

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**KAYSERİ BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN HOLŞTAYN
SIĞIRLARINDA KALITSAL FAKTÖR XI YETMEZLİĞİNE
NEDEN OLAN GENİN ALLEL FREKANSININ
BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Güneri YAŞAR**

**Danışman
Doç.Dr.Bilal AKYÜZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2011
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**KAYSERİ BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN HOLŞTAYN
SIĞIRLARINDA KALITSAL FAKTÖR XI YETMEZLİĞİNE
NEDEN OLAN GENİN ALLEL FREKANSININ
BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Güneri YAŞAR**

**Danışman
Doç.Dr.Bilal AKYÜZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-09-
979 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2011
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Güneri YAŞAR

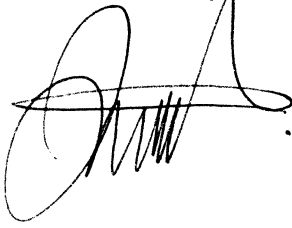
İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kayseri Bölgesinde Yetiştirilen Holştayn Sığırlarında Kalıtsal Faktör XI Yetmezliğine Neden Olan Genin Allel Frekansının Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

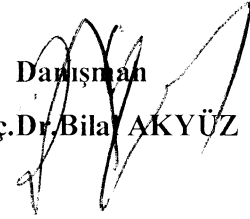
Tezi Hazırlayan

Güneri YAŞAR



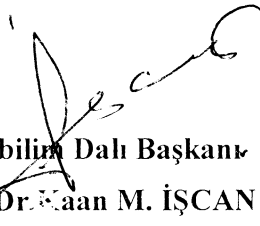
Danışman

Doç.Dr. Bilal AKYÜZ



Anabilim Dalı Başkanı

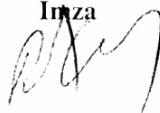
Prof.Dr. Kaan M. İŞCAN




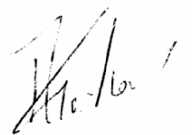
Doç.Dr.Bilal AKYÜZ danışmanlığında **Güneri YAŞAR** tarafından hazırlanan “**Kayseri Bölgesinde Yetiştirilen Holstayn Sığırlarında Kalıtsal Faktör XI Yetmezliğine Neden Olan Genin Allel Frekansının Belirlenmesi**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Veteriner Zootekni** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / / 2011

JÜRİ

Danışman : Doç.Dr. Bilal AKYÜZ  İmza

Üye : Prof.Dr. Kaan M. İŞCAN 

Üye : Yrd.Doç.Dr. Koçhan Arslan 

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılması hususlarında göstermiş olduğu destek ve yardımlarından ötürü değerli tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Bilal AKYÜZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca araştırma materyalini temin etmeme yardımcı olan sığır yetiştiricilerine, tez çalışma sürecinde destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Kaan M.İŞCAN ve Öğr. Gör. Dr. Davut BAYRAM'a, tez projemi destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Birim Personeline ve tez çalışmamın başından sonuna kadar her aşamasında bana her konuda her zaman destek olan ve çalışmalarına devam edebilmem için sağladıkları kolaylıklar için Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'ndaki müdürlerime ve mesai arkadaşlarıma, çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

KAYSERİ BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN HOLŞTAYN SIĞIRLARINDA KALITSAL FAKTÖR XI YETMEZLİĞİNE NEDEN OLAN GENİN ALLEL FREKANSININ BELİRLENMESİ

Güneri YAŞAR

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2011

Danışman: Doç. Dr. Bilal AKYÜZ

KISA ÖZET

Bu çalışmanın amacı Kayseri ve civarında yetiştirilen ve Türkiye’de en yüksek popülasyona sahip olan Holştayn sığır ırkına ait ineklerde, Faktör XI hastalığına neden olan mutant allelinin bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır. Ayrıca bu çalışmada, Holştayn ırkına ait damızlık adaylarının Faktör XI yetmezliği (FXID) yönünden taranması için veteriner hekimler ve yetiştiricilerin bu kalıtsal hastalıktan haberdar olmalarını sağlamaktır.

Faktör XI yetmezliği, Holştayn sığır ırkında görülen otozomal ve çekinik kalıtım şekli gösteren, kalıtsal bir hastalıktır. Hastalığın Faktör XI geninin 12 numaralı ekzonuna 76 baz eklenmesine neden olan bir mutasyon sonucu meydana geldiği bildirilmektedir. Sığırlarda bu kalıtsal hastalık ilk kez 1969 yılında ABD Holştaynların da tespit edilmiştir. Daha sonra Kanada, Japonya ve İngiltere’de de bu kalıtsal hastalığın varlığı bildirilmiştir. Hastalık, buzağular da klinik semptom olarak düşük doğum ağırlığı, uzun süreli kanama ve anemi ve erişkin hayvanlarda düşük üreme performansına ve hayvanlar da pnömoni, mastitis ve metritis gibi hastalıklara duyarlı hale gelmelerine neden olmaktadır. Etkilenen buzağularda sıklıkla pembe renkli kolostrum görülür. Bu çalışmada Kayseri ve civarında yetiştirilen 150 baş sağlam Holştayn inek kullanıldı ve incelenen örnekler içerisinde birinin FXID taşıyıcısı olduğu belirlendi. İncelenen örneklerde FXID prevalansının yaklaşık olarak %0,7 olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: FXDI, Holştayn, Kalıtsal Hastalık, PCR.

**DETERMINATION OF THE FREQUENCY OF THE ALLELE IN THE GENE
CAUSING THE FAKTOR XI IN THE HOLSTEIN COWS IN THE KAYSERI REGION**

Güneri YAŞAR

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Animal Science

M.Sc. Thesis, July 2011

Supervisor: Assoc. Prof. Bilal AKYÜZ

ABSTRACT

The main purpose of this thesis is to investigate whether or not Holstein cattle breed cows, raised in Kayseri and its vicinity, and also has the highest population in Turkey, have the presence of mutant alleles causing disease of Factors XI. Moreover, this study makes veterinary surgeons and breeders beware of this hereditary disease so as to screen the candidates for stud of the Holstein breed in terms of Factors XI.

The deficiency of Factors XI (FXID) seen in the Holstein breed of cattle is a lethal inherited disease which shows autosomal and recessive mode of inheritance. It is reported that the disease has been occurred as a result of a mutation that is caused by the addition of 76 base to exon 12 of the gene Factor XI. Hereditary disease in cattle has been identified for the first time in 1969 through Holstein in the U.S.A Later on, it is notified that this hereditary disease has been also existed in Canada, Japan and the UK. The disease has brought about the possibility of low birth, prolonged bleeding and anaemia in calves as clinical signs, and the low reproductive performance in adult animals and the susceptibility of the diseases such as pneumonia, mastitis and metrisis in animals. Pink-colored colostrum is mostly seen in affected calves. In this study, 150 head of robust Holstein cows raised in Kayseri and in the vicinity of Kayseri were used and one of the samples is reported as a FXID carrier. It is determined that FXID prevalence is approximately 0.7% in investigated samples.

Key Words: FXDI, Holstein, Inherited Disease, PCR.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
RESİM LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Üridin Monofosfat Sentetaz Eksikliği (Deficiency Of Uridine Monophosphate Synthase, DUMPS)	7
2.2. Sığır Lökosit Bağlanma Yetmezliği (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency, BLAD)	8
2.3. Sitrülin Birikimi (Citrullinaemia).....	10
2.4. Kalıtsal Çinko Eksikliği Hastalığı (Hereditary Zinc Deficiency, HZD, A46)...	10
2.5. Sindaktili (Syndactyly)	11
2.6. Kompleks Vertebral Malformasyon (CVM).....	12
2.7. Faktör XI Yetmezliği (FXID)	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. Hayvan Materyali	15
3.2. Kan Alma	15
3.3. DNA İzolasyonu.....	16
3.3.1. DNA İzolasyonu için Kullanılan Solüsyonlar ve Hazırlanış Formülleri.....	17
3.4. Kullanılan Primerler ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	17
3.5. Elektroforez.....	19

3.5.1. Jel Hazırlanması	19
3.5.2. Jel Dökülmesi	20
3.5.3. Kuyulara Örneklerin Yüklenmesi.....	20
3.6. Bantların Gözlenmesi ve Fotoğraf Çekilmesi	20
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	23
6. KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ	41

KISALTMALAR

°C	: Sıcaklık.
µL	: Mikro Litre.
A	: Adenin Nükleotid.
A46	: Kalıtsal Çinko Eksikliği Hastalığı.
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri.
APTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AS-PCR	: Allel Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu.
ASS	: Arjinosüksinat Sentetaz Enzimi.
Bç	: Baz Çifti.
BLAD	: Sığır Lökosit Bağlanma Yetmezliği.
BVD	: Bovine Viral Diare.
C	: Sitozin.
CGG	: Arjinin Aminoasit.
CL-16	: Klaudin-16.
CLAD	: Köpek Lökosit Adezyon Eksikliği
CVM	: Kompleks Vertebral Malformasyon.
dH₂O	: Distile Su.
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit.
dNTP	: Deoksinükleotid Trifosfat.
DUMPS	: Üridin Monofosfat Sentetaz Yetmezliği.
ER	: Endoplazmik Retikulum.
FXID	: Faktör XI Yetmezliği.
g	: Gram.
G	: Guanin.
GABA	: Gamma Aminobütirik Asit Engelleyici Nörotransmitter.
HCl	: Hidroklorik Asit.
HZD	: Kalıtsal Çinko Yetmezliği.
IBR	: Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis
kb	: Kilo Baz.
kg	: Kilogram.
LAD	: Lökosit Adezyon Eksikliği

M	: Molar.
mg	: Miligram.
MgCl₂	: Magnezyum Klorür.
mL	: Mili Litre.
mM	: Milimolar.
mm³	: Milimetreküp.
MSUD	: Akçaağaç Şurubu İdrar Hastalığı.
NaCl	: Sodyum Klor.
NCLs	: Sinirsel Keroid Lipofuksinoz.
nMol	: Nanomol.
NSTs	: Nükleotid Şeker Taşıyıcıları.
PCLN-1	: Paracellin-1.
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu.
RFLP	: Restiriksiyon Parçacık Büyüklük Polimorfizmi.
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat.
SMA	: Spinal Muscular Atrofi.
SSCP	: Single- Stranded Conformation Polymorphism.
T	: Timin.
TBE	: Tris-borat-EDTA.
TE	: Tris-EDTA.
TGG	: Triptofan Aminoasit.
TNE	: Tris-NaCl-EDTA
UDP-N	: Asetil Glukozamin Transporter Proteini.
UMPS	: Üridin Monofosfat Sentetaz.
UV	: Ultra Viyole.

RESİM LİSTESİ**Sayfa No**

- Resim 4.1.** M; 50 bç'lik DNA merdiveni, 1: FXID taşıyıcı kontrol: 2: FXID homozigot normal kontrol; 3 FXID taşıyıcı birey (a: 244 ve b: 320 bç'lik PCR ürünleri): 4-6 FXID yönünden homozigot normal bireylere ait 244 bç'lik PCR ürünleri.....22

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Genetik, canlılarda fenotipik özelliklerin kalıtımı ve değişiminde kalıtsal materyallerin görevlerini araştıran bilim dalıdır. Kalıtım ise canlılar arasındaki benzerlik ve farklılıkların, ortaya çıkmasını, ebeveyndeki kalıtım materyalinin dişi ve erkekten yavruya nasıl geçtiğini, bireylerde ortaya çıkan kalıtsal hastalıkları inceleyen bilim dalıdır. Canlılarda, ebeveynlerin gonadlarındaki genetik materyalde meydana gelen mutasyonlar sonucu ortaya çıkarak yavrunun ölümüne veya yaşama gücünün düşmesine neden olan kalıtsal değişimlere kalıtsal hastalık denilmektedir (1). Kalıtsal hastalıklar; kuşaklar arasında genlerle aktarılırlar, genler de meydana gelen mutasyonlar sonucu kalıtsal hastalıklar şekillenmektedir. Kalıtsal hastalıklar, hayvanın yaşama gücünü, verimi, döl verimini düşürerek veya embriyonik ölüme sebep olarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu da işletmenin hedeflediği kazançla ulaşmasını engelleyerek karlılığı düşürmektedir. Kalıtsal hastalıklardan kaynaklanan zararlı etkilerin önlenmesi amacıyla, kalıtsal hastalığa neden olan ve mutant allel olarak adlandırılan mutasyona uğramış, genin alternatif formlarının tamamen sürüden uzaklaştırılması gereklidir. Yetiştirme programları yapılırken damızlık adaylarının, yetiştirilmesi planlanan ırkta en yaygın görülen kalıtsal hastalıklar yönünden taranması ve bu kalıtsal hastalıkları taşımadıklarının belirlenmesi gereklidir. Aksi takdirde kalıtsal hastalıklara sebep olan mutant alleller mevcut sürüde varlığını sürdürerek hasta yavruların doğmasına ve döl tutma problemlerinin oluşmasına neden olacaktır.

