

Türkiye’de Yetiştirilen Pekin Ördeklerinde Büyüme Hormonu Geni Polimorfizmi*


Growth Hormone Gene Polymorphism in Pekin Ducks Reared in Turkey


Candan ERİŞ¹, Cengiz ELMACI^{2*}

Öz

Moleküler genetik alanındaki gelişmeler çiftlik hayvanlarının morfolojik ve fizyolojik birçok özelliklerini etkileyen genlerin veya belirteçlerin tanımlanmasına yol açmıştır. Bu özelliklerin moleküler temeli, fonksiyonel genomik yöntemlerle ortaya çıkarılmakta ve belirteç destekli seleksiyon (MAS) yoluyla çiftlik hayvanlarında genetik ıslah programlarını geliştirme fırsatları sağlamaktadır. Hayvanlarda çeşitli verim ve üreme performanslarının MAS yoluyla artırılması amacıyla çeşitli aday genler üzerinde durulmaktadır. Üzerinde durulan bu aday genlerden birisi de büyüme hormonu genidir. Bu çalışmanın temel amacı, Pekin ördeklerinde büyüme hormonu geninin 2., 3. ve 4. intronlarındaki polimorfizmleri araştırmaktır. Bu amaçla Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Çiftliğinde yetiştirilen her iki cinsiyetten (79 erkek ve 38 dişi) toplam 117 adet yetişkin Pekin ördeğinden alınan kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Büyüme hormonu geninin 2., 3. ve 4. intronlarındaki genetik polimorfizm, üç primer çifti ile PCR-RFLP yönteminde *BsmF1* restriksiyon enzimi kullanılarak araştırılmıştır. Kesim sonrası elde edilen DNA parçalarının ayırımı için %2’lik agaroz jel elektroforezi uygulanmıştır. PCR-RFLP analizleri sonucunda sadece 2. intron bölgesinde polimorfizm belirlenmiştir. 2. intron bölgesinden çoğaltılan parçanın *BsmF1* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu bu bölgede TT (765 bç), CT (765, 593 ve 172 bç) ve CC (593 ve 172 bç) olmak üzere üç genotip tespit edilmiş ve T ve C allellerinin frekansları da sırasıyla 0,75 ve 0,25 olarak hesaplanmıştır. Çalışılan populasyonda büyüme hormonu geni 2. intron bölgesinde gözlenen değerlerle beklenen değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli olmadığından ($P>0.05$) ele alınan populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu anlaşılmıştır. 3. ve 4. intronlarda ise genetik varyasyon gözlenmemiştir. Büyüme hormonu genin 3. ve 4. intronlarına ait sırasıyla 442 bç ve 1378 bç’lik bölgelere ait PCR ürünleri de *BsmF1* restriksiyon enzimi ile muamele edilmiş, ancak bu enzime ait kesim bölgesine rastlanmamış ve bu nedenle üzerinde çalışılan populasyonda 3.ve 4.intronda tek tip genotip elde edilmiştir. Dolayısıyla bu iki bölgenin *BsmF1* lokusu bakımından monomorfik olduğu anlaşılmıştır. Bu ve önceki çalışmalarda büyüme hormonu geninin 2. intron bölgesinde gösterilen genotipik varyasyon, bu bölge ile çeşitli verimler arasındaki ilişkileri konu alan daha çok çalışma yapılması gerekliliğini de ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Büyüme Hormonu (BH) geni, PCR, RFLP, Genetik varyasyon, Polimorfizm, Pekin ördeği

¹ Candan Eriş, Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Görükle Kampüsü, 16059, Bursa, Türkiye. E-mail: candaneris.ce@gmail.com 
OrCID: 0000-0002-5402-5110

² Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Cengiz Elmacı, Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Görükle Kampüsü, 16059 Bursa, Türkiye. E-mail: elmaci@uludag.edu.tr 
OrCID: 0000-0003-4819-0221.

Atıf/Citation: Eriş C., Elmacı, C., Türkiye’de yetiştirilen Pekin ördeklerinde büyüme hormonu geni polimorfizmi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(4), 798-806.

*Bu çalışma birinci yazarın Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

©Bu çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi tarafından Creative Commons Lisansı (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) kapsamında yayınlanmıştır. Tekirdağ 2022

