

Kısa Bilimsel Çalışma / Short Communication

Türkiye'deki holştayn ineklerde üridin monofosfat senteaz eksikliğinin (DUMPS) belirlenmesi

Bilal AKYÜZ, Bengi ÇINAR KUL²

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, Kayseri; ² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Özet: Bu çalışmanın amacı Türkiye'deki holştayn ineklerde üridin monofosfat senteaz eksikliğı (DUMPS) allelinin bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır. Bu kalıtsal hastalıktan kaynaklanan ekonomik kaybı önlemenin tek yolu DUMPS taşıyıcılarının erken belirlenmesidir. Bu çalışmada, toplam 200 baş dişi holştayn polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile incelenmiştir. İncelenen dişi holştaynlarda DUMPS taşıyıcısına rastlanmamıştır.

Anahtar sözcükler: DUMPS, dişi holştayn, PCR, RFLP.

Detection of deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) in female holstein cattle in Turkey

Summary: The aim of this study was to investigate whether the deficiency uridine monophosphate synthase (DUMPS) allele exists in female holstein cattle in Turkey. The only way to avoid the economic losses is early detection of DUMPS carrier animals. In this study, total 200 female holstein have been screened by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis. None of the female holstein was carriers of DUMPS.

Key words: DUMPS, female holstein, PCR, RFLP.

Sığırlarda önemli verim kayıplarına neden olan otozomal çekinik kalıtsal hastalıklar çoğunluklaırka övgüdür (6,7,8). Hem siyah-beyaz alaca hem de kırmızı-beyaz alaca holştaynlarda görülen üridin monofosfat senteaz eksikliğı (DUMPS), bu tür kalıtsal bozukluklardan birisidir (8). Pirimidin nükleotid sentezinin son aşamasında ortaya çıkan orotik asit, üridin monofosfat senteaz enzimi (UMPS) tarafından üridin monofosfata (UMP) dönüştürülür (4,9). Holştaynlarda, UMPS enzimini kodlayan genin 405. kodonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu, homozigot durumda gebeliğın yaklaşık 40. gününde embriyoların ölümüne neden olur (3,9).

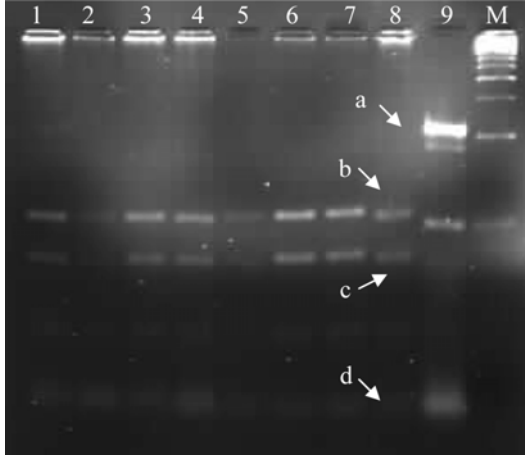
DUMPS taşıyıcılarının çeşitli dokularındaki UMPS aktivitesi normal bireylerdekinin yarısı kadar olduğu bildirilmesine rağmen fenotipik olarak normal görünen bireylerin, normal veya taşıyıcı olduklarının belirlenebilmesi için yeterli olmadığı bildirilmiştir (9). Taşıyıcı dişilerin laktasyon dönemlerinde süt ve idrarlarındaki orotik asit miktarının normallerden daha fazla olduğu ancak bu durumun da normal veya taşıyıcı belirlenmesi için yeterli olmadığı bildirilmiştir (2).