Damızlık olarak seçilecek hayvanların damızlık olarak kullanılmalarından önce, Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diare (BVD), Mavi Dil ve Lökoz gibi viral hastalılardan ari olmasının istendiği gibi ırkta en yaygın görülen kalıtsal hastalıklardan da ari olduklarının belirlenmesi istenmelidir. Bu uygulama eldeki mevcut sürüden hedeflenen düzeyde verim elde edilmesi olanak vereceği gibi kalıtsal hastalıkların sebep olabileceği yavru kayıplarının ve verim kayıplarının önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Entansif sığır yetiştiriciliğinde, üstün verimli bir veya birkaç boğa ile yetiştiriciliği yapılan ırkın tüm dünyadaki dişi damızlıklarının tohumlanmasında yaygın olarak kullanıldığı suni tohumlama yöntemi ve yüksek verimli dişi damızlıklardan elde edilen embriyoların kullanıldığı embriyo nakli yönteminin daha da yaygınlaştırılmasıyla kalıtsal hastalıkların sebep olduğu kayıpların önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Kalıtsal hastalıkların büyük çoğunluğu resesif kalıtım şekli göstermektedir. Burada en önemli problem kalıtsal hastalıkların, kalıtsal bozukluklar yönünden genetik yapısı hakkında her hangi bir bilgiye sahip olunmayan damızlıklar vasıtasıyla popülasyonda varlığını ve yayılmasını sürdürmesidir. Bu nedenle erkek ve dişi damızlık adaylarının ırka özgü kalıtsal hastalıklar yönünden taranması gereklidir. Kalıtsal hastalıklar yönünden taşıyıcı bireylerin belirlenmesi daha sonraki yetiştirme stratejilerinin belirlenmesi için önemlidir. Çünkü kalıtsal hastalığın mevcut popülasyondan eradikasyonu için iki farklı görüş vardır. Bunlardan biri tüm damızlıkların taranarak taşıyıcıların popülasyondan uzaklaştırılmasıdır. Ancak bu uygulamada, taşıyıcı hayvanların büyük çoğunluğu yüksek verim kapasitesine sahip bir boğanın kızı veya torunları oldukları için eğer taşıyıcı bireyleri popülasyondan çıkarılırsa, bu hayvanlarla birlikte bu hayvanların sahip oldukları yüksek genetik kapasiteleri de yetiştirmeden çıkarmış olacaktır. Diğer bir yaklaşım ise damızlık adayların taranarak genetik yapılarının belirlenmesinden sonra bu hayvanların verim durumlarına göre yetiştirme dışına çıkarmak yerine olası hasta yavru doğumunu engellemek için taşıyıcı-taşıyıcı çiftleşmesinin önlenmesidir. Bu durumda da hasta yavru doğumu engellenmiş olur ancak kalıtsal hastalığa neden olan mutant allel popülasyondan uzaklaştırılmaz. Ayrıca damızlık olarak kullanılması planlanan hayvanların hepsinin kalıtsal hastalıklar yönünden taranması gerekmektedir. Bu nedenle uygulanacak stratejinin seçilmesinde ekonomik analizin yapılması önemlidir.

Sığır yetiştiriciliğinde 1950'li yıllarda ilk olarak uygulanmaya başlanan suni tohumlama yönteminin de kullanıldığı ıslah programları sayesinde süt ve et üretiminde büyük

ilerlemeler elde edilmiştir. Tüm dünyaya damızlık hayvan ve sperma satan ülkelerde, damızlık hayvan seçiminde süt verimi, tip özellikleri, günlük canlı ağırlık artışı, karkas bileşenleri, döl verimi, uzun ömürlülük ve hastalıklara karşı direnç gibi özellikleri göz önünde tutulmaktadır. Moleküler genetik alanın da yapılan çalışmalar ve özellikle seksenli yılların başından geliştirilen moleküler genetik yöntemler damızlık seçimi aşamasında artık rutin olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler, genetik temeli bilinen kalıtsal hastalıklar yönünden taşıyıcı bireylerin doğumdan hemen sonra ya da embriyonik aşamada yüksek bir doğrulukta belirlenebilmesine olanak vermektedir. Yetiştiriciliği yapılan damızlıklar, buldukları ırklarda en çok görülen kalıtsal hastalıklar yönünden taşıyıcılıkları kesin olarak belirlenmemişlerse, genotiplerinde bulunması muhtemel mutant allelleri, hasta yavruları doğana kadar popülasyona yaymaya devam edeceklerdir.

Özellikle süt sığırı yetiştiriciliğinde, suni tohumlama yönteminin kullanılması sığır yetiştiriciliğinde genetik ilerleme hızını artırmış ancak, az sayıdaki erkek damızlığın tüm dünyada kullanılmasına ve böylelikle ırk içindeki genetik havuzun daralmasına neden olmuştur. Bu durum ırk içindeki akrabalık derecesini artırırken, verimi olumsuz yönde etkileyen kalıtsal hastalıkların çok kısa sürede kıtalar aşarak tüm dünyaya yayılmasına neden olabilmektedir. Tüm dünyadaki süt endüstrisinde kullanılan ineklerin yaklaşık %70'i suni tohumlama yöntemiyle tohumlanmaktadır (2). Bu sayede süt endüstrisinde en yaygın kullanılan Holştayn ırkının süt verimi kısa bir süre de yaklaşık 900 lt artmıştır (3). Ancak bu yöntem, hayvan başına verimi artırırken, ırk içindeki genetik akrabalığın da artmasına neden olmuştur. Irk içinde artan akrabalık ise yaygın olarak kullanılan bir boğada ortaya çıkan bir kalıtsal hastalığın kısa sürede tüm popülasyona yayılmasına sebep olabilmektedir (3).

Hayvancılıkta ileri gitmiş ülkelerde damızlık adaylarında yapıldığı gibi Türkiye'de de süt sığır işletmelerinde en yaygın kullanılan sığır ırkı olan Holştaynlar, hedeflenen kazançların elde edilmesine engel olabilecek kalıtsal hastalıklara sebep olan mutant allellerin varlığı araştırılmalıdır. Diğer taraftan, Türkiye'de yetiştirilen yerli sığır ırklarının da kalıtsal hastalıklar yönünden genetik yapılarının belirlenmesi, en azından Türkiye'deki farklı sığır ırklarının oluşturduğu toplam sığır varlığının özellikle erkek damızlıklarının taranması faydalı olabilecektir. Çünkü ırka özgü olduğu düşünülen birçok kalıtsal hastalık için yerli gen kaynaklarının incelenmesi gerekmektedir.

Türkiye’de, hayvancılığın önemli bir bölümünü oluşturan sığır yetiştiriciliğinde kullanılan damızlık ve damızlık adaylarında kalıtsal hastalıklar ve bunlara neden olan mutant allellerin yönünden taranmalarına yeteri kadar önem verilmemektedir. Sığırlar da kalıtsal hastalıkların taranmaması ekonomik kayıp olarak yetiştiriciler geri dönmektedir. Bunun için Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan ırklara ait damızlıkların, damızlık olarak kullanılmaya başlanmasından önce bu ırklarda en sık görülen kalıtsal hastalıklar yönünden taranmaları gerekmektedir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, Türkiye’de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan Holştayn sığır ırkına ait dişi damızlıklarda, Faktör XI yetmezliğine neden olan mutant allelinin bulunup bulunmadığının polimeraz zincir reaksiyonu-restiriksiyon parçacık büyüklük polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Sığırlarda önemli verim kayıplarına neden olan kalıtsal hastalıklar çoğunlukla ırka özgüdür (3,4). Örneğin kırmızı-beyaz alaca ve siyah-beyaz alaca Holştayn sığırlarında görülen üridin monofosfat sentez eksikliği (Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase DUMPS), ırka özgü bir kalıtsal hastalıktır (3). Dünyada süt endüstrisinde kullanılan ineklerin yaklaşık %70'i suni tohumlama yöntemi ile tohumlanmaktadır (2). Suni tohumlama yöntemi hayvan başına verimi artırırken, aynı zamanda yetiştiriciliği yapılan ırklarda, ırk içi genetik benzerliğin de artmasına neden olmuştur (2). Irk içinde artan genetik benzerlik, bireylerin yaşama gücünü ve döl verimini düşüren kalıtsal hastalıkların hızla popülasyon içinde yayılmasına da neden olmuştur (5). Entansif yetiştiricilikte kullanılan erkek damızlık sayısının dişi damızlıklara göre çok az olması nedeniyle bir boğada ortaya çıkan mutant allel çok kısa sürede tüm dünyadaki o ırkın bireylerine yayılabilmektedir (6). Sığır yetiştiriciliğinde birkaç boğanın yaygın olarak damızlıkta kullanımı, özellikle bu mutant allel yönünden dişi ve erkek damızlıklar taranmamış ise mutant resesif iki allelin bir hayvanın genotipinde bir araya gelme şansını artırmaktadır (6). Ekonomik açıdan bir sürünün tüm bireylerinin kalıtsal hastalıklar yönünden taranması zor ve pahalıdır. Ancak, özellikle suni tohumlama ve embriyo nakli amacıyla kullanılan damızlık adaylarının ırka özgü kalıtsal hastalıkları taşıyıp, taşımadıklarının belirlenmesi kalıtsal hastalıkların kontrol altına alınmasına yardımcı olabilir (7).

Kalıtsal hastalıklar, aktarılan genlerde kendiliğinden ortaya çıkan ya da çevresel etkilerin sebep olduğu mutasyonlara bağlı olarak canlıya ait kalıtım materyalini değiştirerek, bozuk protein sentezine ya da protein sentezinin tamamen durmasına neden olan mutasyonlara bağlı olarak gerçekleşmektedir (8). Veteriner hekimlikte, kalıtsal bir hastalığa neden olan bozuk genin belirlenmesi, kalıtsal hastalık bakımından ari sürülere sahip olmak veya hasta olan hayvanların sürüden uzaklaştırılmasını sağlamak için büyük önem taşımaktadır (1). Moleküler genetik alanında ilerlemeler sonucunda, genetik temeli bilinen kalıtsal bir hastalık yönünden bireylerin genetik yapılarının damızlık adayı ya da damızlık hayvan seçimi sırasında, doğumdan hemen sonra ya da embriyonik aşamada belirlenebilmesine imkan vermektedir (1).

Suni tohumlama yönteminin yaygın kullanılması, genetik ve verim özelliklerin iyi erkek hayvanların belirlenerek damızlık olarak seçilip kullanılmasına olanak sağlamıştır (9). Süt sığıru yetiştiriciliğinde uygulanan genetik iyileştirme programlarının amacı entansif yetiştiricilik yapılan ülkelerdeki sağmal hayvanlarda, laktasyon başına ortama süt veriminde önemli ilerleme elde edilmesidir (9). Yapılan bu ıslah programları ve seleksiyon çalışmalarının bu avantajlarının yanı sıra damızlık bir bireyde ortaya çıkabilecek ve bireyde döl tutma problemlerine ya da yavru kaybına neden olan mutant allelerin frekansının hızla popülasyon içinde yayılmasına da neden olabilir (9).

Sığıru yetiştiriciliğinde kalıtsal hastalıkların sebep olabileceği verim kaybı riski suni tohumlama için kullanılacak boğa adaylarının, DNA kullanılarak yapılan testler ile incelenerek kalıtsal hastalık taşıyıcısı olanların ayıklanması ile en aza indirilebilir (6). Sürü içerisinde genetik hastalıkların kontrolündeki en önemli problemlerden birisi, kalıtsal hastalığa sebep olan resesif allelin varlığının belirlenmesine kadar geçen sürede bu allelin frekansının popülasyon içinde yüksek bir frekansa ulaşmasıdır (6). Bu duruma en güzel örnek, taşıyıcılarının teşhisinin yapılabildiği 1990 yılına kadar tüm dünyadaki Holştaynlara yayılan ve mutant allelin ilk olarak 1952 doğumlu bir boğada ortaya çıktığı BLAD verilebilir (6). Bu nedenle mümkün olduğu kadar erken bir sürede, mutasyona uğramış iki allelin homozigot olduğu genotip ile fizyolojik bir anormalliğin, biyokimyasal bir bozukluğun veya bir enzim yetmezliğinin görüldüğü fenotip ile ilişkilendirilmesi gereklidir (6).

Evcil hayvanlardaki kalıtsal hastalıkların birçoğu insanlarda belirlenen kalıtsal hastalıkların benzeridir. Bu nedenle hayvanlarda görülen kalıtsal hastalıkların

sebeplerinin belirlenmesinde ve taşıyıcı bireylerin teşhisinde insanlarda görülen kalıtsal hastalıkların tanı yöntemlerinden yararlanılmaktadır (10). Dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan Holştayn ırkında en yaygın görülen ve genetik temeli bilinen kalıtsal hastalıklar şunlardır;

2.1. ÜRIDİN MONOFOSFAT SENTETAZ EKSİKLİĞİ (DEFICIENCY OF URIDINE MONOPHOSPHATE SYNTHASE, DUMPS)

Holştayn sığır ırkında görülen üridin monofosfat sentetaz eksikliği (DUMPS), primidin bazının sentezinin engellenmesi sonucunda oluşan otozomal çekinik kalıtsal hastalıktır (11). Hücrelerde, üridin monofosfat sentetaz enzimi (UMPS), orotik asit tarafından pirimidin nükleotidin esansiyel bileşeni olan üridin monofosfata dönüştürülmektedir (12). Hasta hayvanlarda, UMPS enzimini sentezleyen genin 405. kodonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu, UMPS geninde erken bir stop kodonunun şekillenmesine neden olarak fonksiyonel yönden bozuk bir protein sentezletir (13). Bu kalıtsal hastalıkta orotik asit, üridin monofosfata çevrilememektedir (14, 15, 16). Genetik yapılarında DUMPS genini taşıyan taşıyıcı hayvanlar ile normal hayvanlar arasında beden ölçüleri, doğum ağırlıkları ve büyüme yönünden istatistiksel olarak DUMPS genini taşıyan hayvan ile DUMPS genini taşımayan hayvan ayırımını yapılacak kadar önemli farklılıklar bulunmadığı bildirilmiştir (17). Taşıyıcı olan hayvanlarda büyüme ve gelişmenin normal olduğu, taşıyıcı dişilerin laktasyon dönemlerinde ise idrarlarındaki ve sütteki orotik asit miktarının yükselmiş olduğu bildirilmiştir (17). Amerika da yetiştirilen Holştaynlar da DUMPS sık olarak görülmektedir (13,18). Hayvanlarda orotik asit miktarı süt, idrar ve kanda saptanabilir (18). UMP sentaz enzimini kodlayan gendeki Genomik yapısı belirlenmiş olan mutant allel taşıyıcılarının saptanması için PCR tabanlı tanı testi geliştirilmiştir (19). Heterozigot olan canlılarda kusurun tespitini rutin olarak eritrositlerdeki UMPS aktivitesini ölçerek belirlenebilir (18). Taşıyıcı hayvanların dokularındaki UMPS aktivitesi, sağlıklı hayvanların dokularındaki UMPS aktivitelerinin yarısı kadar olmasına rağmen, fenotipik olarak normal görünmektedir (20). Bu kalıtsal hastalığın taşıyıcısı olan hayvanlarda karaciğer, dalak, böbrek, kas ve meme bezi gibi organların ve dokuların aktivitesi nispeten azalır (21). Ayrıca bu bozukluğun homozigot olduğu embriyolar, gebeliğin erken dönemlerinde ölür ve anne uterusu tarafından emilir (22,23). Çiftlik hayvanlarında görülen embriyonik ölümlerin belirlenmesi ancak dişi hayvanın tohumlanması ve tohumlanan hayvanın gebe

kalmaması ile anlaşılabilir (24). Ayrıca UMPS enziminin eksikliği, embriyonik ölümlere neden olan bir kalıtsal hastalık olduğu için süt sığırı yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara neden olmasından dolayı üzerinde durulmalıdır (25). Türkiye’de mevcut olan Holştayn boğalar ve boğa adayları DUMPS yönünden taranmış ancak boğalarda ve boğa adaylarında taşıyıcılar tespit edilmemiştir (26). DUMPS’a neden olan mutant allele ABD, Almanya, Kanada, Macaristan ve Hindistan’ da yetiştirilen Holştayn’ larda da rastlandığı bildirilmiştir (16).