Abstract

Advances in molecular genetics have led to the identification of genes or markers that affect many morphological and physiological characteristics of farm animals. The molecular basis of these traits is revealed by functional genomic methods and provides opportunities to develop genetic improvement programs in farm animals through marker assisted selection (MAS). Several candidate genes are being studied with the aim of increasing various yield and reproductive performances in animals through MAS. One of these candidate genes is the growth hormone gene. The main purpose of this study was to investigate polymorphisms in the 2nd, 3rd and 4th introns of the growth hormone gene in Pekin ducks. For this purpose, blood samples taken from a total of 117 adult Pekin ducks of both sexes (79 males and 38 females) raised in Bursa Uludag University Faculty of Agriculture Agricultural Application and Research Farm were used as material. Genetic polymorphism in the 2nd, 3rd and 4th introns of the growth hormone gene was investigated using the *BsmF1* restriction enzyme in the PCR-RFLP method with three primer pairs. Samples were carried out in 2% agarose gel electrophoresis to separate the DNA fragments obtained after the digestion. As a result of the researches, polymorphism was determined only in the fragment amplified from the 2nd intron region. As a result of the digestion of the amplified fragment from the 2nd intron region with *BsmF1* restriction enzyme, three genotypes, namely TT (765 bp), CT (765, 593 and 172 bp) and CC (593 and 172 bp) were determined in this region and the frequencies of the T and C alleles were calculated as 0.75 and 0.25, respectively. Since the difference between the values observed in the 2nd intron region of the growth hormone gene and the expected values in the studied population was not statistically significant ($P>0.05$), it was understood that the population in studied was in Hardy-Weinberg equilibrium. No genetic variation was observed in the 3rd and 4th introns. PCR products belonging to the 442 bp and 1378 bp regions of the 3rd and 4th introns of the growth hormone gene, respectively, were also treated with *BsmF1* restriction enzyme, but the cleavage region of this enzyme was not found, so there was only one genotype was obtained in the 3rd and 4th introns of the studied population. Therefore, it was understood that these two regions are monomorphic in terms of *BsmF1* locus. The genotypic variation shown in the 2nd intron region of the growth hormone gene in this and previous studies also reveals the need for further studies on the relationships between this region and various yields.

Keywords: Growth hormone (*GH*) gene, PCR, RFLP, Genetic variation, Polymorphism, Pekin duck

1. Giriş

Kanatlı sektöründe modern yetiştiricilik uygulamalarında en önemli amaçlardan birisi üzerinde durulan verim yönü bakımından (etçi-yumurtacı) performansı yüksek olan hatlar ya da ırklar elde etmektir. Herhangi bir hayvanın verimlilik değeri, o hayvanın belli bir dönem içerisinde ürünlerinin kalitatif ve kantitatif olarak ölçülebilen bazı üretim isteklerini karşılayabilmesiyle belirlenmektedir.

Diğer birçok türde olduğu gibi kanatlı sektöründe de et kalitesi önemli ekonomik özelliklerden birisidir. Son yıllarda moleküler genetik alanındaki gelişmeler ve bunların çiftlik hayvanlarında uygulanabilme olanağı, büyüme, karkas ve et kalitesiyle ilgili özellikleri etkileyen genlerin ya da bu özellikler ile ilişkili olabilen belirteçlerin tanımlanmasına fırsat sağlamıştır (Chang ve ark., 2012; Bhattacharya ve Chatterjee 2013; Huang ve ark., 2013). Bu nedenle moleküler genetik alanındaki bu gibi gelişmeler ve dolayısıyla canlıların genotipini saptama yöntemlerinin geliştirilmesi, bu gibi özellikleri etkileyen genlerin daha kolay ve hızlı bir şekilde belirlenmesi olanağını da sağlamaktadır. Böylece, çeşitli kanatlı türlerinde özellikle büyüme, yumurta verimi ve kalite özellikleri üzerinde etkili olan çok sayıda aday genin kantitatif özellik lokus (QTL, *Quantitative Trait Loci*) çalışmalarıyla ortaya çıkarılması önemli bir amaç haline gelmiştir. Moleküler genetik alanındaki bu gibi gelişmeler aday genlerin kolaylıkla belirlenmesine ve belirteç destekli seleksiyonda (MAS, *Marker Assisted Selection*) kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

Hayvanlarda çeşitli verim ve üreme performanslarının MAS yoluyla artırılması amacıyla çeşitli aday genler üzerinde durulmaktadır. Üzerinde durulan bu aday genlerden birisi de büyüme hormonu (BH) genidir (Supakorn ve Pralomkarn, 2013). Büyüme hormonu, BH geni kontrolünde hipofizin ön lobundan salgılanan ve somatropin olarak da adlandırılan bir proteindir. Büyüme hormonu, büyüme yeteneğinde olan bütün vücut hücrelerini uyarmakta olup özellikle kemik ve kas dokularında etkilidir. Dolayısıyla büyüme hormonu, kas gelişimi, kemik büyümesi ve gelişimi, yağ içeriğini ve metabolizmasının düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonları bulunmaktadır (Ohlsson ve ark., 1998; Bauman, 1999; Zhang ve ark., 2007; Ge ve ark., 2012). Bunların dışında büyüme hormonunun, bağışıklık sistemi üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir (Gala, 1991). Diğer taraftan hayvanlarla yapılan çalışmalar bu hormonun eşeyssel farklılaşma, eşeyssel olgunluk, gametogenesis ve ovulasyon gibi olaylarla da ilgili olduğunu göstermektedir (Hull ve Harwey, 2001). Kanatlılarda büyüme hormonunun, gelişme üzerindeki oldukça önemli etkilerinin yanı sıra aynı zamanda yumurta verimi, yaşlanma ve üreme üzerine de önemli etkileri bulunmaktadır (Kansaku ve ark., 2003). Büyüme hormonunun bu gibi fonksiyonları nedeniyle çok sayıda türde konuyla ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

BH genin yapısı, balıklarda, sıçanlarda, farelerde, koyunlarda, sığırlarda ve insanlarda çalışılmıştır (Barta ve ark., 1981; Woychik ve ark., 1982; Byrne ve ark., 1987; Du ve ark., 1993; Das ve ark., 1996). BH geninin nükleotid içeriği kanatlılarda ilk kez Tanaka ve ark. (1992) tarafından bildirilmiştir. Bütün memelilerde BH geni 2-3 kb büyüklüğünde olup 5 exon ve 4 introndan oluşmaktadır (Jing ve ark., 2006). Ördeklerde ise BH geni 5.25 kb büyüklüğünde olup 5 ekzon ve 4 introndan oluşmakta olup yapısal olarak memeli ve tavuk BH genlerine benzerdir.

