

## Türkiye’de Holştayn ve yerli sığırlarda üridin monofosfat senteaz eksikliğinin (DUMPS) belirlenmesi\*

Bilal AKYÜZ<sup>1</sup>, Okan ERTUĞRUL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Kayseri; <sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Ankara.

**Özet:** Bu çalışmanın amacı Türkiye’de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda ve Türkiye yerli sığırlarında üridin monofosfat senteaz eksikliği (DUMPS) allelinin bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır. DUMPS embriyonik ölümle sonuçlanan otozomal, çekinik, kalıtsal bir hastalıktır. Çalışmanın materyalini, Damızlık Sığır Yetiştiriciler Merkez Birliği ile Tarım Bakanlığı’nın birlikte yürüttükleri progeny test kapsamındaki boğalar ve Damızlık Sığır Yetiştiriciler Birliğine ait çiftliklerdeki Holştayn boğa ve boğa adayları oluşturmuştur. Araştırmada toplam 120 baş Holştayn ve 20 baş İsviçre Esmeri, 20 baş Yerli Kara, 20 baş Boz Irk, 20 baş GAK ve 20 baş DAK sığırından alınan kanlar kullanılmıştır. Alınan kanlardan fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA’lar PCR ile çoğaltılmış ve mutasyon bölgesini belirlemek için elde edilen PCR ürünleri Ava I endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesilen PCR ürünleri % 4’lük NuSieve agaroz jel de elektroforez yapılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm ırklar ve örneklerde DUMPS alleleline rastlanmamıştır.

Anahtar sözcükler: DUMPS, Holştayn, PCR, restriksiyon enzimi, RFLP.

### Detection of deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) in Holstein and native cattle in Turkey

**Summary:** The aim of this study was to investigate whether the deficiency uridine monophosphate syntase (DUMPS) allele exists in Holsteins cattle breed including native cattle breeds in Turkey. DUMPS is an autosomal recessive hereditary disease resulting embryonic death. Animal material of this study consisted of 120 Turkish Holstein, 20 Swiss Brown, 20 Native Black, 20 Gray Steppe, 20 South Anatolian Red, 20 East Anatolian Red breeds of cattle. Turkish Holsteins were breeding bulls and young progeny test bulls in different providences of Turkey. DNA materials were isolated from blood samples using phenol chloroform extraction method. The extracted DNA was amplified by PCR and than digested by Ava I endonuclease for the detection of the mutation sites. The digested PCR products were subjected to electrophoresis using 4 % NuSieve agarose gel. There were no positive results indicating the presence of DUMPS allele in any sample from the breeds and samples studied.

Key words: DUMPS, Holstein, PCR, restriction enzyme, RFLP.

### Giriş

Üridin monofosfat senteaz eksikliği (DUMPS), Holştayn sığır ırkında görülen kalıtsal bir bozukluktur (4, 7). Pirimidin nükleotid sentezinin son aşamasında orotik asit üridin monofosfat senteaz enzimi (UMPS) tarafından üridin monofosfata (UMP) dönüştürülür (13). UMPS yokluğu, canlıda önemli sağlık sorunlarına neden olur (10, 15). UMPS enzimini sentezleyen genin 405. kodonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu, sığırlarda UMPS geninde erken bir stop kodonu oluşarak fonksiyonel olarak bozuk bir enzim sentezletir (5, 8). Bu bozuk gen de sığırlarda otozomal çekinik kalıtsal bir özellik gösteren DUMPS’a neden olmaktadır (11). DUMPS yönünden homozigot embriyoların gebeliğin yaklaşık 40. gününde abort olduğu veya uterusu absorbe olduğu bildirilmektedir (5, 8).

Çiftlik hayvanlarında embriyonik ölümler ve bunların nedenlerinin belirlenmesi ancak dişi hayvanın tohumlamanın gebelik ile sonuçlanmaması ile anlaşılabilir (14, 15). UMPS enziminin eksikliği, embriyonik ölümlere neden olan bir kaç nedenden biri olduğu için süt sığırı yetiştiriciliğinde özellikle üzerinde durulması gereken kalıtsal bir bozukluktur (15). Bu kalıtsal bozukluk buzağılama başına daha fazla tohumlama ve daha uzun buzağılama aralığına neden olmaktadır. Süt sığırcılığında kârlılık 305 gün sağım ve yılda bir yavru elde edilmesi şartıyla sağlanır. DUMPS, Holştayn sürülerinde yılda bir yavru elde edilmesini engellediğinden kârlılığı düşürmektedir. Bu nedenle DUMPS gibi kalıtsal bozuklukların belirlenerek, ortadan kaldırılması, entansif sığır yetiştiriciliği için gereklidir.

\* Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından desteklenmiştir. Proje no: 2002-45.

Genetik yapılarında DUMPS genini taşıyan hayvanlar ile normal hayvanlar arasında doğum ağırlıkları, büyüme ve beden ölçüleri bakımından istatistiki olarak taşıyıcı-normal ayırımını yaptıracak kadar önemli farklılıklar bulunmadığı bildirilmiştir (9). Taşıyıcı hayvanlarda büyüme ve gelişme normal, ancak taşıyıcıların çeşitli dokularındaki UMPS aktivitesinin normal olanların yarısı kadar olduğu, taşıyıcı dişilerin laktasyon dönemlerinde süt ve idrarlarındaki orotik asit miktarının daha fazla olduğu bildirilmiştir. Ancak bu durumun bireyler arasındaki bireysel farklılıklardan mı yoksa bireyin DUMPS yönünden normal veya taşıyıcı olmasından mı kaynaklandığının ayrılması güçtür. UMPS aktivitesi ve idrardaki orotik asit miktarının belirlenmesi ile fenotipik olarak normal görünen bireylerin, genotipik olarak normal veya taşıyıcı olduğu belirlenmemektedir (15).

Yetiştirme programlarında kalıtsal bozuklukları kontrol etmek için normal ve taşıyıcıların belirlenmesi çok önemlidir. Çünkü taşıyıcı oldukları belirlenmemiş boğalar, taşıyıcı oldukları belirlenene kadar popülasyona bozuk geni yayırlar. Bunun sonucunda BLAD, DUMPS gibi yetiştiriciliği tehdit eden ve bir tek boğadan köken alan kalıtsal hastalıklar tüm dünyaya yayılmıştır (2). Kuzey Amerika'da 1988-1992 yıllarında en fazla taşıyıcı yavruya sahip boğanın Happy-Herd Beautician adlı boğanın ikinci sırada ise Needle-Lane Jon-Red adlı boğanın olduğu belirlenmiştir (6). Çeşitli dönemlerde Türkiye'ye gerek ABD gerekse de çeşitli Avrupa ülkelerinden Holştayn sığırları ya da spermeleri ithal edilmiştir. Bu ithallerin DUMPS bakımından kontrolle- rini yapmak olası olmamıştır.

Bu çalışma ile Türkiye'de yetiştirilen damızlık Holştayn boğa ve boğa adayları ile Türkiye'de yetiştirilen dört yerli sığır ırkında DUMPS'a neden olan allelin varlığı araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar yardımıyla Türkiye'de yetiştirilen Holştayn popülasyonunun ve yerli sığır ırklarının DUMPS yönünden genetik durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylelikle belirlenen hastaların ayıklanmasıyla DUMPS'a bağlı uzun buzağılama aralığı ve tohumlama tekrarlamalarının önlenerek ülke ekonomisine fayda sağlayacağı düşünülmüştür.

### Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan Holştayn boğa ve boğa adaylarına ait kan örnekleri, Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiriciler Merkez Birliğinin (TDSYMB) progeny test projesinde kullanılan hayvanlardan, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden ve Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsünden alınmıştır. Türkiye'de yetiştirilen yerli sığır ırklarına ait kan örnekleri ise Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK); Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma

Enstitüsü, Boz Irk; Marmara Hayvancılık Araştırma Enstitüsü, Güneydoğu Anadolu Kırmızısı (GAK); Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Yerli Kara Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsünden alınmıştır. DUMPS'un varlığı ve yokluğunun belirlenmesinde kontrol grubu olarak kullanılan İsviçre Esmer sığır ırkına ait örnekleri Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden temin edilmiştir.

Çalışmada DNA izolasyonu için kullanılan kan EDTA'lı vakumlu tüplere direk *vena jugularis*'e girilerek steril olarak alınmıştır. Örnekler için DNA, fenol-kloroform yöntemi ile elde edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) Schwenger ve ark. (1994) tarafından önerilen 5'- GCA AAT GGC TGA AGA ACA TTC TG-3' ve 5'- GCT TCT AAC TGA ACT CCT CGA GT-3' baz dizilişinde iki primer kullanılmıştır. PCR karışımı; iki kere distile edilmiş su (ddH<sub>2</sub>O) 34,35 µl, 10 x PCR tampon 5 µl, dNTP 0,25 µl, primer (her biri 1 µl) 2 µl, MgCl<sub>2</sub> 5 µl, 1 U Taq polimeraz (5 U stoktan) 0,4 µl ve bu karışımın üzerine 100 ng/ml oranındaki örnek genomik DNA'sından 3 µl ilave edilerek her örnek için toplam 50 µl'lik PCR karışımı hazırlanmıştır.