2.2. SIĞIR LÖKOSİT BAĞLANMA YETMEZLİĞİ (BOVINE LEUKOCYTE ADHESION DEFICIENCY, BLAD)

Holştayn sığır ırkında görülen sığır lökosit bağlanma yetmezliği (BLAD) otozomal, çekinik kalıtsal bir hastalıktır (7,27). Bozukluk, ilk olarak 1983 yılında ABD’de tespit edilmiştir ve sığır ‘‘granülopati sendromu’’ olarak isimlendirilmiştir (28,29). Bu kalıtsal bozukluk, Holştayn ırkı sığırlar dışında insanlarda ve İrlanda Seter köpek ırkında da görülmektedir. Bozukluk, insanlarda, lökosit bağlanma yetmezliği (Leucocyte Adhesion Deficiency, LAD); köpeklerde lökosit bağlanma yetmezliği (Canine Leucocyte Adhesion Deficiency, CLAD) olarak isimlendirilmiştir (30). Hastalık, damarlarda endotel-lökosit bağlanmasını sağlayan CD11\CD18 kompleksinin alt ünitesi olan ve lökosit hücre zarındaki CD18 glikoproteinini kodlayan genin 383. nukleotidinde bir guanin-adenin yer değiştirmesine sebep olan nokta mutasyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (2). Oluşan bu baz değişikliği CD18 geni tarafından kodlanan CD18 glikoproteininin 128. amino asidi aspartik asidin→glisine dönüşmesine neden olur (7). Meydana gelen bu amino asit değişimi, enfeksiyon esnasında lökositlerin damar endotel hücreleride bulunan reseptörlere bağlanarak lökositlerin damar dışına geçişlerini sağlayan β_2 integrin molekülünün sentezinin bozulmasına neden olmaktadır (31). Bu kalıtsal bozukluk yönünden homozigot olarak doğan buzağılarda özel klinik bulgular görülmemektedir. Ancak hasta buzağıkların solunum sistemlerinde pnömoni ve bronşit, doğumdan sonra ağızda yaygın ülser, diş eti iltihabı, şiddetli ve iyileşmeyen bir ishal görülür (2, 27). Heterozigot hayvanlarda ise BLAD ait herhangi bir klinik belirti görülmemekle birlikte bu hayvanların yavrularının %50 si BLAD alleli taşımaktadır. Dünya genelin de heterozigot olup BLAD alleli taşıyan bireylerin tüm Holştayn popülasyonundaki sığırlara oranının %5.8 olduğu bildirilmiştir. (32,33). Bu sebeple damızlık sürülerde BLAD alleli taşıyan hayvanların belirlenmesi ve sürüden

uzaklaştırılması ekonomik kayıpların önlenmesini sağlamak için gereklidir (32). Holştayn ırkı sığırlarda sıklıkla görülen ve ekonomik kaybı yüksek olan sığır lökosit bağlanma hastalığı (BLAD) dan dolayı ABD’de hastalık için eradikasyon programı başlatılana kadar her yıl BLAD’ lı buzağuların ölmesi sonucu karşılaşılan ekonomik kaybın 5 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir (26). Hasta buzağularda yapılan lökosit sayımında çoğunluğunu nötrofil lökositlerin oluşturduğu, devamlı bir lökosit artışı görülmektedir (34). Sağlıklı bir buzağının 1 mm³ kanında 8.000 adet lökosit sayılırken hasta buzağularda bu sayı 100.000’den fazladır (34). Hasta buzağular erken yaşta ölmekle birlikte enfeksiyondan etkilenme durumlarına ve görülen enfeksiyonlara karşı uygulanan tedavilerin başarısına bağlı olarak hasta olan buzağular bir yaşına kadar yaşayabildikleri bildirilmektedir (27). Dünya genelinde BLAD taşıyıcılarının, ABD orijinli Osbordale Ivanhoe, Penstate Ivanhoe Star ve Carlin M Ivanhoe Bell isimli süt verimi yüksek boğalar olduğu belirlenmiştir. Gerek bu boğalar gerekse bu boğaların oğulları ve torunlarının tüm dünyadaki suni tohumlama uygulamalarında yaygın olarak kullanılması, bu kalıtsal hastalığın yayılmasına ve sonuçta BLAD’a neden olan mutant allelin önce ABD’de sonra tüm dünya da görülmesine sebep olmuştur (34). Suni tohumlamanın süt sığırı yetiştiriciliğinde yaygın bir şekilde kullanılması, süt sığırcılığında genetik bozuklukların neden oldukları ekonomik kayıplar konusunun önemini artırmıştır. Çünkü BLAD örneğinde olduğu gibi üstün verimli tek bir boğanın suni tohumlama ile yoğun kullanılması, boğanın genotipinde bulunan zararlı bir genin popülasyonda çok hızlı yayılmasına neden olabilmektedir (35). BLAD gibi resesif kalıtım yolu izleyen kalıtsal bozukluklar fenotipe bakılarak belirlenemez. Bu nedenle gen frekanslarının oldukça yüksek olmalarına karşın BLAD nedeniyle ölen hayvanların sayıları az zannedilir. Bu da çok sayıda hayvanın kesin tanısı yapılmadan BLAD’ın neden olduğu genel enfeksiyonlardan dolayı öldüğü fikrini akla getirmektedir (36). Bu nedenle hayvanlarda BLAD’ ın teşhisi için bazı metodlar kullanılmaktadır. Bu teşhis yöntemlerinden en yaygın olanları pedigrı analizi, test birleştirmeleri, biyokimyasal tanı yöntemleri ve moleküler tanı yöntemleridir (17).

2.3. SİTRÜLİN BİRİKİMİ SİTRULİNEMİ (CITRULLINAEMIA)

Citrullinemia hastalığı Holştayn ırkı sığırlarında görülen ve hasta hayvanlarda arjinin amino asitinin yıkımlanarak üreye çevrildiği, üre döngüsünün bozulmasına neden olan otozomal çekinik bir kalıtsal hastalıktır (37). Hastalık, üre döngüsünde sitrulinin, arginosüksinata çevrilmesini sağlayan arjinosüksinat sentetaz (ASS) enzimin eksikliği sonucu ortaya çıkmaktadır (37). Arjinosüksinat sentetaz enzimin yokluğuna bağlı olarak üre siklusunda, amonyağın üreye çevrilmesi aşamasında vücutta amonyaktan daha toksik bir ürün olan sitrulinin birikmesine neden olmaktadır (37). Bu kalıtsal hastalığın ASS enzimini kodlayan genin 5. ekzonunun 86. nükleotid pozisyonunda bulunan sitozinin timin ile yerdeğiştirmesine neden olan bir nokta mutasyonunun sığırlarda sitrülün birikimine neden olduğu tespit edilmiştir (38). Bu kalıtsal hastalıktan etkilenmiş buzağular normal görünüşlü olarak doğarlar (38). Doğumdan sonraki ikinci günden itibaren buzağularda dil çıkarma, depresyon ve süt tüketiminde azalma gibi belirtiler gösterirler (38). Üçüncü günde, bu buzağuların amaçsız hareketler yaptıkları, engellere veya duvara başlarını dayayarak durdukları görülür (38). Homozigot hasta buzağuların kanlarında, serebrospinal sıvılarında, göz sıvılarında ve beyin dokularında yapılan ölçümlerde, sitrülün konsantrasyonunun yükseldiği görülür (39). Hastalık belirtileri 3-5 gün arasında hızla ilerleyerek hasta buzağuların durumlarında kötüleşme görülür. Hasta buzağularda körlük geliştikten sonra ve kollapsa girerek 12 saat içinde ölürler (38). Hastalık, ilk olarak Avustralya'ya yetiştirilen Holştaynlarda bildirilmiştir. Hastalık, kızlarının yüksek süt yağı oranına sahip olması nedeniyle Avustralya'da yaygın olarak kullanılmış olan ABD kökenli Linmack Kriss King isimli boğaya ait spermalar ile bulaşmıştır (40). Avustralya'da 1980'li yıllarda suni tohumlamada kullanılan tüm boğalarının %75' inin bu boğa ile akraba olduğu ve bu boğaların %13'ünün ise sitrulinemi taşıyıcısı oldukları bildirilmiştir (4).

2.4. KALITSAL ÇİNKO EKSİKLİĞİ HASTALIĞI (HEREDITARY ZINC DEFICIENCY, HZD, A46)

Kalıtsal çinko eksikliği hastalığı, Holştayn ırkı sığırlarda görülen otozomal çekinik kalıtım şekli gösteren, kalıtsal bir hastalıktır (41). Hastalık ilk olarak İskoçya' da yetiştirilen Holştayn'larda görülmüştür (42). Daha sonra hastalığın, 1970'li de Danimarka, Hollanda, Almanya ve İtalya'da, 1980'li yıllarda ise İrlanda, İngiltere ve Fransa'da yaygın bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir (41). Bu kalıtsal hastalık çeşitli

isimlerle bilinmesine rağmen en yaygın bilinenleri HZD ve A46 olarak bilinen isimleridir (42). Hastalığın görüldüğü bireylerin pedigrileri incelendiğinde, çoğunun Almanya orjinli ‘‘Adema 21 van de Woudhove’’ isimli boğa ile akraba olduklarından Adema hastalığı da denmektedir (43). Hastalık çinkonun bağırsaklardan emilmesini sağlayan çinko emilim proteinlerindeki anormal fonksiyon göstermesi sonucunda ortaya çıkar (42). HZD kalıtsal hastalığına, *SLC39A4* geninde meydana gelen tek bir nükleotidin yer değişimi sonucu oluşur (42). Bir iz element olan çinko kemik, diş, kas ve deri ile ilişkili olup dokularda yapısal bir role sahiptir. Bununla birlikte metabolizma proteinleri, nükleik asitler ve karbonhidrat metabolizmalarında role almaktadır (44). HZD kalıtsal hastalığın da, doğumu takip eden bir hafta boyunca çinkonun bağırsaklarda yetersiz emilimine bağlı olarak kan serum çinko seviyesinde devamlı bir azalma görülür (42). Serum çinko seviyesinde ki bu azalmaya bağlı olarak hasta hayvanlarda devamlı ishal, paraketozis, deri lezyonları, timusda körelme ve kıl dökülmesi görülür (42,45). Hasta buzağılarda, sıklıkla bronkopneumoni görülmektedir (46). Deri lezyonları çoğunlukla ağız, göz, kulak dipleri, eklemler, toraksın alt kısımları, abdomen ve bacaklarda görülür (42). Ayrıca hasta hayvanlarda stomatitis, yemede azalma ve büyüme geriliği görülür (45). Buzağılarda görülen bu lezyonlar ilerleyici olup tedavi edilmezlerse 4-8 hafta sonunda ölümler meydana gelmektedir (46). Tedavi amacı ile yüksek dozda çinko verildiğinde hasta hayvanların düzeldiği görülür (45).

2.5. SİNDAKTİLİ (SYNDACTYLY)

Katır ayaklılık olarakta isimlendirilen sindaktili, bir veya daha fazla ekstremitenin distal parçalarının tam veya kısmı şekilde birleşmesi veya ayrılmaması sonucunda oluşan bir doğum anomalisidir (47). Sindaktili Holşyan’larda görülen otozomal çekinik kalıtsal bir hastalıktır (48). Bu kalıtsal hastalıktan etkilenen buzağuların ekstremitelerinin diz ya da dirsekler kemiklerinde yapışmalar görülür (49). Hastalığın klinik bulgularında dışarıdan normal olarak görülmesi gerek kemik yapıların birleşmiş olduğu ve toynak benzeri bir yapının ortaya çıktığı görülmektedir (50). Hatta kemiklerin birleştiği kısmın sırt kısmında bir oluk oluşumu göze çarpar (48). Bozuklukta ön bacaklar arka bacaklara göre daha çok etkilenmektedir (48).

2.6. KOMPLEKS VERTEBRAL MALFORMASYON (CVM)

Holştayn sığırlarında görülen otozomal çekinik kalıtım şekli gösteren, öldürücü kalıtsal bir hastalıktır (51,52). Hastalık ilk olarak 1999 yılında Agerholm ve arkadaşlar tarafından Danimarka'da yetiştirilen Holştaynlar'da belirlenmiştir (53,54). Bu kalıtsal hastalık, üridin difosfat-N-asetilglukozamin tranporter proteinini kodlayan *SLC35A3* genin 559. nükleotid pozisyonunda bir guanin nükleotidinin timin nükleotid ile yer değişimine neden olan nokta mutasyonu sonucu oluşmaktadır (12,55). Kompleks vertebral malformasyon, homozigot buzağılarda kompleks anomaliler, anterior ve posterior bacak eklem yerlerinde eklem sertliği ve sırt omurlarında birden çok deformasyonlarla karakterizedir (56). Hastalık, fetal gelişme bozukluğuna sebep olan omurilik anomalisi ile seyreden, fetal ölüm ve yavru atımı ile sonuçlanan bir kalıtsal hastalıktır (21). Mutant allel yönünden homozigot olan fütüslerin yaklaşık %80'i gebeliğin 100. gün ile 260. günleri arasında atık yapmaktadır (57). Bu klinik belirtilerden en önemlisi ve embriyo için ölümcül olanı omurga kısalığıdır (21). Ancak Gebeliğin 260. gününden önce atılmayan ve normal gebelik süresini tamamlayan yavruların bir çoğunda ölü doğumlar görülmektedir (57). Doğumları normal olan ve atık yapmayan yavrularda ise klinik bulgular şu şekilde olmaktadır; omurlarında kısalma, simetrik eklem eğrilikleri, omurilik eğriliği, omurga çatısında eğrilmeler, karpal ve metakarpal eklemlerde bilateral simetrik bozuklukları görülmektedir (57). Hastalıktan etkilenmiş embriyoların %50'sinde kalp anomalisi görülmüştür (58). Ancak doğan yavruların yaşama şansları olmadığı ve şiddetli iskelet anomalileri gösterdikleri için insani sebeplerden dolayı bunlara ötanazi uygulanmaktadır (57). Bu kalıtsal hastalık yönünden heterozigot bireylerde her hangi bir klinik belirti görülmemektedir (59). Hasta yavruların kayıtları incelendiğinde hepsinin 1974 yılında ABD'de doğan ve üstün verim özellikleri nedeniyle tüm dünyada suni tohumlama da yaygın olarak kullanılan Carlin-M Ivanhoe Bell isimli boğa ile akraba oldukları belirlenmiştir (12, 54).