Türkiye'de mevcut holştayn boğalar ve boğa adayları DUMPS yönünden taranmış ancak boğalarda ve boğa adaylarında taşıyıcılara rastlanılmamıştır (2). Bu çalışma ile Türkiye'de yetiştirilen dişi holştaynlarda DUMPS'a neden olan allelin varlığı veya yokluğu

araştırılarak, elde edilen sonuçlar yardımıyla Türkiye'de yetiştirilen holştayn popülasyonunun DUMPS yönünden genetik durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 200 baş dişi holştayn kullanılmıştır. Fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen DNA'lar, Schwenger ve ark. (1994) tarafından bildirilen 5'- GCA AAT GGC TGA AGA ACA TTC TG-3' ve 5'- GCT TCT AAC TGA ACT CCT CGA GT-3' baz dizilişinde primer seti kullanılarak yapılan PCR ile çoğaltılmıştır. PCR karışımı; 1 x PCR tamponu, 200 µM dNTP, 20 pmol ileri ve geri primerler, 2.5 mM MgCl₂, 1 U Taq polimeraz ve 200-300 ng genomik DNA ile hazırlanmıştır. PCR işlemi, 94°C de 5 dk tutulduktan sonra her bir döngüsü; 94°C'de 1 dk, 60°C'de 1 dk, 72°C' 30 sn olacak şekilde 35 döngü ve en son döngüden sonra 72°C de 5 dk tutularak tamamlanmıştır. PCR sonunda 108 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin varlığı agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. Bu işlemden sonra PCR ürünleri *Ava*I restriksiyon enzimi ile kesilerek % 4'lük NuSieve agaroz jel elektroforezi yapılmıştır. Bu işlem sonunda normal bireylerde 53 bp, 36 bp ve 19 bp'lik üç bant, taşıyıcılarda ise 89 bp, 53 bp, 36 bp ve 19 bp dört bantın görülmesi beklenmiştir.

İncelenen tüm örneklerde 53, 36ve 19 bp'lik üç bant görülmüş ve çalışmada incelenen holştaynların hepsinin homozigot normal olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. PCR ürünü ve *Aval* restriksiyon enzimi ile kesilmesinden elde edilen DNA parçalarının % 4'lük NuSieve agaroz jel elektroforezi (1-8. hatlar *Aval* kesim ürünleri, 9. hat PCR ürünü, 10. hat 50 bp'lik DNA merdiveni). a: 108 bp, b: 53 bp, c: 36 bp, d: 19 bp

Figure 1. NuSieve agarose gel electrophoresis of PCR product and DNA fragments obtained from *Aval* enzyme digestion. (1-8th lanes *Aval* digested fragments, 9th lane uncut PCR product, 10th lane 50 bp DNA ladder). a: 108 bp, b: 53 bp, c: 36 bp, d: 19 bp

Karlı bir süt sığırını yetiştiriciliği için her bir dişi hayvandan 305 gün sağım ve yılda bir yavru alınması beklenir. Bu nedenle dişi hayvanlarda süt ve döl verimini düşüren nedenler ortadan kaldırılmalıdır. Süt sığırcılığında, döl verimini düşüren en önemli kalıtsal bozukluklar BLAD ve DUMPS'tur. Sığır yetiştiriciliğinde çekinik kalıtsal bozukluklar populasyon içinde genellikle düşük frekansta bulunmalarına rağmen bazı durumlarda önemli ekonomik kayıplara neden olabilirler (3). Yoğun sığır yetiştiriciliğinde ekonomik kayba neden olabilecek bir mutasyon yönünden taşıyıcı bireylerin belirlenerek yetiştirmeden çıkartılması gereklidir. DUMPS'un holştayn yetiştiriciliğinde istenmeyen bir enzim bozukluğu olduğu ilk olarak 1987 yılında ABD'de kabul edilmiştir. Schwenger ve ark. (1994) ilk olarak Almanya'da DUMPS'un belirlenmesine olanak sağlayan bir PCR-RFLP metodu geliştirmiştir (2,3,8).

