



## ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article  
19(2), 107-112, 2022  
DOI: 10.32707/ercivet.1142567

### Denizli ve Gerze Yerli Tavuk Irklarında TVB Lokusundaki Polimorfizmlerin Araştırılması\*\*\*

Dilan Deniz İLHAN<sup>1a</sup>, Muhammet KAYA<sup>\*1b</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Eskişehir-TÜRKİYE  
ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-3428-1854; <sup>b</sup>0000-0001-6474-121X

**Corresponding author:** Muhammet KAYA; E-posta: muhammetkaya@ogu.edu.tr

**How to cite:** İlhan DD, Kaya M. Denizli ve Gerze yerli tavuk ırkları TVB lokusundaki polimorfizmlerin araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 107-112

**Öz:** Avian leukosis virusleri (ALV), tavuklarda tümör oluşturan retrovirüslerdir ve bu virüslere karşı henüz bir aşı geliştirilememiştir. Tümör viral B (TVB) lokusu ALV üç alt grubunun viral girişine ortam sağlayan, engelleyen veya aracı olan gruplara özgü yüzey reseptörlerini kodlar. Bu lokusun 172. ve 184. bazlarında iki adet tek nükleotid polimorfizmleri TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R allellerinin ayırt edilmesine imkân sağlar. TVB\*S1; ALVB, ALVD ve ALVE üç alt viral girişini destekleyen reseptörleri kodlar. TVB\*S3; ALVB ve ALVD alt gruplarının hücreye viral girişini sağlayan reseptörleri kodlar. TVB\*R'nin kodladığı reseptör ise ALVB, ALVD ve ALVE alt gruplarının hücreye viral girişini engeller. Yapılan bu çalışmanın amacı, Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze tavuklarında bazı ALV alttıplerine karşı dirençlilik gösteren TVB\*R' allelinin varlığı ve TVB\*S' alleli ile olası mutasyonlar DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak araştırmaktır. Tarım ve Orman Bakanlığı, Denizli İli, Denizli Horozu Üretim İstasyonu'nda yetiştirilen, Denizli ırkına ait dört varyeteden 148 ve Gerze İlçe Müdürlüğü'ne ait kümeste yetiştirilen, Gerze tavuklarından 27 olmak üzere toplam 175 tavuğa ait kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Tavuk kan örneklerinden gDNA izole edilmiştir. 175 örnek içinden iki örneğin TVB\*S1/R, üç örneğin TVB\*S1/S3, dört örneğin ise TVB\*S1/S' genotipte olduğu, diğerlerinin TVB\*S1/S1 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Denizli ve Gerze popülasyonlarında tespit edilen TVB allellerinin frekansları sırasıyla TVB\*S1 için 0.9730, 0.9815 ve TVB\*R için 0.0034, 0.0185 olarak hesaplanmıştır. Gerze popülasyonunda TVB\*S3 ve TVB\*S' allellerinin bulunmadığı, Denizli popülasyonunda bulunan TVB\*S3 ve TVB\*S' allellerinin frekansları ise sırasıyla 0.0101 ve 0.0135 olarak hesaplanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Denizli horozu, DNA dizi analizi, Gerze tavuğu, TVB lokusu

#### Investigation of the TVB Locus Polymorphisms at Denizli and Gerze Native Chicken Breeds

**Abstract:** Avian leukosis viruses (ALV) are tumor-forming retroviruses in chickens and no vaccine has yet been developed against these viruses. The tumor viral B (TVB) locus encodes the surface receptors specific to groups that inhibit or mediate the viral input of the three subgroups of ALV. Two single nucleotide polymorphisms on bases 172 and 184 of this locus allow the differentiation of TVB\*S1, TVB\*S3, and TVB\*R alleles. TVB\*S1 encodes the ALVB, ALVD, and ALVE receptors that support three sub-viral inputs. TVB\*S3 encodes receptors that provide the viral input of the ALVB and ALVD subgroups into the cell. The receptor encoded by TVB\*R inhibits the viral introduction of ALVB, ALVD, and, ALVE subgroup into the cell. The aim of this study is to investigate the presence of the TVB\*R' allele showing resistance to some ALV subtypes, TVB\*S' allele and, possible mutations using DNA sequence analysis method in native Turkish chicken breeds, Denizli and Gerze. A total of 175 chicken samples, from four varieties of Denizli (n=148), reared in Denizli Rooster Production Station of Denizli Provincial Directorate and Gerze (n=27) reared in Gerze District Agriculture Directorate of Agriculture and Forest Ministry were used. Genomic DNA was isolated from blood samples taken from chickens. Among the 175 chickens, only two hens were typed as TVB\*S1/R genotype, three chickens were typed as TVB\*S1/S3, four chickens were typed as TVB\*S1/S' and others were homozygous for TVB\*S1/S1. The frequencies of TVB alleles detected in Denizli and Gerze populations were calculated as 0.9730, 0.9815 for TVB\*S1, and 0.0034 and 0.0185 for TVB\*R, respectively. TVB\*S3 and TVB\*S' alleles were not found in the Gerze population, and the frequencies of TVB\*S3 and TVB\*S' alleles in the Denizli population were calculated as 0.0101 and 0.0135, respectively.