2.7. FAKTÖR XI EKSİKLİĞİ (FXID)

Faktör XI bir düzine kan pıhtılaşma proteinlerinden birisidir. Faktör XI yetmezliği (FXID) insan, köpek ve sığır gibi bir kaç memeli türünde belirlenmiştir (60, 61). Yapılan pedigri analizlerinde hastalığın BLAD, DUMPS ve CVM gibi otozomal resesif bir kalıtım şekli gösteren hastalık olduğu ve hastalığın sadece Holştayn ve Japon Siyah sığır ırklarında bulunduğu bildirilmiştir (10). Sığırlarda bu kalıtsal hastalık ilk kez 1969

yılında ABD de yetiştirilen Holştayn'larda tespit edilmiştir (61). Daha sonra bu kalıtsal hastalık Kanada ve İngiltere'de yetiştirilen Holştayn'larda da bildirilmiştir (62). Türkiye'de ise FXID ilk kez 2009 yılında Meydan ve ark. tarafından bildirilmiştir (61). Hastalık "Hemofili C" olarak da bilinmektedir (45). Kanın pıhtılaşmasında görevli proteinlerden biri olan plazma tromboplastin öncüsü olarak da bilinen Faktör XI, serin proteaz olarak adlandırılır (61). Faktör XI kanın pıhtılaşmasını sağlayan ve karaciğerden sentezlenen bir serin proteazdır (63). Faktör XI, iki benzer alt birimden oluşan ve birbirlerine disülfid bağı ile bağlı olan ve bu bağların parçalanması sonucu aktif proteaza dönüşmesiyle kanın pıhtılaşmasını sağlamaktadır (60). Faktör XIa (aktif form) iki hafif ve iki ağır zincir yapısından oluşur (60). Bu dört ağır zincir, trombosit, Faktör IX ve Faktör XII için bağlayıcı etki yapmaktadır (60). Hafif zincirler ise serin proteaz için katalitik etki yapmaktadır (60). Hastalığın, Faktör XI geninin 12 numaralı ekzonuna 76 baz eklenmesine neden olan bir mutasyon sonucu meydana geldiği belirlenmiştir (5). FXID'e neden olan mutant allel yönünden homozigot ve heterozigot buzağuların, homozigot normal buzağulara oranla daha düşük doğum ağırlığı ve yaşama gücü gösterdiği bildirilmiştir (62). Ayrıca bu mutant allel yönünden homozigot ve heterozigotların, homozigot normallere göre enfeksiyöz hastalıklara yakalanma olasılıklarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir (62). Heterozigotlarda FXI pıhtılaşma aktivitesi azalmıştır, homozigotlarda ise tamamen ortadan kalkmıştır. FXID sığırlarda, kanamanın uzaması ve anemi gibi semptomlarla veya repeat breeding prevalansında artış, pnömoni, mastitis ve metritise karşı direç düşüklüğü gibi asemptomatik olarak seyredebilir (61). Ayrıca, FXID sığırlarda üreme özelliklerini ve meme sağlığını etkileyebileceği de bildirilmektedir (61). Faktör XI yetmezliğinden etkilenen hayvanlar çoğunlukla belirgin semptomlar göstermeden yaşayabildikleri de bildirilmiştir (1).

Homozigot hasta hayvanlarda yüksek mortalite ve morbidite gösterebilirler FXID dahi herhangi bir klinik belirti göstermeden yıllarca yaşayabilirler (60). Ancak FXID kalıtsal hastalığı yönünden homozigot hayvanlarda belirgin olarak enjeksiyon sonrası kanama süresinin uzaması, kanlı süt alınması ve anemi gibi birkaç belirti görüldüğü bildirilmiştir (61). Ayrıca kastrasyonda ve boynuz kesimi yapılan hayvanlarda uzun süren kanamalar görülmektedir (62). Homozigot ineklerde sıklıkla pembe renkli kolostrumda görülmektedir (62). Yeni doğan buzağularda göbek kordonunda ve çevresinde kanamaların görüldüğü bildirilmiştir (61). Bu kalıtsal hastalığa bağlı olarak süt endüstrisinde de önemli verim kayıpları oluşmaktadır (13). Faktör XI eksikliğine

neden olan mutant allelin varlığı hayvanlarda pnömoni, mastitis ve metritis gibi hastalıklara duyarlı hale gelmelerine neden olmaktadır (64). FXID taşıyıcı ve homozigot hayvanların ovülasyon döneminde kan östrodiol oranında düşme, foliküler gelişimi tam olmaması ve üreme performansının düşmesine bağlı olarak önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (61). Taşıyıcı olan hayvanlar değişik semptomlar gösterirler ve Faktör XI etkinliğini izlemek için mevcut test yöntemlerinden birisi de aktive parsiyel tromboplastin zamanını (APTT) ölçmektir (64). Bu test yöntemi homozigot bireylerin belirlenmesi için olumlu sonuç vermesine rağmen heterozigot(taşıyıcı) bireylerin belirlenmesinde istenen sonucu verememektedir (64). Bu nedenle FXID taşıyıcılarının tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) test yönteminin gelişmesine yol açılmıştır (62).

Bu çalışmada, Kayseri ve civarında yetiştirilen damızlık dişi Holştayn'lar da FXID' e neden olan mutant allelin frekansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HAYVAN MATERYALİ

Araştırmanın hayvan materyalini oluşturan dişi Holştanlar, Kayseri ilinin Develi ve Bünyan ilçelerinden süt sığır yetiştiriciliği yapan işletmelerde ki sağmal inekler ve damızlık adayı düveler oluşturmuştur. Hayvan materyalinin seçiminde sadece çalışmada kullanılan canlı materyalin yakın akraba olup-olmadıkları dışında başka bir ön seçim yapılmamıştır.

3.2. KAN ALMA

Çalışmada DNA izolasyonu için kullanılan kan örnekleri, çalışma materyalini oluşturan hayvanlardan vakumlu 10 mL'lik EDTA'lı tüplere, steril tek kullanımlık iğneler ile vena jugularis'ten steril olarak alınmıştır. Kan alımı sonrasında, kanlarda hemolizi ve pıhtılaşmaları engellemek için kanların alındığı EDTA'lı tüpler birkaç defa alt üst edilerek karıştırılmıştır. Alınan kan örnekleri soğuk zincir korunarak laboratuara getirilmıştir. İlk olarak DNA izolasyonunda kullanılacak lökositlerin toplanabilmesi için laboratuvar getirilen kanlar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, cam pastör pipetleri ile kanların toplandığı tüplerin orta kısmında toplanmış olan lökosit tabakası alınarak daha önce etiketi yazılmış olan 1,5 mL'lik steril tüplere konulmuştur. İçinde lökosit bulunan bu tüpler -20°C de konarak DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.3. DNA İZOLASYONU

Santrifüj sonunda ayrılan lökositlerden DNA fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile izolasyonu edilmiştir. DNA izolasyonunda ilk olarak, -20°C de dondurularak saklanan ve içerisinde lökosit bulunan tüpler oda ısısında eritilmiştir. Çözülen ve içerisinde lökosit bulunan tüplerden, daha önce etiketlenmiş DNaz ve RNaz bulunmayan steril 1,5 mL'lik ependorf tüplerine otomatik pipet yardımıyla 100 µL lökosit konulmuştur. Daha sonra ependorf tüpüne konulan lökosit üzerine 300 µL 1 X TNE solüsyonu, 30 µL Tris-HCl (pH 8), 5 µL proteinaz K (10mg/ml) ve 10 µL %20'lik SDS solüsyonu eklendikten sonra karışım vortekslenerek karıştırılmıştır. İyice karıştırılan bu karışımın bulunduğu tüpler 50°C'lik etüvde konarak bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün tüpler etüvden çıkarılarak karışımın üzerine 445 µL fenol eklenmiş ve 10 dakika hafifçe sallanarak karıştırılmıştır. Karıştırılma işleminden sonra, karışım 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üsteki sıvı kısım otomatik pipet yardımıyla dikkatlice alınarak daha önce etiketlenmiş DNaz ve RNaz bulunmayan yeni bir 1,5 mL'lik steril ependorf tüpüne konulmuştur. Yeni tüpe aktarılan bu süpernatantın üzerine 445 µL 1:1 oranında hazırlanan fenol-kloroform karışımı eklenmiştir. Hazırlanan karışım tekrar 10 dakika alt üst edilerek karıştırılmış ve sürenin sonunda 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda yine üsteki sıvı kısım otomatik pipetle dikkatlice ve alttaki kısmı karışmayacak şekilde alınarak yine daha önce etiketlenmiş başka bir steril 1,5 mL'lik ependorf tüpüne konulmuştur. Alınan bu süpernatantın üzerine 445 µl 24:1 oranında hazırlanmış kloroform-izoamil alkol karışımı ilave edilmiştir. Hazırlanan bu karışım tekrar 10 dakika alt üst edilip karıştırılmıştır. Süre sonunda, karışım 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda yine üsteki sıvı kısım otomatik pipet yardımıyla alttaki kısmı karışmayacak şekilde dikkatlice alınarak yine daha önceden etiketlenmiş olan başka bir 1,5 mL'lik steril ependorf tüpüne konulmuştur. Alınan süpernatantın üzerine daha önce -20°C'ye konmuş olan %100'lük saf etil alkol'den 890 µL eklenmiştir. Etil alkol eklendikten sonra ependorf tüpleri içinde bulunan DNA iplikçiklerinin kümeleşerek pamukçuk tarzı bir görüntü oluşturuncaya kadar 4-5 kez hafifçe aşağı yukarı hareket ettirilmiştir. Kümeleşen DNA iplikçiklerinin tüplerin diplerine çökmesi için tüpler 10000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üstteki alkol atılarak tüplerin dibine çökmüş olan DNA peletlerinin üzerine %70'lik etil alkol'den 890 µL eklenmiştir. Alkolün eklenmesinden sonra tüpler tekrar 10000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda yine tüpün

üstünde bulunan alkol dökülerek uzaklaştırılmıştır. Tüplerin içindeki alkolün tamamen uzaklaşması için tüpler içlerine herhangi bir şeyin düşmesini önleyerek etüvde kurutulmuştur. Tamamen kuruyan ve içinde DNA bulunan tüplerin üzerine 100µL TE buffer (10mM Tris, 1 mM EDTA pH 8,0) konularak DNA'lar PCR işleminde kullanılacak şekilde sulandırılmıştır. Tüplerin içerisinde bulunan DNA peletinin eklenen TE tampon solüsyonunda tamamen çözülmesi için karışım bir gece +4'de bekletilmiştir. Ertesi gün yapılan DNA izolasyon işleminin başarılı olup olmadığını kontrolü için örneklerden 2µl alınarak 15 dakika %0,5'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. Elektroforez sonunda, Kodak Gel Logic 200 Imaging System® ile floresan parıldama gözlemlendiği örneklerin yüklenmiş olduğu kuyucuklarda DNA izolasyonu başarılı olduğu sonucuna varılmıştır. İzolasyon işleminin başarılı olduğu örneklerle ait DNA'lar daha sonra yapılacak olan polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) kullanılana kadar +4°C de saklanmıştır.

3.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar Ve Hazırlanış Formülleri

1 X TNE (Toplam 30ml)

1,5 mL Tris-HCl pH 8

3 mL 1 M NaCl

300 µL 0,5 M EDTA pH 8

25,2 mL bidistile su

Tris-HCl pH 8 (1L)

12,1 g Tris

800 mL distile su

HCl ile pH ayarlandıktan sonra distile su ile 1 litreye tamamlanır.

3.4. KULLANILAN PRİMERLER ve POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)

Holştayn ırkı sığırlarda görülen FXID'ye sebep olan mutant alleli belirlemek için yapılmış olan polimeraz zincir reaksiyonunda primer olarak **FXIF** 5'-CCCACTGGCTAGGAATCGTT-3'; **FXIR** 5'-CAAGGCAATGTCATATCCAC-3', olacak şekilde bir primer seti kullanılmıştır. Primerler liofilize olarak satın alınmış ve

primerin satın alındığı firmanın önerdiği şekilde sulandırılarak PCR işleminde kullanılmıştır. Bu primerler kullanılarak yapılan PCR sonunda Mutant FXID alleli taşımayan bireylerde PCR sonunda 244 bp'lik tek bant, mutant FXID alleli yönünden homozigot hasta bireylerde 320 bp'lik tek bant ve mutant FXID alleli yönünden heterozigot taşıyıcı bireylerde 244 ve 320 bp'lik çift bant aranmıştır. PCR işlemi sırasında hazırlanan karışımın toplam hacmi 20 µl olacak şekilde 10'lı tüplere PCR karışımı hazırlanmıştır. PCR karışımı; 14,3 µL dH₂O, 2,8 µL 10 x PCR buffer, 2 µL dNTP, forward ve reverse primerlerden 0,4'er µL (20nmol), 0,1 µL Taq polimeraz enzimi (5 U/ µL) hazırlanan karışımla yapılmıştır. Hazırlanan bu karışımdan her bir örnek için 20 µL alınarak daha önce etiketlenerek buz üzerine yerleştirilen 0,2 mL'lik ependorf tüplerine dağıtılmıştır. Hazırlanan PCR stok karışımının 0,2 mL'lik ependorf tüplerine dağıtılmasından sonra daha önce izolasyonu yapılarak +4'de bekletilen çalışma materyali olan Holştayn sığırlarına ait genomik DNA'lardan 5 µL ilave edilerek her örnek için toplam 25 µL'lik PCR karışımı hazırlanmıştır. Her bir örneğe ait DNA konduktan sonra hazırlanan PCR karışımları otomatik pipetle 2-3 kez pipete edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra ependorf tüplerinin kenarlarına yapışmış olan kısmı dibe çöktürmek için kısa bir santrifüj yapılmıştır.

