incelenen sığır ırklarının kökenlerinden ve yetiştirme amaçlarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

İtalyan Holsteinlarında *SCD* geni için yapılan tek iplikli konformasyon polimorfizmi (SSCP) ile süt verimi, süt yağı verimi, sütteki oranı, sütteki protein verimi ve sütteki protein oranı arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada *SCD* geni ile süt ve protein verimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (16). Benzer şekilde Çin'de yetiştirilen Holstein'larda *SCD* geninin 3. intronunda bulunan bir SNP ile süt, yağ ve protein verimleri arasında ilişkili olduğu bildirilmiştir (2). Bizim çalışmamızda incelenen Holstein'larda *SCD-Fnu4HI* genotipleri ile sütteki yağsız kuru madde oranı arasında istatistiksel bir fark olduğu görülmüştür. İncelenen Holsteinlarda CC genotipli bireylerin diğer genotiplere göre daha yüksek yağsız kuru madde oranına sahip oldukları görülmüştür. Sütteki yağsız kuru maddeyi azotlu bileşikler (protein ve protein olmayan bileşikler), laktoz, suda eriyen vitaminler ve mineral maddeler oluşturmaktadır (12). Sütteki hilenin de bir göstergesi olan sütteki yağsız kuru madde oranı aynı zamanda sütün randımanı ile de ilişkilidir. Dolayısıyla *SCD-Fnu4HI* polimorfizmi yönünden CC genotipli bireylerin sütlerinden daha fazla yoğurt ve peynir elde edilebileceği düşünülebilir.

Çalışma sonunda *FABP4-Hin1II* polimorfizmi ile süt yoğunluğu ve sütteki yağ oranı; *NR1H3-HpyCH4IV* polimorfizmi ile sütteki yağ oranı; *SCD-Fnu4HI* polimorfizmi ile yağsız kuru madde oranı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında *FABP4-Hin1II* polimorfizmi ve *NR1H3-HpyCH4IV* polimorfizminin sütteki yağ oranı bakımından yapılacak ıslah çalışmalarında, *SCD-Fnu4HI* polimorfizminin ise yağsız kuru madde oranının iyileştirilmesine yönelik ıslah çalışmalarında kullanılabileceği düşünülmüştür. Ancak yağ metabolizmasındaki rolleri nedeniyle *FABP4*, *NR1H3* ve *SCD* genlerinin süt verim özellikleri ve sütteki yağ asidi profili arasındaki ilişkilerin araştırılacağı yeni çalışmaların planlanabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Araştırma ekibi olarak bu araştırmayı destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve araştırmacının saha aşamasında çiftliğin her türlü imkânlarından faydalanmamızı sağlayan Kayseri ili, Develi ilçesinde bulunan Saray Tarım ve Hayvancılık İşletmesi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Açı M, Özer E, Yerlikaya O, Kesentaş H, Kınık Ö. Koyun ve keçi sütlerindeki somatik hücre sayısı-

nin süt verimi ve bileşimine etkisi, <https://www.sutdunyasi.com/makaleler/bilimsel/koyun-ve-keci-sutulerindeki-somatik-hucre-sayisinin-sut-verimi-vebilesimine-etkisi-2/>, Erişim tarihi: 18.01.2018.

2. Alim MA, Fan YP, Wu XP, Xie Y, Zhang Y, Zhang SL, Sun DX, Zhang Y, Zhang Q, Liu L, Guo G. Genetic effects of stearoyl-coenzyme A desaturase (*SCD*) polymorphism on milk production traits in the Chinese dairy population. *Mol Biol Rep* 2012; 39(9): 8733-40.
3. Anonim1. Cattle QTL/associations data summary, <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/summary>, Erişim tarihi: 09.08.2018.
4. Barillet F. Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Ruminant Res* 2007; 70(1): 60-75.
5. Calkin AC, Tontonoş P. Transcriptional integration of metabolism by the nuclear sterol-activated receptors LXR and FXR. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2012; 13(4): 213-24.
6. Chmurzynska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. *J Appl Genet* 2006; 47(1): 39-48.
7. Conte G, Mele M, Castiglioni B, Serra A, Viva M, Chessa S, Pagnacco G, Secchiari P. Relationship between bovine *SCD* polymorphism locus and mammary gland desaturation activity. *Proceedings of the Eight World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. August, 13-18, 2006; Belo Horizonte-Brazil.
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. *Genom Res* 2002; 12(2): 222-31.
9. Guillaume F, Fritz S, Boichard D, Druet T. Estimation by simulation of the efficiency of the French marker-assisted selection program in dairy cattle (Open Access publication). *Genet Select Evol* 2008; 40(1): 91-102.
10. Huang W, Maltecca C, Khatib H. A proline-to-histidine mutation in *POU1F1* is associated with production traits in dairy cattle. *Anim Genet* 2008; 39(5): 554-7.
11. Khatib H, Monson RL, Schutzkus V, Kohl Dm, ROse GJM, Rutledge JJ. Mutations in the *STAT5A* gene are associated with embryonic