**Keywords:** Denizli cocks, DNA sequencing, Gerze fowls, TVB locus

#### Giriş

Türkiye'de artan nüfus ve gelirle birlikte kırmızı et üretiminde yaşanan istikrarsızlık ve kırmızı et fiyatla-

rında süregelen artışlardan dolayı tavuk eti tercih edilmektedir. Bununla birlikte tavuk ürünlerinin ucuz olması, insanların sağlıklı beslenmeye olan ilgisinin artması, beyaz et üretiminin iş gücü gereksiniminin az olması, yılın her döneminde üretimin sürdürülebilir olması son yıllarda beyaz et üretiminde büyük bir artışa sebep olmuştur (Türkoğlu ve ark., 2018). Türkiye'de 1990 yılında 217 milyon ton olan beyaz et üretiminin 2020 yılında 2 milyar 136 milyon tona, 1990 yılında 7

*Geliş Tarihi/Submission Date* : 16.11.2021

*Kabul Tarihi/Accepted Date* : 26.02.2022

\*5. International Agriculture Congress'te (21-24 Ağustos 2019- İstanbul) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

\*\*Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi BAP tarafından 201823A118 (Proje Koordinatörü: M. Kaya) numaralı araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Bu çalışma Dilan Deniz İlhan'ın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

milyar 668 milyon adet olan yumurta üretiminin 2020 yılında 19 milyar 788 milyon adete yükseldiği görülmektedir (TÜİK, 2021). Tavukçulukta özellikle son 50-60 yıldır sürdürülen genetik ve çevresel ıslah çalışmalarının sonucunda, kanatlı sektöründe çok önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Genetik, ıslah, biyoteknoloji, yem ve yem katkı maddelerinin üretimi, kesimhane ve ileri işletme endüstrisi, ekipman sanayi, yumurta ve yumurta ürünleri endüstrisi, kuluçkacılık, sağlık koruma, ilaç ve aşı endüstrisi, pazarlama, muhafaza ile yetiştirme sistemlerindeki hızlı gelişmeler sayesinde tavukçuluk sektörü üretimden tüketime kadar ilgili alanların da etkisiyle bir endüstri kolu durumundadır (Türkoğlu ve ark., 2018). Türkiye’de yerli gen kaynağı olarak koruma altına alınan Denizli ve Gerze ırkları olmak üzere iki yerli tavuk ırkı vardır. Türkiye’nin yerli ırklarından biri olan Gerze ırkı Karadeniz Bölgesinde Sinop ili çevresinde, Gerze ilçesinde yetiştirilen yerli bir yumurta-et ırkıdır. Yetiştirilen diğer yerli ırk ise Denizli ırkı olup Denizli ve Muğla illeri çevresinde yetiştirilen yerli bir yumurtacı-et ırkıdır (Kaya ve Yıldız, 2014).

Kanatlı lökozu/sarkom grubunun virüsleri, Retroviridae familyasının Alpharetrovirus cinsi içinde yer alır. Bu virüs ailesinin üyeleri, virüs replikasyonu sırasında konakçı genomuna entegre edilmiş bir DNA provirus oluşumu için gerekli olan ters transkriptaz enzimine sahip olma özelliği ile karakterize edilen RNA virüsleridir. Taksonomide, kanatlı lökozu virüsü (Avian Leucosis Virus-ALV), Alpharetrovirus cinsinin türüdür. ALV kaynaklı hastalıklar önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. ALV tümör mortalitesi ve azalan verim nedeniyle ekonomik kayıpların her yıl milyonlarca ABD doları olduğu tahmin edilmektedir (Morgan ve ark., 2001; Garcia-Camacho ve ark., 2003). 2008 yılında Çin’de milyarlarca dolarlık bir maliyetle (Zhang ve ark., 2020), ALV için Ulusal Eradikasyon Programının başlatılması sayesinde, ticari beyaz tüylü piliçlerde ve yumurtacı tavuklarda ALV salgını azaltılmış olmakla beraber, yerel ticari tavuklarda ALV-J’nin enfeksiyonu ve ilişkili klinik sorunları hala devam etmektedir (Wang ve ark., 2021). 2018 yılında Çin’in altı eyaletinde başlayan ALV-J salgınında tavuk sürülerinde ölüm oranı %15’lere ulaşmıştır (Zhou ve ark., 2018). ALV’ler verim kaybına neden olmakla kalmayıp, bulaşıcı olma özelliğiyle de nesilden nesile aktarılıp yayılım göstermektedir. Tavuklarda ALV kaynaklı hastalıkların ölüm oranı %5-40 arasındadır. Ölüm oranlarındaki artışlar, yalnızca yeterli olmayan ortam koşullarına bağlı olmayıp, aynı zamanda hayvanların genetik yapısından da kaynaklanabilmektedir. Buna karşılık bazı yumurtacı soy veya hatların ALV hastalığına karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir. ALV enfeksiyonlarından kaynaklı tavuklarda yaşama oranı, canlı ağırlık, yumurta sayısı ve ağırlığı, kuluçka verimi, dönlülük ve cinsi olgunluk yaşını etkilediğinden önemli ölçüde ekonomik kayıplara ve bulaşmayı engellemek için sürülerde ALV’ye dirençli genotiplerin belirlenme-