Çalışma kolaylığı nedeniyle PCR işlemi her seferinde 20 örnekle yapılmıştır. Buz üzerinde hazırlanan PCR karışımı, 94 °C'ye kadar ısıtılan ısı düzenleme aletine yerleştirilmiştir. Kapak kapatıldıktan sonra PCR işlemi başlatılmıştır.

Holştaynlarda FXID mutant allelinin PCR ile belirlenmesi işleminde, hazırlanan ve 0,2 mL'lik ependorflara dağıtılan PCR karışımları önce 95 °C de 10 dakika tutulmuş ve bu sürenin sonunda her bir döngüsü;

95 °C 30 saniye

55 °C 1 dakika

72 °C 30 saniye,

olacak şekilde üç farklı ısı derecesinde tutulacak şekilde 34 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonra örnekler, 72 °C de 10 dakika tutularak PCR işlemi tamamlanmıştır. Isı düzenleme aletinden çıkarılan PCR ürünleri kısa bir süre santrifüj yapılmıştır. Daha sonra, doğrudan elektroforez uygulanarak incelenen örneklerin PCR işlemi sonunda FXID yönünden genotipi belirlenmiştir.

3.5. ELEKTROFOREZ

Elektroforez işleminde, tampon çözeltisi olarak Tris-Borat-EDTA (TBE) karışımı kullanılmıştır. Kullanılan elektroforez tampon çözeltisi önce 5 X yoğunluğunda stok solüsyon olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok solüsyonu elektroforez tankındaki elektrolit çözeltisinde ve jel hazırlamada 1 X oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Elektroforez çözeltisi stok olarak 5 X hazırlanırken; 54 g Tris base; 27,5 g Borik asit; 20 mL 0,5 M EDTA (pH 8,0) 1 litre distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım koyu renkli şişelere konarak oda ısısında saklanmıştır. Kullanılacağı zaman alınan bir ölçek stok solüsyonu, distile su ile dört katı sulandırılarak kullanma solüsyonu hazırlanmıştır. Seyreltilen elektroforez tampon çözeltisi, jelin hazırlanmasında 35 mL, elektrolit çözeltisi olarak elektroforez tankında ise 300 mL olarak kullanılmıştır. Elektroforez tankında bulunan elektrolit solüsyonu, elektroforez işlemi sırasında elektrolit çözeltisinde köpürme ve bantların görüntü kalitesinde düşme olduğunda veya 6-7 elektroforez denemesinden sonra değiştirilmiştir.

3.5.1. Jel Hazırlanması

Çalışmada, jel hazırlanmasında PRONA® Basica le agaroz kullanılmıştır. Jel, PCR işleminde %2'lik yoğunlukta hazırlanmıştır. Bu amaçla PCR için 0,7 g agaroz tartılmış 250 mL'lik erlenmayere konulmuştur. Tartılan agarozun üzerine 35 mL 1 X TBE çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışımın homojen olması için karışım mikro dalga fırında tamamen saydamlaşmaya kadar ısıtılmıştır. Isıtma işlemi sonunda şeffaflaşan jel üzerine 0,5 µL/mL oranında ethidium bromide katılmıştır. Ethidium bromide'in jel içine homojen dağılmasını sağlamak amacıyla karışım hafifçe karıştırılmış ve jel teknesine dökülmeden önce erlenmayer el yakmayacak kadar soğutulmuştur. Soğuyan jel mini elektroforez tankı içindeki jel teknesine dökülerek tarak yerleştirilmiş ve saydam bir şekilde olan jel opak bir hal alarak donması için yaklaşık 30 dakika beklenmiştir.

3.5.2. Jel Dökülmesi

Çalışmada, elektrotları arasındaki uzaklık 10 cm olan Owl® marka mini elektroforez tankı kullanılmıştır. Jel, boyutları 9 x 8 x 0,5 cm olan ve ultra-viyole ışık geçiren jel teknesine dökülmüştür. Jel tekneye, hava kabarcığı olmayacak şekilde döküldükten sonra jel tarağı jele yerleştirilmiş ve jelin katılaşması beklenmiştir. Jelde hava kabarcıkları kalmışsa, kullanılmamış steril bir pipet ucuyla bu hava kabarcıkları jelin taraktan en uzak tarafına doğru çekilerek örneklerin yükleneyeceği kuyulardan uzaklaştırılır. Tarak, katılaştıran jeli yırtmadan dikkatlice çıkarılmış ve jel elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jel tanka yerleştirildikten sonra tanka, jelin üstünü tamamen örtecek kadar elektrolit çözeltisi eklenmiştir.

3.5.3. Kuyulara Örneklerin Yüklenmesi

PCR sonunda elde edilen ürünler kuyulara yüklenirken önce 1,5 cm eninde, 3 cm uzunluğunda parafilm kesilmiş ve parafilm üzerine kuyulara yüklenecek örnek sayısı kadar yükleme çözeltisi (loading buffer), örnekler için 0,4 µL olacak şekilde otomatik pipetle konulmuştur. Parafilm üzerine konan 0,4 µL yükleme çözeltisinin üzerine örneklere ait PCR ürünlerinden 3 µL eklenerek otomatik pipetle karıştırılıp her bir örneğe ait PCR ürünü ayrı bir kuyuya yüklenmiştir. En son kuyuya da PCR ürünlerinden elde edilecek bantların belirlenmesi için 50 bç'lik (MBI Fermentas® SMO241) standart DNA merdiveni (DNA Ladder) yüklenerek elektroforez işlemi başlatılmıştır. Elektroforez, 35 dakika 80 volt elektrik gerilimi uygulanarak yapılmıştır. Jelde ki örneklerin ilerleyişleri izlenerek sürenin sonunda elektroforez bitirilmiş ve tanktaki jel, teknesi ile birlikte tanktan çıkarılarak ultra-viyole (UV) ışık veren jel görüntülenme sehpasında incelenmiştir.

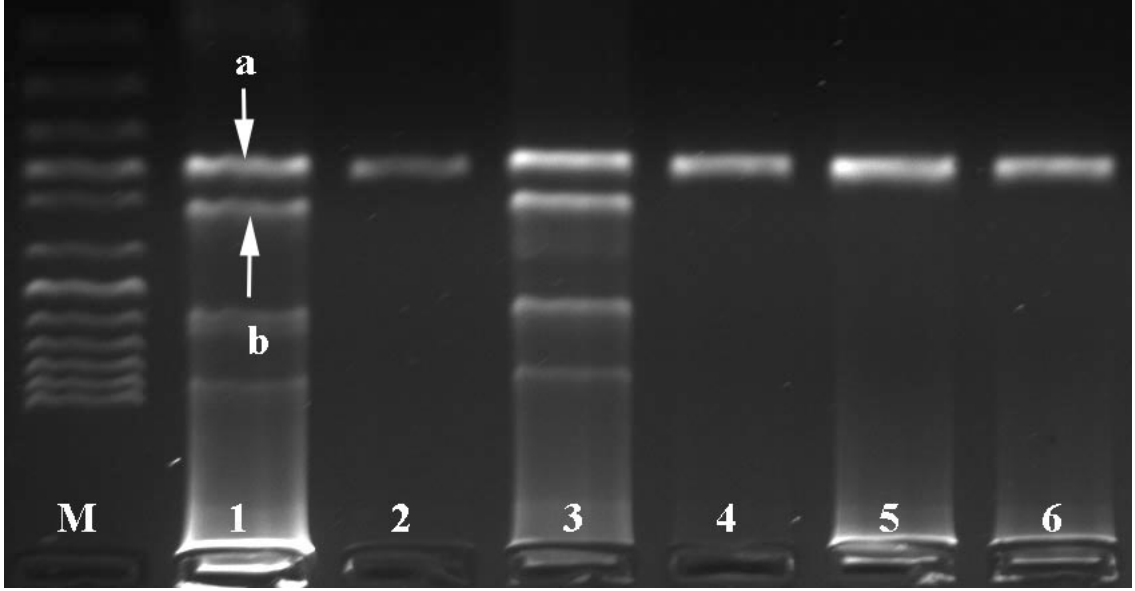
3.6. BANTLARIN GÖZLENMESİ VE FOTOĞRAF ÇEKİLMESİ

Ethidium bromide ile boyanan DNA molekülü UV ışıkta, floresan yansıma göstermiştir. Yansımanın görülmesi PCR sonunda aranan bantların varlığı kanıtlanmıştır. Elektroforez sonunda jel teknesi, üzerindeki jel ile birlikte tanktan alınarak jel görüntülenme sehpasına konulmuştur. Sehpanın UV ışığı açılarak, önce aranan 320 bç ve 244 bç uzunluğundaki bantlar jelde görüntülenerek fotoğrafı çekilmiş ve incelenen örneklerin; FXID yönünden genotipleri belirlenmiştir. Fotoğraf çekimi Kodak Gel Logic200 Imagine görüntüleme sistemi ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmada incelenen 150 baş sağmal dişi Holştayna ait DNA'lar, incelenen bireylerden alınan kan örneklerinin fenol-kloroform yöntemi ile başarı bir şekilde izole edilmiştir. DNA izolasyonunun başarısı amacı ile önce %0,5'lik agaroz jel elektroforezinde DNA'nın olup olmadığının kontrolü yapılmıştır. Yapılan 15 dakika elektroforez sonunda jeldeki etidyum bromid ile birleşen DNA'ların floresan parıldama vermesi ile DNA izolasyonunun başarısı doğrulanmıştır. İncelenecek örneklere ait kan numunelerinden izolasyonu yapılan DNA'lar kullanılarak PCR işlemi yapılmıştır. Yapılan PCR sonunda elde edilen ürünlerin % 2'lik agaroz jel elektroforezlerinde 233 bç'lik tek bandın görülmesi ile PCR'nin başarısı doğrulanmıştır. Elde edilen 233 bç'lik bantlar elektroforez sonunda, jelin ultraviyole ışık veren jel görüntüleme sehpası üzerine konulduğunda çıplak gözle kolaylıkla saptanmıştır. Daha sonra 233 bç'lik PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezlerinin fotoğrafları çekilmiştir. PCR sonunda elde edilen ürünlere göre. Bu büyüklükteki PCR ürünlerinde en iyi görüntüyü %2'lik agaroz jelde vermektedir. Yapılan elektroforez sonucunda kullanılan örneklere ait 233 bç'lik bantlar Resim 1'de görülmektedir.

PCR sonunda, taşıyıcı bireylerde 244 ve 320 bp'lik iki bant, homozigot normal bireylerde ise 244 bp'lik tek bant görülmüştür (Resim 1). Yapılan PCR sonunda incelenen 150 baş dişi Holşyatn'ın sadece birinin FXID yönünden taşıyıcı olduğu ve taşıyıcıların prevalansının yaklaşık olarak %0.67 olduğu belirlenmiştir.



Resim 4.1. M; 50 bp'lik DNA merdiveni, 1: FXID taşıyıcı kontrol; 2: FXID homozigot normal kontrol; 3: FXID taşıyıcı birey (a: 244 ve b: 320 bp'lik PCR ürünleri); 4-6: FXID yönünden homozigot normal bireylere ait 244 bp'lik PCR ürünleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Süt sığırcılığı işletmelerinde hedef, eldeki damızlık varlığından en yüksek verimi elde etmektedir. Bu da ancak, işletmede bulunan damızlıkların 305 gün sağılması ve her bir hayvandan yılda bir yavru alınması ile sağlanabilir. Dolayısıyla bir işletmede bu hedefe ulaşmayı engelleyecek bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, metabolik hastalıklar, beslenme hastalıkları ve sürü idaresinden kaynaklanan sebeplerin damızlıkların seçiminden önce ve seçilmelerinden sonra periyodik olarak kontrol edilmeleri gereklidir. Süt sığırcılığında hayvan başına alınan verimin düşmesinde etkili olan sebeplerden başka özellikle 90'lı yıllardan itibaren kalıtsal hastalıklar konusu da önemini giderek artırmaktadır. Kalıtsal hastalıklar birim hayvana başına verim kayıplarına neden olan gerek enfeksiyon ve besleme hastalıkları gerekse sürü idaresinden kaynaklanan problemlerden farklı olarak damızlık adaylarının seçim aşamalarında veya seçildikten sonra bir kez taranır ve elde edilen sonuçlara göre mevcut damızlık veya damızlık adayının sürü içindeki akıbetine karar verilir. Son yıllarda geliştirilen moleküler genetik metotları, kalıtsal hastalıklar yönünden damızlık adaylarının durumları henüz yavru iken hatta embriyonal aşamada belirlenmesi damızlık seçiminde zaman kaybının önüne geçilmesine yardımcı olabilmektedir. Türkiye'de ki çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde kalıtsal hastalıklar yeterli derecede dikkate alınmamaktadır. Ancak şu unutulmamalıdır ki bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ile ilgili olarak tanı konana kadar bu tür hastalıklar bir sürüyü, bir bölgeyi en fazla bir

ülkeyi etkilerler. Beslenme hastalıkları ve sürü idaresinden kaynaklanan problemler ise sadece bu problemlerin bulunduğu sürüler için önemlidir. Ancak kalıtsal hastalıklar, hastalık kaynağı taşıyıcıların belirlenmesine kadar, özellikle son birkaç on yıldır süt sığırcılığına yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan suni tohumlama yöntemi nedeniyle çok kısa sürede ülkeler hatta kıtalar aşarak küresel bir problem olabilmektedir. Buna en güzel örnek süt sığırcılığında en yaygın kullanılan Holştayn ırkında görülen BLAD'dır. Bu kalıtsal hastalığın varlığı ilk olarak Takaşhi ve arkadaşları tarafından 1980'li yılların başında Holştayn ırkında bildirilmiştir (65). Hastalığın genetik temeli 1992 yılında belirlendikten sonra ABD'den Japonya'ya kadar birçok ülkede bu kalıtsal hastalık yönünden taşıyıcı bireylere rastlanılmıştır (34). Nitekim ABD'de Holştayn ırkı bir boğadan köken alarak tüm dünyaya yayılan BLAD bakımından, 90'lı yıllarda dünya Holştayn popülasyonunun yaklaşık % 5,8'inin taşıyıcı olduğu tahmin edilmektedir (65, 66).