Biyokimyasal polimorfizm çiftlik hayvanları arasında belli bir vasıf için görülen çok şekillilik olarak tarif edilmektedir (Soysal ve ark., 2005). Çiftlik hayvanlarında sığır, keçi, koyun, kanatlı gibi türlerde yapılan çalışmalar BH geninin oldukça polimorfik olduğunu göstermiş ve birçok polimorfik bölge saptanmıştır (Lucy ve ark., 1993; Malveiro ve ark., 2001; Sheng-Wai ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2014, Dettori ve ark., 2015). Polimorfik özelliklerin ortaya çıkarılması ve çeşitli verim özellikler ile arasındaki olası genetik bağlantıyı belirlemeye yönelik çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (Soysal ve ark., 2005). Kuhnlein ve ark. (1997), Beyaz Leghorn tavuklarının 12 varyetesinden 219 adet tavukta, üç farklı genetik özellik (Marek hastalığına direnç, Avian lökozise direnç ve yumurta verim özellikleri) seçip, RFLP yöntemi ile büyüme hormon genindeki polimorfizmleri *SacI* ve *MspI* enzimlerini kullanarak incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda tespit edilen toplam 16 allelin beş tanesinde beklenen frekansların üzerinde olduğu ve bu beş allelden A1 ve A5 allelleri ile kuluçkada kalma süreleri ve yumurta sayısı arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada dört farklı tavuk ırkının tüm *cBH* geni ile çalışan Nie ve ark. (2005) toplam 46 SNP tanımlamışlardır. Bu SNP’lerin, dört adedi 5’UTR bölgesinde, bir tanesi 3’ UTR bölgesinde, beş tanesi ekzonda ve geri kalan 36 adedi de intronik bölgelerde belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada 3. intronda bulunan G+1705A SNP’nin her yaştaki vücut ağırlığı ve dört farklı yaşın üçündeki gövde uzunluk ölçümü ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu gözlenmiştir. Stephen ve ark. (2001) Çin yerli tavuklarında, Jafari ve ark. (2015) İran yerli tavuklarında büyüme hormonu geni polimorfizmini

çalışmışlar ve PCR-RFLP yöntemi ile çalıştıkları 1. intron bölgesinde genetik varyasyon tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmalar tavuklarda *BH* geninin polimorfik olduğunu da ortaya koymaktadır.

Huoyan kazlarının *BH* geninin 2. ekzonunu PCR-SSCP yöntemiyle inceleyen Zhang ve ark. (2014), iki farklı SNP ve 10 genotip (AA, BB, CC, DD, AB, AC, AD, BC, BD ve CD) tespit etmişlerdir. Çalışmalarında genotipler ile çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkileri inceleyen araştırmacılar bazı et üretim performansları ile genotipler arasındaki ilişkileri anlamlı bulmuşlar ve bu genotiplerin Huoyan kazı üretiminde belirteç destekli seleksiyonda aday gen olarak kullanılabilceğini ifade etmişlerdir.

Ördeklerde bu konuda yapılan araştırma sayısı oldukça sınırlıdır. Pekin ördeklerinin de içinde olduğu çeşitli ördek ırklarıyla yapılan çalışmalarda incelenen populasyonlarda *BH* geninin promotör bölgesinde ve diğer bazı bölgelerinde polimorfizm saptanmıştır (Kansaku ve ark., 2008; Wu ve ark., 2012; Hiyama ve ark., 2012; Wu ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2015; Mazurowski ve ark., 2015). Çeşitli ördek populasyonlarında yapılan çalışmalarda *BH* genindeki polimorfizmler ile ördeklerin döl verimi (Chang ve ark., 2012) karkas ağırlığı, büyüme ve karkas özellikleri (Wu ve ark., 2012), yumurtlama performansı (Wu ve ark., 2014), yumurta verimi (Zhang ve ark., 2015) ve bazı vücut özellikleri arasında güçlü ilişkiler olduğu ortaya konulmuştur. Benzer şekilde Hiyama ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada *BH* geninin promotör bölgesindeki varyasyonun, *BH*-mRNA'sı ekspresyon düzeyinin değişimine neden olarak yumurtlama performansını etkilediğini bildirmektedir.

Türkiye'de 2017 yılı itibarıyla ördek varlığı 492 bin olup, ördek yetiştiriciliği %31'lik bir pay ile en çok Batı Marmara Bölgesi'nde yapılmaktadır. Ortadoğu Anadolu Bölgesi (%11) ve Batı Karadeniz Bölgesi (%10) ördek sayısı en fazla olan diğer bölgelerdir. Türkiye'de en fazla ördek yetiştiriciliği yapılan il; %24 ile Balıkesir'dir. Ördek sayısı açısından; Muş (%8) ve Samsun (%6), Balıkesir'den sonra gelen en önemli illerdir (Anonim, 2018). 1984 yılında Türkiye'ye Çin'den getirilen Pekin ördekleri Antalya Kepez Su Ürünleri Üretme İstasyonu'nda çoğaltılarak, ülkenin her tarafına yayılmıştır. Buna bağlı olarak Tarım Bakanlığı üretim istasyonlarında ördek yetiştiriciliği başlatılmış ve üretilen palazlar çiftçilere dağıtılmıştır (Şekeroğlu ve Özen 1997).