si önemlidir (Yu ve ark., 2012).

Avian Leukosis Virus reseptör kullanımına, konakçı durumuna ve enfeksiyon ile etkileşim durumuna göre tanımlanmış altı ana gruba ayrılmıştır (Zhang ve ark., 2005). Bu alt gruplardan beşi eksojen (ALVA’dan ALVD’ ya kadar ve ALVJ), diğer alt grup olan ALVE ise endojen kanatlı virüsüdür. Enfeksiyöz virüs partikülleri olarak bulaşma gösteren ALV’lere eksojen virüsler adı verilir. Endojen virüsler ise genetik materyal olarak tavuğun kendi genomunda bulunarak bulaşma gösterir. Eksojen virüsler sadece somatik hücrelerde yayılırken, endojen retrovirüsler ise konağın germ hattı hücrelerini enfekte ederek konakçı genomuna stabil bir şekilde entegre olduktan sonra genomun geri kalanıyla birlikte Mendel tarzında kalıtım gösterdiği belirlenmiştir (Nair ve Fadly, 2013).

ALV alt gruplarının konakçı hücrelere viral girişini engelleyen veya aracı olan ve gruplara özgü yüzey reseptörlerini kodlayan sorumlu dört tane otozomal tümör viral (TV) lokusu belirlenmiştir. TVA, TVC ve TVJ sırasıyla ALV-A, ALV-C ve ALV-J virüsleri için hücresele reseptörleri kodlar (Mason, 2017). Farklı ALV alt tiplerinin konakçı hücrelerine gireceği reseptörleri kodlayan TVA, TVB ve TVC lokuslarındaki bazı alleller kodladığı reseptörler ile virüslerin hücreye girişine izin vermediğinden bu allellere genetik direnç allelleri denir ve “R” ile gösterilirler. Farklı alt grupların viral girişini sağlayan çeşitli reseptörlerin kodlandığı allellerin bulunduğu lokus olmasından dolayı TVB kompleks bir lokustur (Klucking ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2005) ve tavuğun 22. kromozomu üzerinde bulunur (Smith ve Cheng, 1998). TVB lokusu üç farklı alleli (TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R) transkribe eder. TVB\*S1 ALVB, ALVD ve ALVE’nin viral girişini destekleyen reseptörleri kodlar. TVB\*S3, ALVB ve ALVD alt gruplarının hücreye viral girişini sağlayan reseptörleri kodlar. TVB\*R alleli ise DNA dizilimi içindeki erken bir stop kodonu nedeniyle eksik bir reseptörü kodlar. Bununla birlikte TVB\*R’nin kodladığı reseptör ALVB, ALVD ve ALVE alt gruplarının hücreye viral girişini engellemektedir (Barnard ve Young, 2003). Literatürde TVB geninin cDNA 184. bazında tespit edilen (T→A) mutasyonu TVB\*R’ (Yang ve ark., 2011) olarak adlandırılmıştır. Çin yerli tavuk ırkları TVB lokuslarının belirlenmesi için yapılan çalışmada TVB geninin cDNA 184. bazında yeni bir mutasyon tespit edilmiştir (G→T) ve TVB\*S’ olarak adlandırılmıştır (Yu ve ark., 2012).

Farklı reseptörleri kodlayan TVB allellerin cDNA dizileri klonlanarak dizi analizleri yapılmıştır. Genbank’ın AF161713, AF161712 ve AF507016.1 katılım numaralarına dayanarak 172. (C/T) ve 184. (T/A) bazlarında iki adet SNP (tek nükleotid polimorfizmi) tespit edilmiş ve buna göre TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R allellerini moleküler olarak ayırt etmek mümkün olmuştur. (Brojatsch ve ark., 1996; Adkins ve ark., 2001; Klucking ve ark., 2002). Bu dizilim verilerine