Bu tarihten itibaren BLAD yönünden kararlı tarama ve eradikasyon programları uygulayan ülkelerde hastalık prevalansı dramatik bir şekilde düşerken Türkiye gibi ülkelerde ise BLAD prevalansı artış eğilimindedir. Ayrıca, gelişen moleküler genetik yöntemler özellikle erkek damızlıklardan alınan 10 mL'lik bir kan örneğinden elde edilen DNA'lar kullanılarak şu anda bilinmeyen ancak belki on yıllar sonra varlığından haberdar olunabilecek kalıtsal hastalıklar yönünden de genetik durumlarının incelenmesine olanak vermektedir. Yine buna en güzel örnek BLAD'dır. Hastalığın genetik temeli belirlendikten sonra tüm dünyada ki BLAD taşıyıcısı erkek ve dişi damızlıkların hepsinin 1952'de ABD'de doğan Osborn'dale Ivanhoe isimli boğa ile hem anne hem de baba tarafından akraba oldukları ve bu boğadan kalma mutant genin anne baba tarafından yavruya aktarılması sonucu doğdukları belirlenmiştir (65). Daha sonra yine Holştaynlarda bildirilen CVM'ye sebep olan mutant allel varlığının ilk kez belirlendiği Carlin-M Ivanhoe Bell isimli boğanın aynı zamanda BLAD taşıyıcısı olduğu da belirlenmiştir (67).

Türkiye'de verim kayıplarına neden olan sebepler arasında yetiştiriciler ve veteriner hekimler tarafından en az bilinenler ve en az önemseneni kalıtsal bozukluklardır. Kendi damızlık stokunu oluşturan birçok ülke, özellikle erkek damızlık adaylarını her ırkta en yaygın görülen kalıtsal hastalıklar göz önünde tutarak tarayıp, bilinen kalıtsal bozukluklar yönünden genotip bilgilerini damızlık kataloglarına kaydederler. Ancak

Türkiye’de kalıtsal bozukluklar konusu sadece konu ile ilgili çalışmaları olan araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

Bir gende meydana gelen mutasyon, yavrunun ölümüne veya döl tutma problemlerine neden olarak döl verimini düşürür ve işletme için ekonomik kayıba neden olurlar. Bazı durumlarda da hasta yavrular doğar, doğan hasta yavrularda kalıtsal hastalığın neden olduğu semptomların tedavisi amacıyla yapılan veteriner hekim müdahaleleri ve yapılacak sağlık harcamaları işletme için ekonomik kayba neden olur. Çiftlik hayvanlarında önemli ekonomik kayıplara neden olan kalıtsal bozukluklar çoğunlukla resesif otozomal kalıtım yolu izlerler. Bu nedenle bir mutasyon yönünden taşıyıcı bireylerin damızlık olarak kullanılmadan önce taranmaları gereklidir. Bu uygulamalar özellikle erkek damızlıkların, hasta yavru doğumuna neden olabileceği için damızlık olarak kullanılmadan önce genotiplerinin belirlenerek taşıyıcıların yetiştirme programlarından çıkartılmaları gereklidir (68). Bazı kalıtsal hastalıklar çok kısa sürede sınırlar ve hatta kıtalar aşarak tüm dünya için problem oluşturabilmektedirler. Örnek olarak BLAD, CVM, FXID ve DUMPS vs (41). Bazıları ise sadece bir ülkede lokal bir ırkta görülmekte ve bu ülke ile sınırlı kalmaktadır. Örnek olarak Japon Siyah sığır ırkında görülen klauidin-16 (CL-16) hastalığı verilebilir (69).

Entansif sığır yetiştiriciliğinde yüksek genetik değere sahip az sayıdaki boğadan elde edilen spermalar tüm dünyada ki ıslah programlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Suni tohumlama ve multiple ovulasyon, in vitro ve in vivo fertilizasyon yöntemleri ve embriyo transferleri gibi gelişmiş üreme teknolojilerinin sığır yetiştiriciliğinde yaygın kullanılması, üstün verimli tek bir boğanın tüm dünyada binlerce buzağının babası olmasına imkan vermektedir. Süt sığır yetiştiriciliğinde kullanılan bu yöntemler yardımıyla entansif yetiştiriciliğin yapıldığı ülkelerde hayvan başına süt verim ortalamasında önemli ölçüde iyileştirme elde edilmiştir. Islah çalışmalarında kullanılan bu ileri üreme teknikleri seleksiyon etkinliğini artırmış ve sığırlarda jenerasyon aralığını kısaltarak genetik iyileştirme ve seleksiyonda başarıyı artırmıştır. Bazen kızlarının yüksek süt ve döl verimleri nedeniyle, ıslah çalışmalarında yaygın olarak kullanılan boğalar, mutasyona uğramış allel yönünden taşıyıcı olabilmektedirler. Bu avantajlarının yanında, damızlık bir bireyde ortaya çıkarak döl tutma problemlerine ya da yavru kayıplarına sebep olan mutant allellerin frekansının popülasyon içinde hızla artmasına yardım etmesi de bu tekniklerin dezavantajlarıdır (70).

Holştayn sığır ırkı, süt sığırı yetiştiriciliğinde dişilerin yüksek süt verimi erkeklerin ise yüksek etçilik özelliklerinden dolayı tüm dünyada en çok tercih edilen, dolayısıyla en yaygın olarak yetiştirilen sütçü sığır ırkıdır. Holştayn ırkına ait erkek buzağuların sadece %14'ü damızlık olarak kullanılmaktadır. Bu uygulama ise tüm dünyadaki Holştayn ırkı içindeki akrabalığı yükseltmektedir (65). Ayrıca projeni test verilerine göre sıralanan ve kızları yüksek verim özelliklerine sahip boğaların genetik materyal olarak yaygın kullanılması genetik havuzun daralmasına neden olmaktadır. Irk içinde üstün verimli damızlıkların bu şekilde yaygın kullanılması, hayvanlar arasındaki genetik benzerliği artırmasının yanı sıra BLAD, CVM ve DUMPS gibi resesif genetik bozuklukların yayılmasını da kolaylaştırmaktadır. Yani akrabalı yetiştirme resesif kalıtım şekli gösteren genetik bozuklukları determine eden genlerin frekansının artmasına neden olabilmektedir (65, 66).

BLAD ve DUMPS gibi kalıtsal hastalıkların Holştayn yetiştiriciliğinde yılda bir yavru elde edilmesini hedefini önlediği 1990'lı yılların başında fark edilmiştir (23). Hayvancılıkta ilerlemiş ülkelerde, hayvansal üretimi olumsuz yönde etkileyen kalıtsal bozuklukları taşıyan bireylerin belirlenerek sürüden ayıklanmasına yönelik çalışmalar 1980'li yılların sonundan beri yapılmaktadır. Ancak, Holştayn yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olan CVM, BLAD ve DUMPS gibi kalıtsal bozuklukların resesif kalıtım yolu izlemeleri eldeki sürüde taşıyıcıların en etkili yöntemle belirlenerek sürüden uzaklaştırılmaları önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu sorunda son yıllarda geliştirilen ve insan hekimliğinde de kalıtsal hastalıkların belirlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan ve bir damla kan, dışkı veya kıl kökünden elde edilen DNA'nın kullanılmasına izin veren moleküler genetik yöntemlerin veteriner hekimlikte kullanılmaya başlanması ile kolaylaşmıştır (68). Moleküler genetik alanındaki gelişmeler doğumla birlikte veya yaşamın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkabilen anomalilere sebep olan mutasyonların belirlenmesine izin verir. Bu işlemde mutant allellerin veya mutant gene yakın olan markır gen olarak adlandırılan genlerin belirlenmesi ile tanının konması şeklinde yapılır (71). Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde bu yeni moleküler genetik tekniklerin kullanımı anomalilere sebep olan genlerin yayılmasını önleyebilir. Bu sayede istenmeyen alleller moleküler metotlarla belirlenerek hasta yavruların doğumu engellenebilir (71).

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, yetiştiriciliği yapılan türler ve ırklarda yaygın görülen genetik bozukluklar yetiştiriciler için önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. İşletmede kullanılan hayvanlarda görülen kalıtsal hastalıklara bağlı olarak anormal anatomik yapılar veya döl verimi düşüklüğüne neden olabilmektedir. Be nedenle kalıtsal hastalıkların negatif etkileri, yetiştiriciler ve yetiştirici birlikleri tarafından bir ülkedeki mevcut damızlık popülasyonunda verim kayıplarına neden olan genlerin etkilerinin kontrol altında tutmalarını zorunlu kılmaktadır (71). Örnek olarak, bir kalıtsal hastalık olduğu 1980'li yılların sonunda belirlenen BLAD'ın ABD ekonomisine yıllık kaybının beş milyon dolar olduğu belirlenmiştir (34). Bu nedenle bilinen kalıtsal hastalıkların sebep olabilecekleri ekonomik kayıpların önlenmesi önemlidir. Bu da ancak kullanılması düşünülen damızlıklar içerisinde taşıyıcıların en kısa sürede kesin ve doğru olarak belirlenmesine olanak sağlayan yöntemlerin geliştirilmesi ve kullanılması ile gerçekleştirilebilir. Moleküler genetik alanında ki ilerlemeler kalıtsal bozukluklara neden olan mutant allellerin canlının hayatının belirli dönemlerinde ve yüksek doğrulukta belirlenmesine olanak vermektedir. Bu sayede kalıtsal kusurların popülasyon içerisinde ki taşıyıcı damızlıkların belirlenerek hasta yavru doğması engellenebilir.

Eldeki damızlıklar, kalıtsal kusura neden olan mutant genler yönünden taranıp, normal ve taşıyıcı bireyler belirlendiğinde mevcut damızlıklar arasındaki çiftleştirmeler planlanabilir veya taşıyıcı bireyler yetiştirmeden çıkartılabilir. Çiftlik hayvanlarında belirlenen kalıtsal bozuklukların çoğunun Mendel kalıtım yolu izlediği ve bir veya iki lokustan kaynaklandığı tespit edilmiştir (72). Sığırlarda Mendel kalıtım şekli gösteren yaklaşık 300 kalıtsal bozukluk belirlenmesine rağmen bunların çok azının genetik nedeni belirlenebilmiştir (71, 72).

Yapılan bu çalışmada kullanılan hayvanlara ait DNA'lar fenol-kloroform yöntemi ile izole edilmiştir. Son yıllarda üretilen DNA izolasyon kitleri ile karşılaştırıldığında bu yöntemin daha ucuz ve elde edilen DNA'ların miktarının çokluğundan dolayı ticari kitlelere tercih edilebileceği düşünülmüştür. Çalışmada DNA izolasyonu için çalışma materyali olan hayvanlardan alınan kanlar için 100 µL lökosit kullanılmıştır. Kullanılan bu miktar DNA izolasyonunda karşılaşılabilecek olası sorunlar karşısında geriye dönülerek tekrar DNA izolasyonuna olanak vermektedir. Böylelikle incelenecek hayvanlardan fazla kan alma ihtiyacı ortadan kalkmaktadır. Bu nedenle tüm kanın

kullanıldığı diğer fenol-kloroform yöntemlerine tercih edilmiştir. Ayrıca bu yöntem ile DNA izolasyonunda az miktarda sarf malzeme kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan fenol-kloroform DNA izolasyon yöntemi dört aşamada yapılmakta ve her aşamada 1,5 mL'lik yeni, etiketli steril plastik tüplerin kullanılmasını gerektirmektedir. Etiketli yeni steril plastik tüplerin hazırlanması zaman ve işçilik gerektirmektedir. Bu durum yöntemin tek olumsuz yönü olarak görülmesine karşılık; yöntemin kolay uygulanabilirliği, ucuzluğu ve kısa sürede tamamlanması avantajlı yönleri olduğu için tercih edilebileceği düşünülmüştür.

Birçok kalıtsal hastalığın kalıtım şeklinin resesif kalıtım yolu izlediği artık bilinmektedir (73). Holştayn'larda FXID resesif kalıtım şekli gösterdiğinden bu kalıtsal bozukluğun yayılmasında heterozigot damızlıkların rolü çok önemlidir. Heterozigot bireyler spesifik semptomlar göstermediği için popülasyon içinde fark edilmeden sürü içinde yaşamlarını sürdürebilirler. Heterozigot bireyin mutant alleli bir sonraki jenerasyona geçirme olasılıkları % 50'dir. Bu nedenle taşıyıcı bireylerin belirlenerek damızlık sürülerden uzaklaştırılması FXID neden olan mutant allelin popülasyondan eradikasyonu için gereklidir. Ancak FXID gösteren heterozigot bireylerde döl tutma problemlerine neden olabileceği bildirilmektedir (73). Bu nedenle sürü içindeki FXID neden olan mutant alleli taşıyan heterozigotların belirlenmesinde "repat breeding" olarak adlandırılan döl tutma problemi yaşayan bireylere eğilmek önemli olabilir. Holştayn yetiştiriciliğinde FXID neden olan mutant allele sahip inek ve boğaların yetiştirme programlarından çıkartılması, bu kalıtsal hastalığın sürüden başarılı eradikasyonu için önemlidir. Bu amaçla, özellikle sığır yetiştiriciliğinde mutant gen yönünden mevcut damızlıklar, özellikle damızlık boğalarda geniş tarama yapılması gerekmektedir. Bu nedenle erkek damızlıkların FXID yönünden genetik durumlarının belirlenmesi ve taşıyıcıların damızlıktan çıkarılması, dişi damızlıklarında FXID yönünden durumları belirlenerek olası taşıyıcı/taşıyıcı çiftleştirilmesi engellenmesi, hasta ve taşıyıcı yavru doğması önlenmelidir.