Bu çalışmada Pekin ördeklerinde PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, ördek *BH* geninin bazı bölgelerindeki olası polimorfizmlerin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, mevcut populasyonda *BH* geni bakımından olası polimorfizmler incelenerek bu lokus bakımından yeterli genetik varyasyonun olup olmadığı da ortaya çıkarılacaktır. Varyasyonun yeterli bulunması halinde ise, daha sonra bu SNP (tek nükleotid polimorfizmi) belirteçleri ile çeşitli verimler arasındaki ilişkiler araştırılacaktır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve DNA Ekstraksiyonu

Bu çalışmada Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Çiftliğinde yetiştirilen 117 adet Pekin ördeğinden (79♀ ve 38♂) alınan 5-10 ml kan örneği materyal olarak kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu amacıyla kullanılan kan örnekleri, ördeklerin kanat altı toplardamarından (*vena cutena*) doğrudan antikoagulanlı (K3 EDTA'lı) vakumlu tüplere alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. DNA ekstraksiyonu yapılıncaya kadar kan örnekleri -20°C'de korunmuştur. DNA ekstraksiyonu Macherey Nagel NucleoSpin® Blood marka ticari kit yardımıyla, içeriğinde verilen ekstraksiyon yöntemi takip edilerek tamamlanmıştır.

2.2. PCR İle Hedef DNA Bölgelerinin Çoğaltılması

PCR aşamasında büyüme hormonu geninin 2. 3. ve 4. intronlarından üzerinde durulan hedef bölgelerin çoğaltılması amacıyla Wu ve ark. (2012) tarafından belirtilen üç farklı primer çifti kullanılmıştır (*Tablo 1*). PCR tüplerindeki toplam hacim 25µl olacak şekilde PCR reaksiyon karışımı hazırlanmıştır (12.5 µL 2XMaster Mix, 1.25 µL ileri ve geri primerlerin her birinden ve 1,25 µL genomik DNA'dan oluşan karışım ddH₂O ilave edilerek 25 µL hacime tamamlanmıştır).

Araştırmada 2., 3. ve 4. intronlarda yer alan hedef DNA bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan PCR işlemi koşulları 93°C'de 3 dakika, 94°C'de 1 dakika, X°C'de (her bir primer seti için önerilen erime ısısı, TM) 30 saniye (*Tablo 1*), 72°C'de 90 saniye 35 döngü ve son olarak 72°C'de 5 dakika olacak şekilde uygulanmıştır. PCR aşaması sonucunda hedef DNA bölgelerinin çoğaltılıp çoğaltılmadığı %1'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir.

Tablo 1. PCR ile çoğaltılan hedef gen bölgeleri ve kullanılan primerler (Wu ve ark., 2012)

Table 1. Target gene regions amplified by PCR and primers used (Wu ve ark., 2012)

Primer	Primer sırası(5'-3')	PCR ürünü	Hedef bölge	Tm (°C)
GHF1	GAGACGTACAAAGAGTTCG	765 bç	2. intron	53
GHR1	CTGGGAATTCTTGTGGTG			
GHF2	ACAGGGAAGGATGATGCC	442 bç	3. intron	56
GHR2	AGCCAGGACTGGATGAGAAC			
GHF3	TTTTGGCACCTCAGACAG	1378 bç	4. intron	58
GHR3	GGCGGCACTTCATCACCT			

2.3. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimiyle Kesimi

Büyüme hormonu geninin 2., 3. ve 4. intron bölgelerindeki allellerin belirlenmesi amacı ile gen bölgelerine ait PCR ürünleri *BsmF1* restriksiyon enzimi (Thermo Fisher Scientific) ile kesim işlemine tabi tutulmuştur. Restriksiyon enzimi ile kesim aşamasında PCR tüpleri içerisindeki hedef DNA bölgelerine özgü çoğaltılmış 25 µl hacmindeki PCR ürünlerinin 12,5 µl’lik kısmı üzerine 10,5 µl restriksiyon enzimi içeren bileşenler (170 µl ddH₂O + 30 µl CutSmart + 10 µl *BsmF1*) eklenmiştir. PCR sonucunda elde edilen *BH* geninin 2., 3. ve 4. intron bölgelerine ait ürünler restriksiyon enzimi ile birlikte 65°C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kesim işleminden sonra elde edilen DNA parçalarının ayrıştırılması için örnekler %2’lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. RFLP sonuçları ethidyum bromür ile boyanarak jel görüntüleme sisteminde UV ışık altında görüntülenmiştir.

2.4. İstatistik Analiz

BH geni bakımından allel gen frekanslarının ve genotip frekanslarının hesaplanmasında ve populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını kontrol edilmesinde populasyon genetiği analiz programı olan PopGene32 (PopGene version 1.31) programı kullanılmıştır (Yeh ve ark., 2000).