dayanarak (Zhang ve ark., 2005) yaptıkları çalışma ile tavuklardaki bütün TVB genotiplerini ayırt edebilmek için her iki SNP'i kullanarak bir polimeraz zincir reaksiyonu-kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi geliştirerek valide etmişlerdir. Daha sonra TVB genotiplerini ayırt etmek için DNA sekanslama ve pyrosekanslama analizlerini geliştirmişlerdir (Zhang ve ark., 2007). Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze tavuklarındaki TVB genotiplerini belirlemek için PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada hem Gerze hem de Denizli ırkında, TVB\*S1 alleli yaygın ve TVB\*S3 alleli nadir olarak görülmüştür. TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R'nin allel frekansları sırasıyla Gerze popülasyonlarında 0.96, 0.02 ve 0.02, Denizli popülasyonlarında sırasıyla 0.98, 0.02 ve 0.00 olarak hesaplanmıştır (Kaya, 2018).

Yapılan bu çalışmanın amacı, Tarım ve Orman Bakanlığı (TOB) tarafından uzun zamandır koruma altında yetiştirilen Denizli ve Gerze popülasyonlarında bazı ALV alttıplerine karşı dirençlilik gösteren TVB\*R' allelinin varlığı ve TVB\*S' alleli ile TVB lokusu 3. eksonundaki olası mutasyonlar DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak araştırmaktır. Elde edilen sonuçların Türkiye yerli tavuk ırklarının moleküler karakterizasyonuna katkı sağlaması ve korunması çalışmalarına yol göstermesi hedeflenmiştir.

## Gereç ve Yöntem

### Hayvan materyali

Hayvanlar üzerinde yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.11.2014 tarih ve 419-1 sayılı kararı doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. TOB Denizli İl Müdürlüğü Denizli Horozu Üretim İstasyonu (Denizli) Denizli ırkının mevcut dört farklı tipinin horoz ve tavuklarından 148, Gerze İlçe Müdürlüğü Gerze Tavuğu Üretim İstasyonu'nda (Sinop) Gerze ırkına ait 27 horoz ve tavuklarından (popülasyonun tüm mevcudundan) olmak üzere toplam 175 tavuktan alınan kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır.

### Yöntem

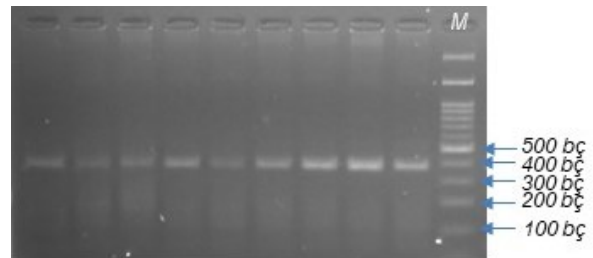
Laboratuvara soğuk zincir altında ulaştırılan kan örneklerinden salting out yöntemi (Meydan, 2007) ile saflaştırılan gDNA'lar ddH<sub>2</sub>O ile çözdürülerek PCR çalışmaları yapılana kadar -20°C de saklanmıştır. Araştırmada, literatürde TVB geni 3. eksonunda mutasyonlarının belirlendiği 385 bç'lik bölgesinin çoğaltılması amacıyla hazırlanan (Laboratuvarımızda M. Kaya tarafından Amplify 4 programı kullanılarak dizayn edilmiştir) primerler (F: 5' ATG AAC TCA TAC TTC TTT CCA TTC C 3'; R: 5' ATG CAC CCA AAC CCT CCC AGT CC 3') kullanılarak DNA örnekleri PCR ile amplifiye edilmiştir. PCR karışımı, 50 µl toplam hacim içerisinde 1 U Taq DNA Polimeraz (Fermentas), 10X PCR tamponu (500 mM Tris-HCl,

500 Mm KCl, pH. 8,8), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTP (Fermentas), ileri ve geri primerlerinin her birinden 5 pmol ve 3 µl DNA (50-100 ng) içerecek şekilde hazırlanmıştır. PCR şartları; 94°C'de 5 dakika ön denatürasyon ve 35 döngü olacak şekilde 94°C'de 1 dk denatürasyon, 60°C'de 1 dk primerlerin eşleşmesi, 72°C'de 1 dk uzama (extension) aşaması ve son olarak, 72°C'de 10 dakikalık son uzama olacak şekilde uygulanmıştır. PCR ürünleri görüntülenmesinde %2'lik agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jel, Safeview (ABM, Kanada) ile boyandıktan sonra UV ışık altında görüntülenerek PCR ürünlerinin büyüklükleri belirlenmiştir.