- survival and milk composition in cattle. *J Dairy Sci* 2008; 91(2): 784-93.
12. Kiper İ. Karayaka ırkı koyunlarda Laktasyon sayısının süt verimine ve süt özelliklerine etkileri, Yüksek Lisans tezi, Ordu Üniv Fen Bil Ens, Ordu 2016; s. 14.
 13. Li S, Hosseini A, Danes M, Jacometo C, Liu J, Looor JJ. Essential amino acid ratios and mTOR affect lipogenic gene networks and miRNA expression in bovine mammary epithelial cells. *J Anim Sci Biotechnol* 2016; 7(1): 44
 14. Liefers SC, Veerkamp RF, Te Pas MF, Chilliard Y, Van der Lende T. Genetics and physiology of leptin in periparturient dairy cows. *Domestic Anim Endocrinol* 2005; 29(1): 227-38.
 15. Ma Y, Chen N, Li R, Xu Y, Li F, Li J, Gao S, Li X, Shi K. LXR α gene expression, genetic variation and association analysis between novel SNPs and growth traits in Chinese native cattle. *J Appl Genet* 2014; 55(1): 65-74.
 16. Macciotta NPP, Mele M, Conte G, Serra A, Cas-sandro M, Dal Zotto R, Borlino AC, Pagnacco G, Secchiari P. Association between a polymorphism at the stearoyl CoA desaturase locus and milk production traits in Italian Holsteins. *J Dairy Sci* 2008; 91(8): 3184-9.
 17. Maharani D, Jung Y, Jung WY, Jo C, Ryoo SH, Lee SH, Yeon SH, Lee JH. Association of five candidate genes with fatty acid composition in Korean cattle. *Mol Biol Rep* 2012; 39(5): 6113-21.
 18. Michal JJ, Zhang ZW, Gaskins CT, Jiang Z. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu 9 Limousin F2 crosses. *Anim Genet* 2006; 37(4): 400-2.
 19. Milanesi E, Nicoloso L, Crepaldi P. Stearoyl CoA desaturase (SCD) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. *J Anim Breed Genet* 2008; 125(1): 63-7.
 20. OEGE. Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology Studies, <http://www.oege.org/software/hwemr-calc.shtml>. Erişim tarihi: 01.01.2017.
 21. Özhan M, Tüzemen N, Yanar M. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Ders Notu Yayın No:134. Erzurum: Atatürk Üniv Ziraat Fakültesi Yayınları, 2016; ss.309-11.
 22. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual Appendixes Second Edition*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; p. 20.
 23. Shin SC, Heo JP, Chung ER. Genetic variants of the FABP4 gene are associated with marbling scores and meat quality grades in Hanwoo (Korean cattle). *Mol Biol Rep* 2012; 39(5): 5323-30.
 24. Singh U, Deb R, Alyethodi RR, Alex R, Kumar S, Chakraborty S, Dhama K, Sharma A. Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *BGM* 2014; 6(2): 49-58.
 25. Taniguchi M, Utsugi T, Oyama K, Mannen H, Kobayashi M, Tanabe Y, Ogino A, Tsuji S. Genotype of stearoyl-coA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mamm Genome* 2004; 15(2): 142-8.
 26. Zhou GL, Liu HG, Liu C, Guo SL, Zhu Q, Wu YH. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J Biosci* 2005; 30(5): 595-8.