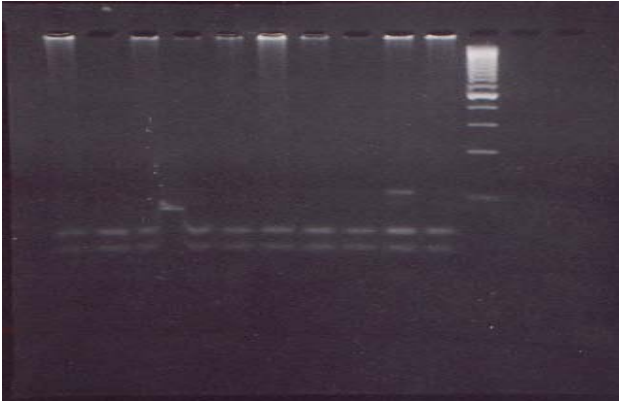
PCR işlemi, hazırlanan karışımın ısı düzenleme aletinde (thermocycler) önce 94°C de 5 dakika tutulduktan sonra her bir döngü; 94°C'de 1 dakika, 60°C'de 1 dakika, 72°C' 30 saniye tutularak 35 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonra örnekler 72°C de 5 dakika tutularak işlem tamamlanmıştır PCR ile elde edilmesi beklenen 108 bp uzunluğundaki ürünlerin belirlenmesi için % 2'lik agaroz jelde 45 dakika 80 volt elektrik gerilimi uygulanarak elektroforez işlemi yapılmıştır. Bu bantların görüldüğü örnekler için PCR ürünleri *Ava* I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu amaçla her bir örnek için toplam hacmi 20 µl olan (*Ava* I 0,5 µl, 10 x Buffer 3 µl ve ddH<sub>2</sub>O 16,5 µl) karışım üzerine 108 bp'lik bantların görüldüğü PCR ürününden 10 µl ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışım 37°C'de 1,5 saat tutulmuştur. Sürenin sonunda restriksiyon enzimini inaktive etmek amacıyla örnekler yine ısı dönüştürme aletinde (thermocycler) 65°C'de 20 dakika tutularak işlem bitirilmiştir.

Bu işlemin sonunda örnekler % 4'lük NuSieve agaroz jelde elektroforez ile ayrılarak örneklerin alındığı bireylerin DUMPS yönünden genotipleri belirlenmiştir. Bu son elektroforezde homozigot normal bireylerde 53 bp ve 36 bp'lik iki bant, taşıyıcılarda ise 53 bp, 36 bp ve 83 bp olmak üzere üç bantın görülmesi beklenmiştir.

### Bulgular

Fenol-kloroform yöntemi ile 120 baş Holştayn, 20 baş İsviçre Esmeri, 20 baş Yerli Kara, 20 baş Güney Anadolu Kırmızısı, 20 baş Boz Irk, 20 baş Doğu Anadolu

Kırmızısı olmak üzere toplam 220 baş sığırdan DNA izole edilmiştir. Bu DNA'lar kullanılarak yapılan PCR sonunda elde edilen ürünler ile yapılan % 2'lik agaroz jel elektroforezlerinde tüm örneklerde 108 bp'lik tek bant elde edilmiştir. PCR ürünlerinin *Ava* I restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonunda elde edilen restriksiyon parçaları % 4'lük NuSieve agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. İncelenen Holştayn ve Türkiye yerli sığırlarında 53 ve 36 bp'lik iki bant görülmüştür. Çalışmada incelenen Holştaynların ve Türkiye yerli sığırlarının hepsinin DUMPS yönünden homozigot normal olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. PCR ürünlerinin *Ava* I restriksiyon enzimi ile kesilmesinden elde edilen DNA parçalarının % 4'lük NuSieve agaroz jel elektroforezi (sırasıyla S30, M29, B7, M13, Hızır, S44, S15, 495 Edirne, S5, 12M, 100 bp ladder)  
Figure 1. Results of 4 % NuSieve agaroz electrophoresis by *Ava*I digested PCR products (From right to left: S30, M29, B7, M13, Hızır, S44, S15, 495 Edirne, S5, 12M, 100 bp ladder)