PCR ürünlerinin temizliği ve DNA dizileme uygulamaları hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. 385 bç büyüklüğündeki PCR ürünlerinin DNA sekans analizi yapılması için öncelikle PCR karışımında bulunan dNTP ve primer artıkları ile istenmeyen moleküller PCR clean-up kiti (Macherey-Nagel, 740609.50, Almanya,) kullanılarak temizlenmiştir. Örneklerin çift yönlü DNA dizi analizleri BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, 4337455, Foster City, CA, ABD) adlı ticari kit prosedürüne uygun olarak ABI 3500 cihazında yapılmıştır. DNA sekansları MEGA-X programı (Kumar ve ark., 2018) ile analiz edilmiştir. Dizi analizi sonuçlarına göre çalışmadaki örneklerin sahip olduğu TVB lokusu 172. ve 184. nükleotitlerine göre tüm materyalin genotipleri Zhang ve ark. (2007) ile Yu ve ark. (2012)'e göre tespit edilmiştir. Gen frekansları hesaplanırken PopGene (Yeh ve ark., 1997) programından faydalanılmıştır.

## Bulgular

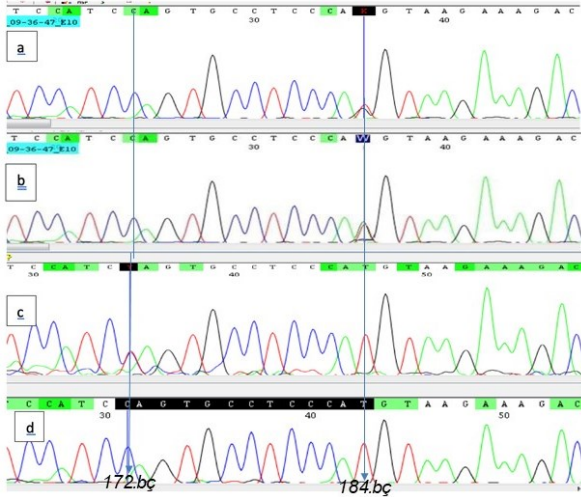
Denizli ve Gerze ırkının horoz ve tavuklarından alınan kan numunelerinden salting out yöntemi ile elde edilen genomik DNA örnekleri agaroz jelde kontrol edilmiştir. Örnek DNA'ları ile yapılan PCR uygulama sonrası 385 bç uzunluğunda PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edildikten (Şekil 1) sonra DNA dizi analizi yapılmıştır.



Şekil 1. PCR uygulamasında elde edilen 385 bç'lik PCR ürünlerinin görünümü (M: DNA ladder, 100 bç; bç: baz çifti).

Yürütülen çalışma sonucunda farklı TVB genotiplerine sahip örneklerin TVB lokusunda 172. ve 184. nükleotitlerini gösteren örnek DNA dizileri Şekil 2'de gösterilmiştir. Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze popülasyonlarını temsilen 175 tavuk üzerinde yürütülen araştırma sonucunda dört örnekte TVB

lokusu 172. SNP noktasında C/C, 184. SNP noktasında G/T nükleotitleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, Türkiye yerli tavuk ırklarında TVB lokusu bakımından TVB\*S1/S' (Şekil 2a), TVB\*S1/S3 (Şekil 2b) ve TVB\*S1/R (Şekil 2c) genotipleri nadir olarak bulunurken popülasyonda yaygın genotipin TVB\*S1/S1 (Şekil 2d) olduğu görülmüştür.



**Şekil 2.** DNA sekanslama sonucunda örneklerin sahip olduğu TVB DNA dizileri (bç: baz çifti).

- a) TVB\*S1/S' genotipli örneklerin 172. (C/C) ve 184. (G/T)  
 b) TVB\*S1/S3 genotipli örneklerin sahip olduğu 172. (C/C) ve 184. (A/T)  
 c) TVB\*S1/R genotipli örneklerin sahip olduğu 172. (T/C) ve 184. (T/T)  
 d) TVB\*S1/S1 genotipli örneklerin sahip olduğu 172. (C/C) ve 184. (T/T)

Çalışma materyali olan 175 tavuk ile yürütülen araştırma sonucunda 27 Gerze örneği arasında bir tavuk TVB\*S1/R genotipinde bulunurken, 148 Denizli örneğinde dört horoz TVB\*S1/S', bir horoz ve iki tavuk TVB\*S1/S3, bir tavuk TVB\*S1/R genotipine sahip olurken diğer 166 örneğin ise TVB\*S1/S1 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Denizli ve Gerze popülasyonlarında TVB\*S1, TVB\*S3, TVB\*S' ve TVB\*R allel frekansları hesaplanarak Tablo 1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Türkiye yerli tavuk ırklarının TVB lokusundaki allel frekansları

Popülasyon	Örnek sayısı	Allel Frekansı			
		S1	S3	S'	R
Denizli	148	0.9730	0.0101	0.0135	0.0034
Gerze	27	0.9815	-	-	0.0185
<b>Toplam</b>	<b>175</b>	<b>0.9743</b>	<b>0.0086</b>	<b>0.0114</b>	<b>0.0057</b>

### Tartışma ve Sonuç

Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze tavuklarının TOB farklı işletmelerinde korunan popülasyonlarından 175 örnek kullanılarak TVB lokusundaki genetik polimorfizmler DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak araştırılmış ve iki örneğin TVB lokusunda 172.