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

BH geninin 2. intron (765 bç) bölgesinde *BsmF1* enzimi kesimi sonucu üç genotip deseni beklenmektedir (Şekil 1a). Bu çalışmada *BH* geninin 2. intron bölgesinden çoğaltılan 765 bç uzunluğundaki hedef bölgenin *BsmF1* restriksiyon enzimi ile kesimi ile TT (765 bç), CT (765 bç + 593 bç + 172 bç) ve CC (593 bç + 172 bç) olmak üzere üç genotip elde edilmiştir (Şekil 1b).

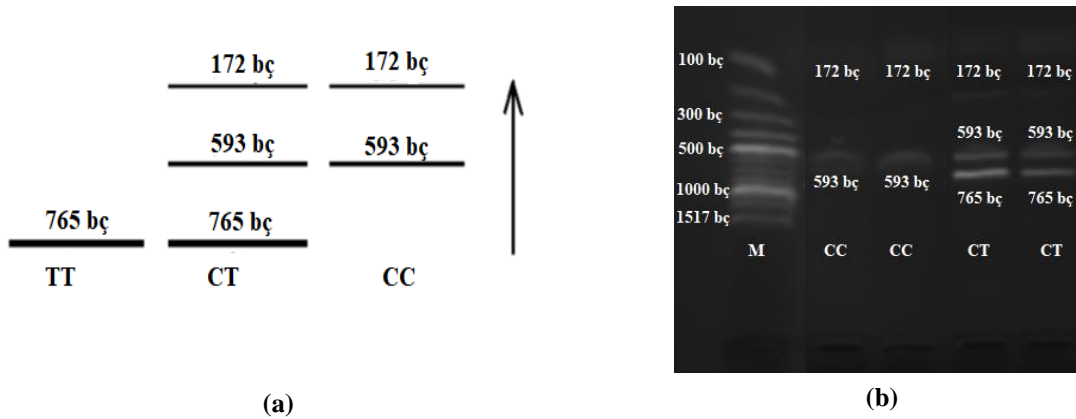


Figure 1. Expected genotypes and fragment lengths in 2nd intron after restriction enzyme cleavage(a) and *BsmF1* genotypes in the 2nd intron of the growth hormone gene(b)

Şekil 1. Restriksiyon enzimi kesimi sonucu 2. intronda beklenen genoipler ve parça uzunlukları(a) ve büyüme hormonu geni 2. intron bölgesindeki *BsmF1* genotipleri(b)

Büyüme hormonu geninin 2. intronundaki *BsmF1* genotiplerin beklenen ve gözlenen değerleri, gen frekansları ve khi-kare(χ^2) değeri Tablo 2’de verilmiştir. Bu çalışmada kullanılan 117 adet Pekin ördeği populasyonunda T allelinin frekansı (0.75), C allelinin frekansından (0.25) daha yüksek bulunmuştur (Tablo 2). TT genotip frekansı (0.55) ile CT (0.41) genotip frekansları nispeten birbirlerine yakın bulunurken, CC (0.04) genotipinin frekansı

oldukça düşük bulunmuştur. *BH* geni 2. intron bölgesinde gözlenen değerlerle beklenen değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli olmadığından ($P > 0.05$) ele alınan populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu gözlenmiştir.

Tablo 2. Büyüme hormonu geni 2. intron bölgesindeki genotiplerin beklenen ve gözlenen frekansları, allel frekansları ve P değerleri

Table 2. Expected and observed frequencies of genotypes in the 2nd intron region of the growth hormone gene, allele frequencies and P values

Cinsiyet	n	Genotip frekansları						P değeri	Allel frekansları	
		Gözlenen			Beklenen				T	C
		TT	CT	CC	TT	CT	CC			
♀	79	40 (0.51)	36 (0.45)	3 (0.04)	42.10 (0.533)	31.14 (0.394)	5.76 (0.073)	0.1506	0.73	0.27
♂	38	24 (0.63)	12 (0.32)	2 (0.05)	23.71 (0.624)	12.61 (0.332)	1.68 (0.044)	0.6921	0.79	0.21
♀♂	117	64 (0.55)	48 (0.41)	5 (0.04)	65.81 (0.563)	43.88 (0.375)	7.31 (0.062)	0.2975	0.75	0.25

Bu çalışmada Pekin ördeklerinde *BH* geninin 2., 3. ve 4. intron bölgelerinde, *BsmF1* genotipleri bakımından olası polimorfizmler incelenmiştir. *BH* genin 3. ve 4. intronlarına ait sırasıyla 442 bç ve 1378 bç'lik bölgelere ait PCR ürünleri de *BsmF1* restriksiyon enzimi ile muamele edilmiş, ancak bu enzime ait kesim bölgesine rastlanmamış ve bu nedenle üzerinde çalışılan populasyonda 3.ve 4. intronda tek tip genotip elde edilmiştir. Dolayısıyla bu iki bölgenin *BsmF1* lokusu bakımından monomorfik olduğu anlaşılmıştır.