### Tartışma ve Sonuç

Verimli bir süt sığırı yetiştiriciliğinde hedef sağılan hayvanın 305 gün sağılması ve bu hayvandan yılda bir yavru alınmasıdır. Bu hedefe ulaşmayı engelleyecek enfeksiyonlar, metabolik hastalıklar, beslenme hastalıkları ve kalıtsal hastalıklar önlenmelidir. Bir gende meydana gelen mutasyonlar bazen yavrunun ölümüne neden olabilirler. Bazı durumlarda mutasyondan etkilenmiş yavrular uzun süre yaşarlar ancak bu yavrular işletme için ekonomik kayba neden olurlar. Bu nedenle bir mutasyon yönünden taşıyıcı bireylerin; hasta yavruların doğmalarına neden olabileceği göz önüne alınarak yetiştirme programı içerisinde belirlenerek çıkartılması gereklidir (5). ABD'de 1987 yılında üridin monofosfat sentez enziminin erken embriyonal ölüme neden olan Holştayn yetiştiriciliğinde istenmeyen bir enzim defekti olduğu bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren ABD Holştayn yetiştiricileri birliği, Holştaynlarda eritrositlerde UMP sentez enzim seviyesinin taşıyıcılarda normalin yarısı olduğunu belirleyerek, bu enzimin biyokimyasal ölçülmesini içeren bir tarama

çalışması başlatmıştır (8). Schwenger ve ark. (1994) Holştayn sığırlarının DNA örneklerini kullanarak DUMPS yönünden genotiplerinin belirlenmesine olanak sağlayan bir RFLP metodu geliştirmiştir (5, 6, 12).

Amerikan Holştayn popülasyonunda DUMPS taşıyıcılarının yoğunluğunun belirlenmesi amacıyla 1991 yılının sonunda yapılan araştırmada incelenen 2804 boğa, 653 dişi ve cinsiyeti bildirilmeyen 4 birey olmak üzere toplam 3461 birey incelendiğinde 307 boğa ve 278 dişi sığırın DUMPS taşıyıcısı olduğu bildirilmiştir. Yine aynı yılda Avrupa'da incelenen 1226 örnek içerisinde 566 boğa ve 660 dişi sığırın DUMPS taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (6). Taşıyıcı bireylerin pedigrileri incelendiğinde gerek ABD'de gerekse Avrupa'da taşıyıcıların çoğunluğunun (ABD'de 438, Avrupa'da 314 taşıyıcı yavru ile) 1987 yılında ABD'deki en iyi beşinci boğa olan Happy-Herd Beautician adlı boğanın yavruları olduğu görülmüştür (6, 8). ABD'de bu boğa ile akrabalığı olmayan Skokie Sensation Ned isimli boğanın soyundan gelen 6 DUMPS taşıyıcısına rastlanılmıştır (6). Holştayn popülasyonu büyük oranda ABD'den ithal damızlık hayvan ve sperma ithali ile oluşturulan Macaristan'da 1999 yılında 314 suni tohumlama boğası, 682 boğa annesi ve 155 boğa adayının DUMPS taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (1, 8). Arjantin'de 1996 yılında incelenen boğaların % 1,79'unun ineklerin % 0,96 sını, Tayvan'da ise 2001 yılında incelenen 1468 baş Holştaynın iki tanesinin DUMPS allelini taşıdığı belirlenmiştir (8). Diğer yandan Polonya'da 2005 yılında 2209 hayvan kullanılarak yapılan çalışmada DUMPS taşıyıcısına rastlanmamıştır (6). Hindistan'da 337 Holştayn, 76 Jersey, 20 Jersey melezi, 32 Zebu ve 305 Holştayn melezi kullanılarak yapılan bir çalışmada incelenen örneklerin hiç birisinin DUMPS taşıyıcısı olmadığı bildirilmiştir (8).