SNP noktasında T/C, üç örnekte de 184. bazında A nükleotiti ve dört örnekte de 184. SNP noktasında G nükleotiti heterozigot olarak tespit edilmiştir. Geri kalan 166 örneğin 172. nükleotidi C/C ve 184. nükleotidi T/T olarak belirlenmiştir. Çalışmada hedeflenen ve PCR-RFLP yöntemi ile belirlenemeyen TVB lokusu 172. ve 184. SNP noktasında mutasyonlar araştırılmış ve Denizli popülasyonunda bazı örneklerin TVB lokusu 184. SNP dizisindeki G genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çeşitli tavuk popülasyonlarındaki TVB genotiplerini araştırmak için PCR-RFLP (Zhang ve ark., 2005; Project Directorate on Poultry in India, 2013; Kaya, 2018), pyrosekans (Zhang ve ark., 2007; Yang ve ark., 2011; Liao ve ark., 2014) ve dizi analizi (Yu ve ark., 2012) yöntemlerinden yararlanılmıştır. Pyrosekans ve dizi analizi yöntemleri çalışmalarında muhtemel mutasyonlar ortaya çıkarılabilmektedir (Yu ve ark., 2012; Chen ve ark., 2017; Li ve ark., 2018)

TVB lokusunda bulunan iki SNP'i belirleme çalışmalarında kullanılan PCR-RFLP yönteminde (Zhang ve ark., 2005; Project Directorate on Poultry in India, 2013; Kaya, 2018) 303 ve 202 bç büyüklüğünde PCR ürünü veren iki primer çifti kullanılırken, pyrosekans çalışmalarında (Zhang ve ark., 2007; Liao ve ark., 2014) 303 bç primer çiftinin yanında pyrosekans probu kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada ise 385 bç büyüklüğünde PCR ürünü veren primer çifti kullanılmıştır.

Literatürde TVB lokusu 184. bazında tespit edilen (T→A) mutasyonuna TVB\*R' (Yang ve ark. 2011), (T→G) mutasyonuna TVB\*S' (Yu ve ark., 2012) olarak adlandırılmış ve TVB\*S'nin ALVE alt grubuna karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. TVB lokusu 172. ve 184. dizilerinde olan SNP'ler ile farklı TVB allelleri oluşmaktadır. TVB\*S1 alleli ALVB, ALVD ve ALVE, TVB\*S3 alleli ise ALVB ve ALVD alt tiplerine karşı hassastır. TVB\*R alleli ALVB, ALVD ve ALVE tipi virüslerin hücreye girişini engelleyerek genetik dirençlilik gösterirler (Zhang ve ark., 2007). Çin yerli tavuk ırklarında dizi analizi yöntemi kullanarak yapılan ça-

alışmada Yu ve ark., (2012) 184. bazın G nükleotidi yerine T olduğunu ve 62. kodonun GGT (Gly)'den TGT (Cys) değişerek yeni allelin TVB\*S3 gibi ALVE'ye karşı dirençli olduğu bildirilmiştir.

TVB lokusu genetik polimorfizm çalışmalarında TVB\*R allelinin genellikle White Leghorn popülasyon-

larında görüldüğü, lokal tavuk ırklarında yaygın allelin TVB\*S1 alleli olduğu ve yerli ırklarda TVB\*R allelinin nadir olarak görüldüğü bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2007; Yang ve ark., 2011; Yu ve ark., 2012; Project Directorate on Poultry in India, 2013; Liao ve ark., 2014). Elde edilen sonuçlar ile, Kaya (2018) tarafından PCR-RFLP kullanılarak yapılan çalışma sonuçlarına benzer sonuçlar bulunmuştur. Kaya (2018) yaptığı çalışmada, Gerze tavukları arasında bir tavuğun TVB\*S1R genotipinde; Denizli horoz ve tavukları içinde yedi tavuğun TVB\*S1S3 genotipinde diğerlerinin ise TVB\*S1S1 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Aynı popülasyonlar kullanılarak yapılan bu çalışmada ise Denizli ve Gerze tavuklarında birer TVB\*S1/R genotipi tespit edilirken Denizli popülasyonunda üç örnekte TVB\*S3 ve dört örnekte ise TVB\*S' alleline rastlanılmıştır. Yapılan çalışmada Kaya (2018)'nin çalıştığı popülasyona ek olarak Denizli popülasyonuna yedi tavuk daha eklenmiş ve bu eklenen tavukların birinde TVB\*S1/R genotipine sahip olduğu görülmüştür. Direnç alleli olan TVB\*R alleli, Gerze tavuklarında olduğu gibi Denizli popülasyonunda da nadir olarak görülmüş, popülasyon mevcudu artırıldığında TVB\*R genotipli örnek sayısı artabilir. PCR-RFLP kullanılarak Kaya (2018) tarafından yapılan çalışmada yedi örnekte TVB\*S3 alleli tespit edilirken, bu çalışmada üç örnekte TVB\*S3 alleli, diğer dört örneğin TVB\*S' allelinin belirlenmesi PCR-RFLP analizinde kullanılan *NlaIII* kesim enziminin özelliğine atfedilmektedir. *NlaIII* kesim enzimi 'CATG' dizisini keserken 'CAAG' veya 'CAGG' dizilerini kesememekte (Zhang ve ark., 2005), bu durum örneklerde tespit edilen TVB lokusu 184. SNP noktasındaki nükleotitlerle uyumaktadır. DNA dizi analizi yönteminin lokuslardaki genetik polimorfizmi PCR-RFLP yöntemine göre daha doğru şekilde belirlediği görülmüştür.