İncelenen kaynaklarda ördek *BH* geninin 2., 3. ve 4. intron bölgesindeki *BsmF1* polimorfizmlerinin tanımlanmasına yönelik karşılaştırılabilir oldukça az çalışma olduğu görülmüştür. Bununla birlikte bu çalışmadan elde edilen *BH* genine yönelik sonuçlar Wu ve ark. (2012) ve Mazurowski ve ark. (2015) yaptıkları çalışmalar ile karşılaştırılabilir. Bu çalışmalarda kullanılan toplam 7 ördek populasyonundan elde edilen allel frekansları bu çalışmadan elde edilen frekanslardan farklılık göstermektedir. Farklı ördek populasyonlarında elde edilen farklı genotipik dağılım genellikle bu populasyonların genetik geçmişine dayandırılmaktadır (Wang ve ark., 2011).

Wu ve ark. (2012) üç farklı ördek ırkı ile yaptıkları çalışmada *BH* geninin 3. ve 4. intron bölgelerinde bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmişler ve 3. ve 4. intron bölgelerinde *BsmF1* enzime ait kesim bölgesi bulamamışlar ve tek tip genotip gözlemişlerdir. Bununla birlikte *BH* geninin 2. intron bölgesi ile de çalışan araştırmacılar bu bölgede *BsmF1* restriksiyon enzimi sonucu bu çalışmada olduğu gibi TT, CT ve CC olmak üzere 3 genotip tespit etmişlerdir. Çalıştıkları üç ırkta da T allelinin yaygın olduğunu belirten araştırmacılar T alleli frekansını 0,4868-0,6596 aralığında bulmuşlardır. Araştırmacılar, çalışılan populasyonda *BH* geninin 2. intron bölgesindeki *BsmF1* tanıma bölgesinin seleksiyona olanak verecek düzeyde polimorfizm gösterdiğini ve bu nedenle de çeşitli verimler ile ilişkisinin incelenmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Mazurowski ve ark. (2015) Pekin ördeğinin de dahil olduğu 4 farklı ördek ırkında *BH* geninin 2. intron bölgesi ile yaptıkları çalışmalarında PCR-RFLP yöntemiyle *BsmF1* genotiplerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada Muscovy ırkının iki farklı hattında C alleli frekansı 1 ve 0.944 olarak bulunmuştur. Mullard ve Pekin ördeği ırklarında ise T alleli frekansı sırasıyla 0.82 ve 0.47 olarak hesaplanmıştır.

Kanatlı hayvanlarda verim özellikleri *BH* geni gibi çevre koşullarından çokça etkilenen kantitatif bir özelliktir. Bu nedenle *BH* gen polimorfizmi tavuk (Zhang ve ark., 2007), bıldırcın (Johari ve ark., 2013), kaz (Zhao ve ark., 2011) ve ördek (Wu ve ark., 2012; Mazurowski ve ark., 2015) gibi çeşitli kanatlı türlerinde çalışılmıştır. Bu kanatlı türlerinde *BH* geninin DNA sırasında yüksek derecede polimorfik olduğu saptanmıştır. Örneğin Chang ve ark. (2012) ördek *BH* geninin 2087 bç'lik bölgesinde 19 SNP tespit etmişler ve her bir SNP'nin en az bir ördek döl verimi özelliği ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Mazurowski ve ark. (2015), ördek *BH* geninin 2. intronundaki bazı SNP'lerin büyüme ve karkas özelliklerini etkilediklerini bildirmişlerdir.

Ancak farklı kanatlı türlerinde *BH* geni 3. ve 4. intronlarının da aralarında olduğu çeşitli gen bölgelerinin polimorfik olduğu bildirilmiştir. Çeşitli araştırmacılar tarafından genellikle tavuklarda 1. intronda, kaz ve tavuklarda 3. intron'da, tavuklarda 4. intron'da polimorfizm gözlenmiştir (Nie ve ark. 2002; Zhang ve ark. 2007; Wu ve ark.,

2012; Ghelghachi ve ark., 2013). Hiyama ve ark. (2012) Myanmar ördekleri *BH* geni promotor bölgesinde yaptıkları çalışmada tespit ettikleri varyasyonların çoğunun tavuk ve hindilerin promotor bölgesi ile benzer diziler taşıdığını tespit etmişlerdir. Kansaku ve ark. (2008) ördeklere *BH* geni promotorunun distal bölgesinin tavuk ve hindi promotor bölgesi ile benzerlik göstermemesine rağmen proksimal bölgesinin benzerlik gösterdiğini saptamışlardır.

Genel olarak ördek büyüme hormonu geni yapısal olarak tavuk büyüme hormonu genine benzerdir. Tavuklarda yapılan *BH* geni bölgeleri de dikkate alınarak ördeklere de *BH* geni çalışmaları artırılmalı ve ekonomik verim özellikleri ile ilişkilendirilmelidir. Ördek ırklarında bu bölgelerin ele alındığı çalışma sayısının nispeten az olduğu ve artırılması gerektiği açık olarak görülmektedir.