Türkiye'de yetiştirilen Holştayn boğa ve boğa adayları ile Türkiye yerli sığır ırkları kullanılarak yapılan bu çalışmada gerek Holştaynlarda gerekse yerli sığır ırklarında DUMPS taşıyıcısı bireye rastlanılmamıştır. Bu çalışmada kullanılan ve Türkiye'de yetiştirilen dört farklı yerli sığır ırkında DUMPS'a neden olan mutasyonun belirlenememesi bu kalıtsal bozukluğun Holştayn ırkına özel bir kalıtsal bozukluk olduğu fikrini desteklemektedir. Türkiye'de Holştayn yetiştiriciliği devlet tarafından ABD'den 30 dişi ve 17 erkek dananın 1958 yılında getirilmesi ile başlamıştır. Bu tarihten sonra gerek devlet eliyle gerekse şahıslar tarafından farklı zamanlarda Almanya ve Hollanda'dan Holştayn sığırlar getirilerek Türkiye'de ki mevcut Holştayn sığır popülasyonu oluşturulmuştur (3). Türkiye'deki Holştayn yetiştiriciliğinin tarihsel süreci Türkiye Holştayn popülasyonunda DUMPS'a neden olan mutant allelin var olma olasılığı olduğunu göstermektedir. Ancak bu çalışmada incelenen

120 Holştayn boğa ve boğa adayının hiç birinde DUMPS'a neden olan allele rastlanılmamıştır. Bu durum Türkiye'de yetiştirilen Holştaynlarda DUMPS'a neden olan allelin kesin olarak olmadığını söylemek için yeterli değildir. Çünkü çalışmada sadece TDSYMB'e ait boğalar ve boğa adayları incelenmiştir. Dolayısıyla dişi materyal hakkında hala bilgi yoktur. Daha kesin bir yargıya varmak için en azından boğa ve boğa adaylarının anneleri de incelenmelidir. Ayrıca DUMPS ve BLAD gibi yetiştirmeyi olumsuz etkileyen kalıtsal hastalıkların popülasyondan tamamen uzaklaştırılması için damızlık olarak kullanılacak tüm erkek materyalin rutin olarak incelenmesi gerekmektedir.

### Kaynaklar

1. **Akyüz B** (2004): *Türkiye'deki Holştayn Sığırlarında Sığır Lökosit Bağlanma Yetmezliğinin (bovine leukocyte adhesion deficiency, BLAD) Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism, RFLP) İle Belirlenmesi*. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
2. **Akyüz B and Ertuğrul O** (2006): *Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Turkish native and Holstein cattle*. Acta Vet Hung, **54**, 173-178.
3. **Alpan O** (1993): *Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği*. 3.Baskı, Şahin Basımevi, Ankara.
4. **Fries R and Ruvinsky A** (1999): *The Genetics of Cattle*. CABI Publishing, Wallingford.
5. **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.
6. **Kamiński S, Grzybowski G, Prusak B, Ruoeæ A** (2005): *No incidence of DUMPS carriers in Polish dairy cattle*. J Appl Genet, **46**, 395-397.
7. **Nicholas FW** (1996): *Introduction to Veterinary Genetics*. Oxford University Press, Oxford.
8. **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.
9. **Poli MA, Dewey R, Semorile L, Lozano ME, Albarino CG, Romanowski V, Grau O** (1996): *PCR screening for carriers of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) and uridine monophosphate synthase (DUMPS) in Argentine Holstein cattle*. Zentralbl Veterinarmed A, **43**,163-8.
10. **Schoeber S, Simon D, Schwenger B** (1993): *Sequence of the cDNA encoding bovine uridine monophosphate synthase*. Gene, **124**, 307-308.
11. **Schwenger B, Schöber S and Simon D** (1993): *DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene*. Genomics, **16**, 241-244
12. **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.
13. **Shanks RD, Bragg DS, Robinson JL** (1987): *Incidence and inheritance of deficiency for uridine monophosphate synthase in Holstein bulls*. J Dairy Sci, **70**, 1893-1897.
14. **Shanks RD** (1990): *Reproductive consequences of deficiency of uridine monophosphate synthase in Holstein cattle*. Am J Vet Res, **51**, 800-802.
15. **Shanks RD, Popp RG, Mccoy GC, Nelson DR, Robinson JL** (1992): *Identification of the homozygous recessive genotype for the deficiency of uridine monophosphate synthase in 35-day bovine embryos*. J Reprod Fertil, **94**, 5-10.

Geliş tarihi: 08.12.2006 / Kabul tarihi: 27.03.2007

### Yazışma adresi

Dr. Bilal Akyüz  
Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Zootečni AD Barış Manço C. Sümer M.  
38090 Kocasinan, Kayseri  
E-mail: [bakyuz@erciyes.edu.tr](mailto:bakyuz@erciyes.edu.tr)