FXID ilk olarak 1969 yılında bildirilmiştir. Marron ve arkadaşları tarafından ABD'de yetiştirilen Holştayn sığırlarında görülen koagülopati sendromunun FXI geninin 12. ekzonuna 76 baz çifti uzunluğunda ve adeninden zengin bir parçanın eklenmesi ile oluştuğunu belirlemişlerdir (63). Daha sonra Japon Siyah sığır ırkında FXI geninin 9. ekzonunda 15 baz çifti uzunluğunda bir parçanın eklenmesi sonucu Japon Siyah sığır

ırkında FXID'ye neden olduğu bildirilmiştir (74). Daha önce yapılan çalışmalarda ve bu çalışmada Türkiye'de yetiştirilen Holştaynlar incelenmiştir. Türkiye'de bulunan yerli sığır ırklarında FXID yönünden yapılan bir çalışma olmamıştır. Hindistanda yetiştirilen Karan Fries ırkı sığırlarda FXID neden olan mutant allele rastlanılmamıştır (75). Aynı şekilde FXID neden olan mutant allele Hindistanda yetiştirilen farklı ekzotik sığır (*B. taurus*) ırklarından, Hindistan yerli *B. Indicus* zebu sığırlarından, *B. taurus* x *B. indicus* melezlerinden ve Hindistan mandalarından (*Bubalus bubalis*) 1001 boğada FXID yönünden yapılan çalışmada FXID alelline rastlanılmamıştır. Bu çalışmada incelenen Holştayn'lardan sadece iki Holştayn boğanın FXID taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (76). Bu bulgular yerli sığır ırklarında FXID'ye neden olan allelelin bulunması konusunda olasılığın düşük olduğunu düşündürmektedir. Ancak yerli ırkların hem ekzon 12 hem de ekzon 9'da görülen insesiyonlar yönünden taranmaları düşünülebilir.

Holştayn sığır genomunda FXI geninin 12. ekzonuna eklenen 75 baz çifti uzunluğundaki parçanın neden olduğu mutasyonun belirlenmesi için yapılan PCR işlemi sonunda taşıyıcı bireylerde 244 bp ve 320 bp'lik iki bant görülmektedir. Yapılan çalışmada uygulanan PCR tekniği ile yapılan taramada taşıyıcı bir bireyde 244 bp ve 320 bp'lik iki bant, normal bireylerde ise 244 bp'lik tek bant belirlenmiştir.

Marron ve arkadaşları tarafından ABD'de 419 baş Holştayn sığırı kullanılarak yapılan çalışmada, incelenen hayvanlardan beşinin FXID'ye neden olan allel yönünden taşıyıcı olduğunu belirlenmişler ve incelenen örnekler içerisinde mutant allel frekansının %1,2 olduğu bildirilmiştir (77, 78). Ghanem ve Nishibori Batı Japonya'da 2006-2007 yılları arasında 12 farklı çiftlikten 500 baş Holştayn ineği FXID yönünden incelenmiş ve beş ineğin FXID mutasyonu taşıdığı ve taşıyıcıların insidensinin ise %1 olduğunu belirlemişlerdir. Yine bu çalışmada FXID taşıyan bir boğanın sperması ile tohumlanan düvelerden doğan altı dişi buzağıdan sadece birinin FXID taşıyıcısı olduğu, bu boğanın aynı zamanda CVM taşıyıcısı olduğu ve bu boğanın dişi yavrularının üç tanesinin de CVM taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (78). Ghanem ve arkadaşlarının incelediği 10 mumifiye fötusun iki tanesinin FXID taşıyıcısı olduğunu belirlemişler ancak FXID'nin gebe hayvanlarda mumifiye fötüs oluşumu arasında bir ilişki bulunamamıştır (79). Japonya'da incelenen 40 döl tutma problemi olan inek içinde bir ineğin FXID yönünden taşıyıcı olduğunu ve bu hayvanlarda FXID prevalansının %2,5 olduğu belirlenmiştir (63). Aynı şekilde, Polonya'da yetiştirilen Holştayn popülasyonunda 140 hayvan FXID

yönünden incelenmiş, seçilen hayvanlardan 103'ü Polonya'daki farklı çiftliklerden rasgele seçilmiş, 28 örnek döl tutma problemlili (repeat breeder) inek ve 9 örnek ise tekrarlayan mastitis gösteren bireylerden oluşmuştur. Döl tutma problemlili inekler klinik olarak sağlıklı ancak en az üç tohumlamada gebe kalmayan hayvanlardır. Tekrarlayan mastitisli hayvanların geçmişleri incelendiğinde en az iki kere mastitis testi pozitif olan hayvanlar olduğu göze çarpmaktadır (63). Çalışma sonunda rasgele seçilen 103 baş mastitisli 9 baş inekte FXID sebep olan mutant allele rastlanılmamıştır. Çalışma sonunda sadece döl tutma problemi olan ineklerden bir tanesinin FXID mutasyonu yönünden taşıyıcı olduğu belirlenmiştir (63). FXID'ye neden olan mutant alleli genotipinde bulunduran hayvanların östrus sikluslarında luteolizisin yavaş gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu durum aynı zamanda ovulasyona yakın zamanda oluşması gereken östradiol pikinin yavaşlığına eşlik eden küçük folikül gelişimiyle ilişkilendirilebilir. Ayrıca hasta hayvanlarda döl tutma probleminin prevalansının diğerlerinden %50 daha fazla olduğu belirlenmiştir (78). Polonya'da yetiştirilen Holştaynlarda daha önce yapılan bir çalışmada üç taşıyıcı birey belirlenmiş ve bunlardan ikisinin döl tutma problemi olduğu birinin ise normal fertilitate gösterdiği bildirilmiştir (63).

Bu da göstermektedir ki FXID yönünden döl tutma problemlili olan hayvanları incelemenin taşıyıcı bulma şansını artırabilecektir. Japonya'da rasgele seçilerek incelenen 123 Japon Siyah sığırından (42 boğa ve 81 inek) 7'sinin mutant FXID alleli yönünden homozigot oldukları ancak bu hayvanların her hangi bir semptom göstermedikleri belirlenmiştir. Ayrıca incelenen bu hayvanların 51 başının ise taşıyıcı oldukları belirlenmiştir (74). Watanabe ve arkadaşlarının Japon Siyah sığırını inceledikleri yaptıkları bir çalışmada, FXID yönünden mutant alleli taşıyan hayvanların homozigot olmaları durumunda klinik olarak kanama eğilimlerinin olmadığı, ancak hayatta olan hasta buzağılarda infeksiyöz hastalıklara yüksek hassasiyet ve bu hayvanlar içinde repeat breeding olarak adlandırılan döl tutma problemlilerinin bulunduğu bildirilmiştir. Klinik görünümdeki bu farklılıkların sebebi Japon Siyah sığır ırkında ki FXI geninde meydana gelen mutasyonun Holştaynlarda FXI geninde meydana gelen mutasyondan farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (80).

Hindistan'da yetiştirilen Holştayn boğalarda taşıyıcıların frekansının %0,6 olduğu ve boğaların pedigrileri incelendiğinde, bu boğaların annelerinin homozigot normal olduğu

babalarının ise spermaları Hindistan'da suni tohumlamada kullanılan Danimarka orijinli bir boğa olduğu belirlenmiştir. ABD Holştayn popülasyonunda bu kalıtsal hastalığın frekansının %1,2 olduğunu bildiren çalışmalarla karşılaştırıldığında Hindistan'da FXID frekansının ABD'ye göre yarı yarıya düşük olduğu belirlenmiştir (76). Yine Hindistan'da yetiştirilen 307 Holştayn sığır incelenmiş ve FXI yetmezliği yönünden hasta ve taşıyıcı bireye rastlanmamıştır (63).

Türkiye'de FXID'ye neden olan mutant allelin varlığı ilk kez 2009 yılında Meydan ve arkadaşları tarafından 225 Holştayn inek kullanarak yapılan çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışma sonunda incelenen hayvanların dört tanesinin FXID taşıyıcısı olduğu bildirilmiştir (61). Aynı araştırmacıların Ankara ve Şanlıurfada mezbahaya getirilen 350 baş dişi Holştayn sığırın incelendiği çalışmada, incelenen hayvanlardan dört tanesinin taşıyıcı olduğu, mutant allelin frekansının %0,6, taşıyıcıların prevalansının ise yaklaşık olarak %1,2 olduğunu bildirmişlerdir (72). Öner ve arkadaşları 2010 yılında Bursa ilinde yetiştirilen 170 baş Holştayn ineğin ikisinin FXID taşıyıcısı olduğunu ve FXID'ye neden olan mutant allelin frekansının %0,6 ve taşıyıcıların prevalansının ise %1,17 olduğunu bildirmişlerdir (81). Bu çalışmada ise Kayseri ilinde yetiştirilen 150 baş dişi Holştayn incelenmiş ve bir tane taşıyıcı bireye rastlanılmıştır. Çalışma sonunda incelenen hayvanlar arasında taşıyıcıların prevalansının yaklaşık olarak % 0,7 olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada Türkiye'de FXID'nin araştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda elde edilen prevalanslardan düşük olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Bu düşük prevalansın sebebinin, incelenen hayvan sayısı ve örneklerin toplandığı çiftliklerde döl tutma problemlili bireylerin ayrılması ile FXID yönünden farkında olmadan bir seleksiyon yapılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bu dört çalışma göstermektedir ki Türkiye Holştayn popülasyonunda mutant FXID alleli vardır. Boğaların ve damızlık dişilerin bu kalıtsal bozukluk yönünden taranmaları gereklidir.

Türkiye'de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda FXID, BLAD, CVM ve DUMPS gibi kalıtsal hastalıkların neden olduğu hastalıklara ait klinik vakaların gerçek sayısı bilinmemektedir. Fakat bu hastalıklar yönünden taşıyıcılarının bulunması, dikkatli bakıldığında bu kalıtsal hastalıklar yönünde homozigot bireylerin görülebileceği anlamına gelmektedir.

Yapılan çalışmada Türkiye'deki Holştayn popülasyonunda FXID'ye sebep olan mutant allelin varlığının araştırılması ve ileride Türkiye'deki damızlıkların mutant FXID yönünden taranabilmesi için rutin kullanımda uygulanabilir bir yöntemin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonunda incelenen bireyler arasında bir tane taşıyıcı bireye rastlanılmasının sebebinin örnek sayısının azlığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Daha sonraki çalışmalarda FXID, CVM ve BLAD gibi kalıtsal hastalıkların işletmelerde önemli ekonomik kayıplara neden olabileceği, kalıtsal hastalıklar yönünden dişi ve erkek damızlıkların ve özellikle döl tutma problemi olan hayvanların incelenmesi bu kalıtsal hastalıkların frekanslarının popülasyon içinde azaltılarak kalıtsal hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kaybın önlenmesi için önemlidir. Bu ve benzer kalıtsal hastalıklar yönünden taşıyıcı bireylerin belirlenmesi süt sığırcı yetiştiriciliğinde, üretimin genetik olarak iyileştirilmesi için çok önemli bir adımdır.

Moleküler seviyede belirlenen kalıtsal anomalilerin sayısının gün geçtikçe artacağını söylemek yanlış olmayacaktır. Kalıtsal anomalilerden sorumlu genlerdeki mutasyonları belirlemek için geliştirilen testler, yakın gelecekte ıslah programlarında yoğun olarak kullanılacağı düşünülmektedir. Gittikçe küçülen ve uluslar arası ticaretin öneminin arttığı, ticaret için ülkeler arasındaki gümrük engellerinin kalktığı dünyada, anomalilerin genetik tanısının yapılması yetiştiriciler ve yetiştirici birlikleri açısından mutant genin orijini olan boğaların tüm dünyada kullanılmasını önleyebileceği için çok önemlidir.

6. KAYNAKLAR

1. Citek J, Rehout V, Hajkova J, Pavkova J. Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic. *Vet Med Czech* 2006; 51(6): 333-339
2. Kehril MK, Ackermann MR, Schuster DE, et al. Animal model of human disease, bovine leukocyte adhesion deficiency, β_2 integrin deficiency in young Holstein cattle. *Cornell Vet* 1992; 82: 103-109
3. Patel RK, Singh KM, Soni KJ, et al. Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian Holstein cattle. *J Appl Genet* 2006; 47: 239-242
4. Muraleedharan P , Khoda V, Sven G, et al. Incidence of hereditary citrullinemia and bovine leukocyte adhesion deficiency syndrome in Indian dairy cattle (*Bos taurus*, *Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalus*) population, *Arch Tierz* 1999; 42: 347-352
5. Mukhopadhyaya PN, Jha M, Muraleedharan P, et al. Simulation of normal, carrier and affected controls for large-scale genotyping of cattle for factor XI deficiency. *Genet Mol Res* 2006; 5 (2): 323-332
6. Gentile A, Testoni S. Inherited disorder of cattle: a selected review. *Slov Vet Res* 2006; 43(1): 17-29

7. Ackermann MR, Kehril ME, Morfitt DC. Ventral dermatitis and vasculitis in a calf with bovine leukocyte adhesion deficiency. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 413-415
8. Başaran N. Tıbbi Genetik. (Altıncı Baskı), Bilim Teknik Yayınevi, İstanbul, 1996: s 49
9. Distl O. The use of molecular genetics in eliminating of inherited anomalies in cattle. *Arch Tierz Dummerstorf* 2005; 48(3): 209-218
10. Ohba Y, Kitagawa H, Kitoh K, et al. A deletion of the paracellin-1 gene is responsible for renal tubular dysplasia in cattle. *Genomics* 2000; 68: 229-236
11. Shanks RD, Greiner MM. Relationship between genetic merit of Holstein bulls and deficiency of uridine - 5'-monophosphate synthase. *J Dairy Sci* 1992; 75: 2023.2029
12. Rezaee AR, Nassiry MR, Sadeghi B, et al. Implication of complex vertebral malformation and deficiency of uridine monophosphate synthase on molecular-based testing in the Iranian Holstein bulls population. *African Journal of Biotechnology* 2009; 8(22): 6077-6081
13. Liptrap RM, Gentry PA, Ross ML, Cummings E. Preliminary findings of altered follicular activity in Holstein cows with coagulation factor XI deficiency. *Vet Res Commun* 1995; 19: 463-471
14. Schwenger W, Schöber S, Simon D. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. *Genomics* 1993; 16: 241-244
15. Ghanem ME, Nakao T, Nishibori M. Deficiency of uridine monophosphate synthases (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle. *Anim Reprod Sci* 2006; 91: 45-54
16. Kaminski S, Grzybowski G, Rusc A. No incidence of DUMPS carriers in Polish dairy cattle. *J Apply Genet* 2005; 46(4): 395-397
17. Akyüz B, Ertuğrul O. Holştayn sığırlarında sığır lökosit bağlanma noksanlığı (SLBN) ve tanı yöntemleri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2006; 3(1): 57-60
18. Robinson J, Shanks RD. The inherited deficiency of uridine monophosphate synthase in dairy cattle. *J Cass* 1990; 1:1.4