Amerika'da 1991 yılında taranan holştaynlardan 307 boğa ve 278 dişi sığırın taşıyıcı oldukları belirlenmiştir. Avrupa'da incelenen 1226 baş holştayn içerisinde 566 boğa ve 660 dişi sığırın DUMPS taşıyıcısı olduğu bildirilmiştir (5). Macaristan'da 1999 yılında 469 boğa ve boğa adayı ile 682 dişi hayvanın DUMPS taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (1,7). Tayvan'da 2001 yılında incelenen 1468 baş holştayndan iki tanesinin DUMPS taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Arjantin'de ise 1996 yılında incelenen boğaların % 1,79'unun, ineklerin % 0,96'sının taşıyıcı oldukları bildirilmiştir (7). Diğer yandan Polonya'da, Hindistan'da ve Çek Cumhuriyeti'nde DUMPS taşıyıcılarına rastlanmamıştır (3,5,7). Benzer şekilde Türkiye yerli sığırlarıyla Türkiye'de yetiştirilen holştayn boğa ve boğa adaylarında DUMPS taşıyıcılarına rastlanılmamıştır (2). Fakat Türkiye'de yetiştirilen holştaynların incelendiği her iki çalışmada da erkek holştaynlar kullanılmışken dişiler incelenmemiştir. Bu çalışmada, Türkiye'nin üç farklı ilinden damızlık dişi holştaynlar DUMPS yönünden incelenmiş ve Türki-

ye'deki diğer çalışmalara benzer şekilde DUMPS taşıyıcısı dişi hayvana rastlanmamıştır.

Türkiye'deki holştayn populasyonunun orijinleri dikkate alındığında DUMPS'a neden olan allelin Türkiye holştayn populasyonunda bulunabileceği düşünülmektedir. Ancak Türkiye'deki boğa ve boğa adaylarında (2) ve bu çalışmadaki dişi hayvanlarda DUMPS'a neden olan allele rastlanılmamış olması Türkiye'de yetiştirilen holştaynlarda DUMPS'un kesin olarak olmadığını söylemek için yeterli değildir. Ancak Türkiye holştayn populasyonunda DUMPS allel frekansının çok düşük olduğuna bir işarettir. Ancak yine de DUMPS gibi yetiştirmeyi olumsuz etkileyen kalıtsal hastalıklardan kaynaklanan verim kayıplarını önlemek için damızlık adaylarının rutin olarak incelenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. **Akyüz B, Ertuğrul O** (2006): *Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Turkish native and holstein cattle*. Acta Vet Hung, **54**, 173-178.
2. **Akyüz B, Ertuğrul O** (2008): *Türkiye'de holştayn ve yerli sığırlarda üridin monofosfat sentez eksikliğinin (DUMPS) belirlenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **55**, 57-60.
3. **Citek J, Rehout V, Hajkova J, Pavkova J** (2006): *Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic*. Vet Med, **51**, 333-339.
4. **Ghanem ME, Nakao T, Nishibori M** (2006): *Deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle*. Anim Reprod Sci, **91**, 45-54.
5. **Kamiński S, Grzybowski G, Prusak B, Ruoeæ A** (2005): *No incidence of DUMPS carriers in Polish dairy cattle*. J Appl Genet, **46**, 395-397.
6. **Muraleedharan P, Khoda V, Sven G, Mukhapadhyaya PN, Manfred S, Mehta HK** (1999): *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, **42**, 347-352.
7. **Patel RK, Singh KM, Soni KJ, Jenabhai B, Chauhan JB, Rao KRSS** (2006): *Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian Holstein cattle*. J Appl Genet, **47**, 239-242.
8. **Patel RK, Singh KM, Soni KJ, Chauhan JB, Sambasiva RKRS** (2007): *Low incidence of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Indian cattle and buffalo breeds*. J Appl Genet, **48**, 153-155.
9. **Schwenger B, Schöber S, Simon D** (1993): *DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene*. Genomics, **16**, 241-244.
10. **Schwenger B, Tammen I, Aurich C** (1994): *Detection of the homozygous recessive genotype for deficiency of uridine monophosphate synthase by DNA typing among bovine embryos produced in vitro*. J Reprod Fertil, **100**, 511-514.

Geliş tarihi: 26.05.2008 / Kabul tarihi: 11.08.2008

Yazışma adresi

Yrd. Doç. Dr. Bilal Akyüz
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Zootekni Anabilim Dalı,
Barış Manço C. Sümer M. 38090 Kayseri.
Tel: 0-352-3380005/175 Fax: 0-352-3372740
E-mail: bakyuz@erciyes.edu.tr