Lokal ırkların buldukları çevreye adaptasyonu ve hastalıklara karşı gösterdikleri direnç bakımından eşsiz niteliklere sahip oldukları bilinmektedir. ALV'nin 5 alt grubundan üçünün konakçı hücre reseptörlerini kodlayan TVB lokuslarının belirlenmesi ALV'ye karşı genetik direnç için önemlidir. Yürütülen çalışmada TVB\*R alleleline sahip tavukların bulunması ALV'ye karşı geliştirilecek genetik direnç çalışmalarına yardımcı olacaktır. Ayrıca korunan Gerze tavuğu popülasyonunun az olması nedeniyle örnek sayısı az olmuş, daha geniş imkanlar ile örnek sayısının artırılmasıyla genetik direnç alleli olan TVB\*R allelinin frekansı daha da artırılabilir. Ayrıca yapılan başka çalışmalarda TVB lokusunun 4. eksonu üzerinde dirençliliğe yol açan farklı 3 mutasyon [TVBR3 (c.298C>T) (Chen ve ark., 2017); TVBR4 (c.291\_292insAG) (Li ve ark., 2018) ve TVBR5 (c.359\_360insA) (Li ve ark., 2018) daha belirlenmiştir. Kanatlılarda ALV enfeksiyonlarının kontrolü tamamen virüs eradikasyon önlemlerine ve konakçı genetik direncine dayandığından yerli ırkların koruma çalışmalarında genetik dirence

neden olan bu yeni mutasyonlarında araştırılması önemli olacaktır.

Yürütülen çalışma ile moleküler genetik yöntemler ile yerli ırkların DNA seviyesinde tanımlanmasına katkı sağlanmış ve yerli tavuk ırklarının korunmasına yardımcı olacak veriler elde edilmiştir.

## Kaynaklar

Adkins HB, Blacklow SC, Young JA. Two functionally distinct forms of a retroviral receptor explain the nonreciprocal receptor interference among subgroups B, D, and E avian leukosis viruses. *J Virol* 2001; 75(8): 3520-6.

Barnard RJO, Young JAT. Alpharetrovirus envelope-receptor interactions. In *Cellular Factors Involved in Early Steps of Retroviral Replication* Berlin, Heidelberg: Springer 2003; ss 107-36.

Brojatsch J, Naughton J, Rolls MM, Zingler K, Young JA. CAR1, a TNFR-related Protein, is a cellular receptor for cytopathic Avian Leukosis-Sarcoma viruses and mediates apoptosis. *Cell* 1996; 87(5): 845-55.

Chen W, Liu Y, Li A, Li X, Li H, Dai Z, Yan Y, Zhang X, Shu D, Zhang H, Lin W, Ma J, Xie Q. A premature stop codon within the tvb receptor gene results in decreased susceptibility to infection by avian leukosis virus subgroups B, D, and E. *Oncotarget* 2017; 8(62): 105942-56.

Garcia-Camacho L, Schat KA, Brooks R, Bounous DI. Early cell-mediated immune responses to Marek's disease virus in two chicken lines with defined major histocompatibility complex antigens. *Vet Immunol Immunop* 2003; 95(3-4): 145-53.

Kaya M. Determination of the tumor virus B locus in Turkish native chicken breeds. *Kafkas Univ Vet Fak* 2018; 24(2):239-42.

Kaya M, Yıldız MA. Tavuğun evcilleştirilmesi ve Türkiye yerli tavuk ırkları. *Tavukçuluk Araş Der* 2014; 11(2): 21-8

Klucking S, Adkins HB, Young JA. Resistance to infection by subgroups B, D, and E avian sarcoma and leukosis viruses is explained by a premature stop codon within a resistance allele of the tvb receptor gene. *J Virol* 2002; 76(15): 7918-21.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018; 35: 1547-9.