4. Sonuç

Araştırılan kaynaklarda ördek populasyonlarında *BH* geninin 2. intron bölgesinde PCR-RFLP yöntemiyle belirlenen polimorfik bölge hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu araştırma Türkiye’de Pekin ördeklerinde büyüme hormonu geni polimorfizmine yönelik bilinen ilk çalışma olması nedeniyle önemli olup, bu konuda yapılan çalışmalara da katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ve daha önce yapılan ve literatürde verilen sonuçlara dayanarak, *BH* geninin 2. intron bölgesinde yüksek derecede polimorfizm olduğunu söylemek mümkündür. Bu polimorfik bölgenin büyüme ve karkas özellikleri ile bazı biyometrik özellikler üzerine olan etkileri bütüncül olarak ele alındığında ilgili SNP bölgesinin bu özellikler için önemli bir moleküler belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu ve önceki çalışmalarda büyüme hormonu geninin 2. intron bölgesinde gösterilen genotipik varyasyon, bu bölge ile çeşitli verimler arasındaki ilişkileri konu alan daha çok çalışma yapılmasının gerekliliğini de ortaya koymaktadır.

Kaynakça

- Anonim, (2018). Tarım ve Orman Bakanlığı, TAGEM, Ar-Ge İnovasyon, Kanatlı hayvancılık sektör politika belgesi 2018-2022. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Kanatli%20Hayvanc%C4%B1%20Sekt%C3%B6r%20Politika%20Belgesi%202018-2022.pdf> (Erişim tarihi:31/05/2022)
- Barta, A., Richards, R.I., Baxter, J.D., Shine, J. (1981). Primary structure and evolution of rat growth hormone gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(8) 4867-4871.
- Bauman, D.E. (1999). Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. *Domestic Animal Endocrinology*, 17(2-3): 101-116.
- Bhattacharya, T.K., Chatterjee, R.N. (2013). Polymorphism of the myostatin gene and its association with growth traits in chicken. *Poultry Science*, 92(4): 910-915.
- Byrne, C.R., Wilson, B.W., Ward, K.A. (1987). The isolation and characterization of the ovine growth hormone gene. *Australian Journal of Biological Sciences*, 40(4): 459-468.
- Chang, M., Cheng, Y., Huang, M. (2012). The SNP genotypes of growth hormone gene associated with reproductive traits in Tsaiya Ducks. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(4): 568–573.
- Das, P., Meyer, L., Seyfert, H.M., Brockmann, G., Schwerin, M. (1996). Structure of the growth hormone-encoding gene and its promoter in mice. *Gene*, 169(2): 209-213.
- Dettori, M.L. Pazzola, M., Pira, E., Paschino, P., Vacca, G.M. (2015). The sheep growth hormone gene polymorphism and its effects on milk traits. *Journal of Dairy Research*, 82(2):169-176.
- Du, S.J., Devlin, R.H., Hew, C.L. (1993). Genomic structure of growth hormone genes in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): presence of two functional genes, GH-I and GH-II, and a male-specific pseudogene, GH-psi. *DNA and Cell Biology*, 12(8): 739-751.
- Gala, R.R. (1991). Prolactin and growth hormone in the regulation of the immune system. *Experimental Biology and Medicine*, 198(1):513-527.
- Ge, X., Yu, J., Jiang, H. (2012). Growth hormone stimulates protein synthesis in bovine skeletal muscles cells without altering insulin-like growth factor-I mRNA expression. *Journal of Animal Sciences*, 90(4): 1126-1133.
- Ghelghachi, A.A., Reza, S.H., Lak, A. (2013). Association of growth hormone gene polymorphism with growth and fatness traits in Arian broilers. *International Journal of Biosciences*, 3(12): 216-220.
- Hiyama, G., Okabayashi, H., Kansaku, N., Tanaka, K. (2012). Genetic variation in the growth hormone promoter region of *Anas platyrhynchos*, a duck native to Myanmar. *Journal of Poultry Sciences*, 49(4): 245-248.
- Huang, Y.Z., He, H., Zhang, Z.Y., Sun, Y.J., Li, M.X., Lan, X.Y., Leic, Z., Zhang, C.L., Chen, H. (2013). Relationship of polymorphisms within ZBED6 gene and growth traits in beef cattle. *Gene*, 526(2): 107-111.
- Hull, K.L., Harvey, S. (2001). Growth hormone: roles in female reproduction. *Journal of Endocrinology*, 168(1): 1-23.
- Jafari, A., Pakdel, A., Esmailkhanian, S. (2015). Growth hormone gene polymorphism in two Iranian Native Fowls (Short Communication). *Poultry Science Journal*, 3 (1): 99-104.
- Jing, L.I., Ran, X.-Q., Wang, J.F. (2006). Identification and function of the growth hormone gene in Rongjiang pig of China. *Acta Physiologica Sinica*, 58(3): 217-224.
- Johari, S., Setiati, N., Sidadolog, J.H.P., Hartatik, T., Yuwanta, T. (2013). The gene effect of growth hormone on body weight and egg production in divergent selection for five generation of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *International Journal of Poultry Science*, 12(8): 489-494.
- Kansaku, N., Nakada, A., Okabayashi, H., Guemene, D., Kuhnlein, U., Zadworny, D., Shimada, K. (2003). DNA polymorphism in the chicken growth hormone gene: Association with egg production. *Animal Science Journal.*, 74(3):243-244.
- Kansaku, N., Soma, A., Furukawa, S., Hiyama, G., Okabayashii, H., Guemene, D., Kühnlein, U., Zadworny, D. (2008). Sequence of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) growth hormone-encoding gene and genetic variation in the promoter region. *Animal Science Journal*, 79(2): 163-170.
- Kuhnlein, U., Ni, L., Weigend, S., Gavora, J.S., Fairfull, W., Zadworny, D. (1997). DNA polymorphisms in the chicken growth hormone gene: Response to selection for disease resistance and association with egg production. *Animal Genetics*, 28(2): 116-123.
- Lucy, M.C., Hauser, S.D., Eppard, P.J., Krivi, G.G., Clark, J.H., Bauman, D.E., Collier, R.J. (1993). Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 10(4):325-333.
- Malveiro, E., Pereira, M., Marques, P.X., Santos, I.C., Belo, C., Renaville, R., Cravador, A. (2001). Polymorphisms at the five exons of the growth hormone gene in the algarvia goat: possible association with milk traits. *Small Ruminant Research*, 41(2): 163-170.
- Mazurowski, A., Frieske, A., Kokoszynski, D., Mroczkowski, S., Bernacki, Z., Wilkanowska, A. (2015). Examination of growth hormone (GH) gene polymorphism and its association with body weight and selected body dimensions in ducks. *Folia Biologica (Kraków)*, 63(1): 43-50.
-