19. Harlizius B, Schröder S, Tammen I, Simon D. Isolation of the bovine uridine monophosphate synthase gene to identify the molecular basis of DUMPS in cattle. *J Anim Breed Genet* 1996; 113:303-309
20. Akyüz B, Kul BÇ. Türkiye’de Holştayn ırkı ineklerde üridin monofosfat sentez eksikliğinin (DUMPS) belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2009; 56: 231-232
21. Agerholm S, Bendixen C, Andersen O, Arnbjerg J. Complex vertebral malformation in Holstein calves. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 283-289
22. Shanks RD, Bragg DS, Barton EP. Uridine monophosphate synthase of Jersey bulls. *J Dairy Sci* 1989; 72:722-725
23. Fries R, Ruvinsky A. *The Genetics of Cattle*. CAB International. Wallingford, 1999; p 710
24. Shanks RD. Reproductive consequences of deficiency of uridine monophosphate in Holstein cattle. *Am. J Vet Res* 1990; 51:800-802
25. Shanks RD, Popp RG, Mecoy GC, et al. Identification of the homozygous recessive genotype for the deficiency of uridine monophosphate synthase in 35-day bovine embryos. *J Reprod Fertil* 1992; 94:5-10
26. Fesus L, Zsolnai A, Anton I, et al. BLAD genotypes and cow production traits in Hungarian Holsteins. *J Anim Breed Genet* 1999; 116: 169-174
27. Craznik U, Grzybowski G, Kaminski S, et al. Effectiveness of a program aimed at the elimination of BLAD-carrier bulls from Polish Holstein-Friesian cattle. *Vet Rec* 2007; 43: 56-70
28. Kehrlı M, Shuster DE, Ackerman MR. Leukocyte adhesion deficiency among Holstein cattle. *Cornell Vet* 1992; 82: 103-109
29. Batt CA, Wagner P, Wiedmann M, et al. Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency by nonisotopic ligase chain reaction. *Anim Genet* 1994; 25: 95-98
30. Özbeyaz C. Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) sığırlarda bağışıklık sistemi yetmezliği. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi* 1997; 9(1): 6-8

31. Schuster DE, Kehril ME, Ackermann MR, Gilbert RO. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 9225-9229
32. Healy PJ. Bovine Leukocyte adhesion deficiency (BLAD) another genetic defect of Holstein-Friesians. *Aust Vet J* 1992; 69:190
33. Kriegesmann, B, Jansen S, Baumgartner BG, Brening B. Partial genomic structure of the bovine CD18 gene and the refinement of test for bovine leukocyte adhesion deficiency. *J Dairy Sci* 1997; 80:2547-2549
34. Akyüz B, Ertuğrul O. Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Turkish native and Holstein cattle. *Acta Vet Hung* 2006; 54: 173-178
35. Andresen E, Flagstad T, Basse A. Evidence of lethal trait A 46 in Black Pied Danish cattle of Friesian descent. *Nord Vet Med* 1970; 22:473-485
36. Kishimoto TK, Larson RS, Corbi AL, et al. The leukocyte integrins. *Adv Immunol* 1989; 46: 149-182
37. Muraleedharan P, Khoda V, Sven G, et al. Incidence of hereditary citrullinemia and bovine leukocyte adhesion deficiency syndrome in Indian dairy cattle (*Bos taurus*, *Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalus*) population. *Arch Tierz*, 1999; 42(4): 347-352
38. Dennis JA, Healy PJ, Beadudet AL, O'Brien WE. Molecular definition of bovine argininosuccinate synthase deficiency. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86: 7947-7951
39. Patel RK, Singh KM, et al. Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian Holstein cattle. *J Appl Genet* 2006; 47(3): 239-242
40. Healy PJ. Testing for undesirable traits in cattle an Australian perspective. *J Anim Sci* 1996; 74: 917-922
41. Andresen E, Basse A, Brummerstedt E. Lethal trait A 46 in cattle. Additional genetic investigations. *Nord Vet Med* 1974; 26: 275-278
42. Agerholm JS. Inherited disorders in Danish cattle. *APMIS Suppl* 2007; 122 (115): 1-76

43. Robinson JL, Burns JL, Magura CE, Shanks RD. Low incidence of citrulinemia carriers among dairy cattle of the United States. *J Dairy Sci* 1993; 76:853-858
44. Hays VW, Swenson MJ. Minerals and bones. In: Swenson MJ, Recce WO (eds.). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*, 11 th ed. Cornell University Press, Ithaca 1993; 530-1
45. Machen M, Montgomery T, Holland R, et al. Bovine hereditary zinc deficiency: lethal trait A46. *J Vet Diagn Invest* 1996; 8: 219–27
46. Brummerstedt E, Flagstad T, Basse A, Andresen E. The effect of zinc on calves with hereditary thymus hypoplasia (lethal trait A 46). *Acta Path Microbiol Scand Section A* 1971;79: 686-687
47. Ojo SA, Leipold HW, Guffy MM. Facial-digital syndrome in purebred Angus cattle. *Vet Med Small Anim Clin* 1975; 70: 28-29
48. Huston K. Fifteen years with mulefoot Holsteins. Part A: breeding studies. *Holstein-Friesian World* 1967; 64: 2929-2931
49. Grüneberg H, Huston K. The development of bovine syndactylism. *J Embryol Exp Morph* 1965; 19: 251-259
50. Hart-Elcock L, Leipold HW, Baker R. Hereditary bovine syndactyly: diagnosis in bovine fetuses. *Vet Pathol* 1987; 24: 140-147
51. Agerholm JS, Andersen O, Almskou MB, et al. Evaluation of the inheritance of the complex vertebral malformation syndrome by breeding studies. *Acta Vet Scand* 2004; 45: 133-137
52. Nagahata H, Nishiyama T, Kanae Y, et al. A retrospective survey of the prevalence of complex vertebral malformation carriers in 9 Holstein dairy herds in Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci* 2009; 71(6): 793-795
53. Berglund B, Persson A, Stalhammar H. Effects of complex vertebral malformation on fertility in Swedish Holstein cattle. *Acta Vet Scand* 2004; 45: 161-165
54. Ghanem ME, Akita M, Suzuki T, et al. Complex vertebral malformation in Holstein cows in Japan and its inheritance to crossbred F1 generation. *Animal Reproduction Sci* 2008; 103: 348-354

55. Steffen D. CVM threatens Holstein herds. *Vet Pract News* 2001; 42: 36
56. Chu Q, Sun D, Yu Y, et al. Identification of complex vertebral malformation carriers in Chinese Holstein. *J Vet Diagn Invest* 2008; 20: 228-230
57. Agerholm JS, Bendixen C, Arnbjerg J, et al. Morphological variation of “complex vertebral malformation” in Holstein calves. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 548-553
58. Schütz E, Scharfenstein M, Brenig B. Implication of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency DNA-based testing on disease frequency in the Holstein population. *J Dairy Sci* 2008; 91: 4854-4859
59. Ruoea A, Kaminski S. Prevalence of complex vertebral malformation carriers among Polish Holstein-Friesian bulls. *J Appl Genet* 2007; 48(3): 247-252
60. Bouma BN, Griffin JH. Human blood coagulation factor XI. Purification, properties and mechanism of activation by activated factor XII. *Biol Chem* 1977; 252: 6432-6437
61. Meydan H, Yildiz MA, Özdil F, ark. Identification of factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2009; 51: 5
62. Marron BM, Robinson JL, Gentry PA, Beever JE. Identification of a mutation associated with factor XI deficiency in Holstaysn cattle. *Anim Genet* 2004; 35(6): 454-456
63. Gurgul A, Rubis D, Slota E. Identification of carriers of the mutation causing coagulation factor XI deficiency in Polish Holstein-Friesian cattle. *J Appl Genet* 2009; 50(2): 149-152
64. Haton BM, Beever JE, Robinson JL. Mutation that causes factor XI deficiency in Holstein cattle. *Illini Dairy Net Papers* 2000.
65. Mirck MH, Von Bannisseht-Wijsmuller TH, Timmermans-Besselink WJH, et al. Optimization of the PCR test for the mutation causing bovine leukocyte adhesion deficiency. *Cell Mol Biol* 1995; 41(5): 695-698
66. Janosa A, Baranyai B, Dohy J. Comparison of milk production of the progeny of BLAD-carrier and healthy Holstein bulls in Hungary. *Acta Vet Hung* 1999; 47(3): 283-289

67. Ghanem ME, Isobe N, Kubota H, et al. Ovarian cyclicity and reproductive performance of Holstein cows carrying the mutation of complex vertebral malformation in Japan. *Reprod Dom Anim* 2008; 43: 346-350
68. Healy PJ. Testing for undesirable traits in cattle: an Australian perspective. *J Anim Sci* 1996; 74: 917-922
69. Okada K, Ishikawa N, Fujimori K, et al. Abnormal development of nephrons in claudin -16- defective Japanese Black cattle. *J Vet Med Sci* 2005; 67(2): 171-178
70. Windsor PA, Agerholm JS. Inherited diseases of Australian Holstein-Friesian cattle. *Aust Vet J* 2009; 87(5): 193-199
71. Distl O. The use of molecular genetics in eliminating of inherited anomalies in cattle. *Arch Tierz Dummerstorf* 2005; 48(3): 209-218
72. Meydan H, Yildiz MA, Agerholm JS. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. *Acta Vet Scan* 2010; 52: 56
73. Ghanem ME, Akita M, Suzuki T, et al. Complex vertebral malformation in Holstein cows in Japan and its inheritance to crossbred F1 generation. *Anim Reprod Sci* 2008; 103: 348-354
74. Ohba Y, Takasu M, Nishii N, Takeda et al. Pedigree analysis of factor XI deficiency in Japanese Black cattle. *J Vet Med Sci* 2008; 70(3): 297-299
75. Azad MS, Gupta ID, Archana V, et al. Factor XI gene (plasma thromboplastin antecedent) deficiency in Karan Fries Cattle. *Current trends in biotechnology and pharmacy*,
Erişim:<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ctbp&volume=5&issue=1&article=012> (Abstract) 2011; 5 (1)
76. Patel RK, Soni KJ, Chauhan JB, et al. Factor XI deficiency in Indian *Bos taurus*, *Bos indicus*, *Bos taurus x Bos indicus* crossbreds and *Bubalus bubalis*. *Genetics and Molecular Biology* 2007; 30(3): 580-583

77. Marron BM, Robinson JL, Gentry PA, Beever JE. Identification of a mutation associated with factor XI deficiency in Holstein cattle. *Anim Genet* 2004; 35: 454-456
78. Ghanem ME, Nishibori M. Genetic description of factor XI deficiency in Holstein semen in Western Japan. *Reprod Dom Anim* 2009; 44: 792–796
79. Ghanem ME, Nishibori M, Nakao T, Moriyoshi M. DNA extraction from bovine mummified fetuses and detection of factor XI gene deficiency in the mummies. *J Reprod Dev* 51(3), 347-352
80. Watanabe D, Hirano T, Sugimoto Y, et al. Carrier rate of factor XI deficiency in stunted Japanese Black cattle. *J Vet Med Sci* 2006; 68(12): 1251-1255
81. Oner Y, Keskin A, Elmaci C. Identification of BLAD, DUMPS, citrullinemia and factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 2010; 5(1): 60-65

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 11.03.2009

Toplantı Sayısı: 03

Karar No: 09/18

Etik kurul toplantısı

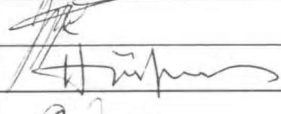
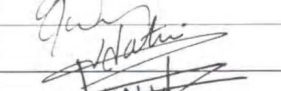
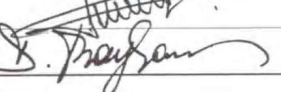
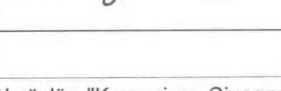
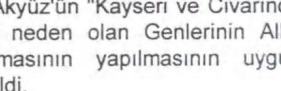
03.11.2009

tarikhinde Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Etik

Kurul Başkanlığı'nda

Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ

başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Doç.Dr	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç.Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Servet Kesim	Yard.Doç.Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt.Gör.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Halit Erkiletlioğlu	Diş Hekimi		
Halil Tekiner	Eczacı		

Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Yar.Doç. Dr. Bilal Akyüz'ün "Kayseri ve Civarında Yetiştirilen Holştayn Sığırlarında Kalıtsal Faktör XI Yetmezliğine neden olan Genlerinin Allel Frekanslarının Belirlenmesi"adlı araştırması incelenerek, çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

Dosyada sunulan dökümanlar;

Tarih : 11.03.2009

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ

Etik Kurul Başkanı İmzası



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Güneri YAŞAR

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 18 Mart 1986, Kayseri

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 458 232 25 11

Fax: +90 554 979 22 68

email: gnryasar@hotmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni A.B.D.
Mevlana/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Sağlık Bilimler Enstitüsü	2011
Lisans	EÜ Veteriner Fakültesi	2008
Lise	Fevziçakmak Lisesi, Kayseri	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2010- Halen	Bayburt Tarım İl Müdürlüğü	Veteriner Hekim
2008-2009	Başyazıcı Et Kombinası	Sorumlu yönetici

YABANCI DİL

İngilizce