Li X, Chen W, Zhang H, Li A, Shu D, Li H, Dai Z, Yan Y, Zhang X, Lin W, MaJ, Xie Q. Naturally occurring frameshift mutations in the TVB receptor gene are

- responsible for decreased susceptibility of chicken to infection with Avian Leukosis Virus subgroups B, D, and E. *J Virol* 2018; 92(8): e01770-17.
- Liao CT, Chen SY, Chen WG, Liu Y, Sun BL, Li HX, Xie QM. Single nucleotide polymorphism variants within tva and tvb receptor genes in Chinese chickens. *Poultry Sci* 2014; 93(10): 2482-9.
- Mason AS. The abundance and diversity of endogenous retroviruses in the chicken genome. PhD Thesis of Philosophy, University of Edinburgh, United Kingdom 2017.
- Meydan H. Türkiye'de yetiştirilen siyah alaca sığır ırkında lökosit adhezyon yetersizliği (BLAD; Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency)'nin PCR-RFLP yöntemi kullanılarak belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bil Ens, Ankara 2007; s. 18-20.
- Morgan RW, Xie Q, Cantello JL, Miles AM, Bernberg EL, Kent J, Anderson A. Marek's disease virus latency. *Curr Top Microbiol Immunol* 2001; 255: 223-43.
- Nair V, Fadly A. Leukosis/Sarcoma Group. David ES. eds In: *Diseases of Poultry*. Thirteenth Edition. Pondicherry: Wiley-Blackwell, 2013; pp 553-594.
- Project Directorate on Poultry in India. 2012-2013 Annual reports of Project Directorate on Poultry in India. [http://agritech.tnau.ac.in/animal\\_husbandry/pdf/AnnReport\\_poultry\\_12\\_13.pdf](http://agritech.tnau.ac.in/animal_husbandry/pdf/AnnReport_poultry_12_13.pdf); Accessed Date: 15.02.2016.
- Smith EJ, Cheng HH. Mapping chicken genes using preferential amplification of specific alleles. *Micro Comp Genom* 1998; 3(1): 13-20.
- TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretim-Ekim-2021-37225>; Erişim Tarihi: 09.12.2021.
- Sarıca M, Türkoğlu M, Yamak, US. Tavukçuluktaki gelişmeler ve Türkiye tavukçuluğu. Türkoğlu M, Sarıca M. eds. In: *Tavukçuluk Bilimi (Yetiştirme, Besleme, Hastalıklar)*. Beşinci Basım. Ankara: Bey Ofset Matbaacılık, 2018; p. 63-5.
- Wang P, Li M, Li H, Bi Y, Lin L, Shi M, Huang T, Mo M, Wei T, Wei P. ALV-J-contaminated commercial live vaccines induced pathogenicity in Three-Yellow chickens: one of the transmission routes of ALV-J to commercial chickens. *Poultry Sci* 2021; 100(4):101027.
- Yang J, Yu Y, Yao J, Chen Y, Xu G, Yang N, Sun D, Zhang Y. Molecular identification of avian leukosis virus subgroup E loci and tumor virus B locus in Chinese indigenous chickens. *Poultry Sci* 2011; 90: 759-65.
- Yeh FC, Yang, TRC, Boyle BJ, Ye ZH, Mao JX. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada 1997.
- Yu JC, Ning ZH, Bao M. Genetic variation at the TVB locus in Chinese native chicken breeds. *J Anim Vet Adv* 2012; 11(22): 4226-9.
- Zhang HM, Bacon LD, Cheng HH, Hunt HD. Development and validation of a PCR-RFLP assay to evaluate TVB haplotypes coding receptors for subgroup B and subgroup E avian leukosis viruses in White Leghorns. *Avian Pathol* 2005; 34(4): 324-31.
- Zhang HM, Bacon LD, Heidari M, Muir WM, Groenen MA, Zhang Y, Wong GK, Fulton JE, O'Sullivan NP, Albers GA, Vereijken AL, Rattink AP, Okimoto R, Mckay JC, Mcleod S, Cheng HH. Genetic variation at the tumor virus B locus in commercial and laboratory chicken populations assessed by a medium-throughput or a high-throughput assay. *Avian Pathol* 2007; 36: 283-91.
- Zhang Y, Su Q, Zhang Z, Cui Z, Chang S, Zhao P. Molecular characteristics of the re-emerged avian leukosis virus in China, 2018-2019. *Transbound Emerg Dis* 2020; 67: 1141-51.
- Zhou D, Xue J, Zhang Y, Wang G, Feng Y, Hu L, Shang Y, Cheng Z. Outbreak of myelocytomatosis caused by mutational avian leukosis virus subgroup J in China. *Transbound Emerg Dis* 2018; 66(2): 622-6.