- Nie, Q., Ip, S.C.Y., Zhang, X., Leung, F.C., Yang, G. (2002). New variations in intron 4 of growth hormone gene in Chinese Native Chickens. *Journal of Heredity*, 93(4): 277-279.
- Nie, Q., Sun, B., Zhang, D., Luo, C., Ishag, N.A., Lei, M., Yang, G., Zhang, X. (2005). High diversity of the chicken growth hormone gene and effects on growth and carcass traits. *Journal of Heredity*, 96(6):698–703.
- Ohlsson, C., Bengtsson, B.A., Isaksson, O.G., Adreassen, T.T., Słotweg, M.C. (1998). Growth hormone and bone. *Endocrine Reviews*, 19(1): 55-79.
- Sheng-Wai, X., Wen-Bin, B., Jun, H., Jun-Hua, C., Jing-Ting, S., Gua-Hong, C. (2007). Polymorphic analysis of intron 2 and 3 of growth hormone gene in duck. *Hereditas (Beijing)*, 29(4): 438-442.
- Soysal, M.İ., Kök, S., Gürcan, E.K. (2005). An Investigation on the distribution in erythrocytes potassium polymorphisms in buffaloes. *Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty*. 2(2):189-193.
- Stephen, C.Y., Zhang, X., Leung, F. (2001). Genomic growth hormone gene polymorphisms in native Chinese chickens. *Experimental Biology and Medicine*, 226(5):458-462.
- Supakorn, C., Pralomkarn, W. (2013). Genetic polymorphisms of growth hormone (GH), insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and diacylglycerol acyltransferase 2 (DGAT-2) genes and their effect on birth weight and weaning weight in goats. *Philippine Agricultural Scientist*, 96(1): 18-25.
- Şekeroğlu, A., Özen, N. (1997). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı üretim istasyonlarında kanatlı hayvan yetiştiriciliği. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10:336-344.
- Tanaka, M., Hosokawa, Y., Watahiki, M., Nakashima, K. (1992). Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. *Gene*, 112(2): 235-239.
- Wang, C., Liang Z., Yu, W., Feng, Y., Peng, X., Gong, Y., Li, S. (2011). Polymorphism of the prolactin gene and its association with egg production traits in native Chinese ducks. *South African Journal of Animal Science*, 41(1): 63-69.
- Woychik, R.P., Camper, S.A., Lyons, R.H., Horowitz, S., Goodwin, E.C., Rottman, F.M. (1982). Cloning and nucleotide sequencing of the bovine growth hormone gene. *Nucleic Acids Research*, 10(22): 7197-7210.
- Wu, Y., Pan, A.L., Pi, J.S., Pu, Y.J., Du, J.P., Liang, Z.H., Shen, J. (2012). One novel SNP of growth hormone gene and its associations with growth and carcass traits in ducks. *Molecular Biology Reports*, 39(8):8027–8033.
- Wu, X., Yan, M.J., Lian, S.Y., Liu, X.T., Li, A. (2014). GH gene polymorphisms and expression associated with egg laying in Muscovy ducks (*Cairina moschata*). *Hereditas*, 151(1): 14–19.
- Yeh, F., Yang, R.C., Boyle, T. (2000). Popgene (v.1.32), Microsoft Windows-based freeware for Population Genetic analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe>
- Zhang, X.L., Jiang, X., Liu, Y.P., Du, H.R., Zhu, Q. (2007). Identification of AVal polymorphisms in the third intron of GH gene and their associations with abdominal fat in chickens. *Poultry Science*, 86(6): 1079–1083.
- Zhang, Y., Zhu, Z., Xu, Q., Chen, G. (2014). Association of polymorphisms of exon 2 of the growth hormone gene with production performance in Huoyan goose. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(1): 670-683.
- Zhang, D.X., Xu, Z.Q., He, J., Ji, C.L., Zhang, Y., Zhang, X.Q. (2015). Polymorphisms in the 5'-flanking regions of the GH, PRL and Pit-1 genes with Muscovy duck egg production. *Journal of Animal Science*, 93(1): 28-34.
- Zhao, W.M., Zhao, R.X., Qiao, N., Xu, Q., Huang, Z.Y., Li, X., Zhang, Y., Chen, G.H. (2011). Association of GH polymorphisms with growth traits in goose. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(6): 692-697.