

Atak-S ve Isa Brown Tavukları Arasındaki Genetik Çeşitliliğin SSR Belirteçleri ile Tahmini[#]

Selçuk ÖZDEMİR^{1*}, Harun ARSLAN², Uğur ÖZENTÜRK³, Fatih YILDIRIM³, Ahmet YILDIZ³

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

³ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

#Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi PRJ2016/70 no'lu BAP projesi tarafından desteklenmiştir.

*Corresponding author e-mail: selcuk.ozdemir@atauni.edu.tr

ÖZ

Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen Atak-S yumurtacı hibriti yerli hibritler içinde yumurta verimi en yüksek olan hibrittir. Ancak bu hibritin yumurta verimi Isa Brown gibi yabancı kaynaklı hibritlere göre daha düşüktür. Atak-S hibritinin yabancı kaynaklı hibritlerle yarışabilmesi için verim ile ilgili moleküler ıslah çalışmaları gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı Atak-S ve Isa Brown tavuk hibritlerindeki genetik çeşitliliği belirlemek ve bu hibritler arasındaki genetik çeşitliliği karşılaştırmaktır. Bu amaç için, iki alt popülasyondan 200 tavukta 6 mikrosatelit lokusu ayrı ayrı genotiplendirildi. Bu çalışmada kullanılan 6 farklı SSR markörü için toplam da 85 polimorfik fragment bulundu. Ayrıca H_e değeri 0.61 ± 0.05 olarak bulundu. İki hibrit arasında H_e ise; Atak-S'de 0.35 ± 0.76 , Isa Brown'da 0.26 ± 0.68 olarak bulundu. Bu sonuç, Atak-S hibritindeki genetik çeşitliliğin Isa Brown hibritine göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ek olarak iki hibrite ait genetik farklılıklar ve popülasyon yapısı dendogram analizi yapılarak ortaya konmuş ve farklılıklar belirlenmiştir. Sonuç olarak Atak-S ve Isa Brown hibritleri içindeki ve arasında genetik çeşitliliklerin iyi korunmuş olduğu ileri sürülebilir. Mikrosatellit analizi ile tahmin edilen Atak-S ve Isa Brown hibritleri hakkındaki bilgiler, gelecekteki genetik varyasyon araştırmalarını tasarlamak ve koruma stratejileri geliştirmek için hedeflerin belirlenmesinde rehber olarak yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Atak-S; Isa Brown; SSR; Genetik çeşitlilik

Estimated Genetic Diversity Between Atak-S and Isa Brown Chickens with SSR Markers

ABSTRACT

Atak-S layered hybrid, developed by the "Ankara Poultry Research Institute", is the hybrid with the highest egg productivity among local hybrids. However, egg yield are lower compared to foreign-origin hybrids such as Isa brown. Molecular development studies as to productivity are required for Atak-S hybrid to be able to compete with foreign-origin hybrids. The objective of this study was to detect genetic diversity within the breeds and to compare the Atak-S and Isa Brown breeds. To achieve this goal, we individually genotyped 6 SSR loci in 200 chickens from two populations. 85 polymorphic fragments were found in total for 6 different SSR markers employed in this study. For all loci, high H_e was observed, and means H_e was 0.61 ± 0.05 among loci. Among breeds, the mean H_e was 0.35 ± 0.76 in Atak-S and 0.26 ± 0.68 in Isa Brown. This result indicated that genetic diversity in the Atak-S breed is higher than in the Isa Brown breed. Furthermore, genetic differences and population structure of two hybrids were shown by virtue of dendogram analysis and differences were detected. As a result, we could be suggested that genetic diversity is well preserved within and between Atak-S and Isa Brown hybrids. Based on the Atak-S and Isa Brown breeds estimated by microsatellite analysis may be useful as a guide in setting goals for designing future genetic variation studies and for improving conservation strategies.

Key Words: Atak-S; Isa Brown; SSR; Genetic diversity.

GİRİŞ

Türkiye’de hızlı nüfus artışına bağlı olarak süt ve kırmızı et yanında daha ucuza alınabilen beyaz et ve yumurtaya olan talep daha cazip hale gelmiştir. Ayrıca bu artışa bağlı olarak iç ve dış pazarlara üretim yapan tavukçuluk işletmelerinin sayıları giderek artmıştır. Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de tavukçuluk işletmeleri genellikle yurtdışından ithal edilen parent stokların çiftleştirilmeleriyle elde edilen yumurtacı hibritleri kullanmaktadır (Balci ve ark. 2003). Türkiye’de yerli hibritlerin geliştirilmesi amacıyla Ülkesel Tavukçuluk Projesi ve daha sonra Tavukçuluk Araştırma Geliştirme Projesi yapılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda üretilen yerli hibritlerin yumurta veriminin yabancı hibritlere göre daha düşük bulunmuştur. Ancak yaşama gücünün daha yüksek veya eşdeğer olduğu tespit edilmiştir (Karaçay 2000, Çelik 1992, Büyükbecici ve Kadioğlu 1992). Bu kapsamda Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü tarafından Atak, Atak-S ve Atabey ticari yumurtacı hibritleri geliştirilmiştir (Durmuş ve ark. 2009).

Tavukçulukta meydana gelen en önemli gelişmelerden biri iki verim yönlü ve tek verim yönlü tavuk hibritlerinin yerini ticari hibritlerin almasıdır (Erensayın 2000a). Dış kaynaklı olarak ithal edilen çok sayıda yumurtacı ve etçi hibritler Türkiye’de yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır (Türkoğlu ve ark. 2004). Hibrit materyallerin yurt dışından ithal edilmesi Ülkemiz tavukçuluğuna olumlu yönde katkı sağlamasının yanında bazı tavuk hastalıklarının (G.R.D., Marek, Laringo Traheitis, Gumboro) ülkemizde ortaya çıkmasına, damızlık temininde dışa bağımlılık gibi sakıncaları beraberinde getirmiştir (Erensayın 2000b). Bu nedenle damızlık materyal ihtiyacının yurt içinden karşılanması, yumurta yönlü yerli hibritlerimizin performansının yükseltilmesi, kapasite ve üretim düzeylerinin yapılacak moleküler ıslah çalışmalarıyla artırılması ülkemiz tavukçuluğu açısından oldukça önemlidir (Yığıtoğlu ve Testik 2008).

Yerli yumurtacı hibrit Atak ve Atak-S sırasıyla Rhode Island Red I (RIR)X Barred Rock1 (BAR) ve Rhode Island Red (RIR) X Colombian Rock (Col) çiftleşmeleri oluşturulmuştur (Fathel ve Elibol 2006). Atak-S yumurtacı hibritinin yumurta verimi ve yumurta ağırlığı yabancı kaynaklı Isa brown ve Novagen yumurtacı hibritlerine göre düşüktür. Ancak Atak-S yumurtacı hibritinin canlı ağırlığı yabancı hibritlere göre fazladır (Durmuş ve ark. 2009). Yerli yumurtacı hibritlerin yabancı yumurtacı hibritlerine verim yönünden yetişebilmesi için moleküler yöntemleri kullanarak yumurta verimiyle ilişkili markör analizinin yapılması, uygun markörler kullanılarak ilgili hibritlere ait ilişkilendirme haritalamasının ortaya konması ve yumurta verimi

yüksek çekirdek hibrit popülasyonlarının oluşturulması gerekmektedir.

Markör destekli seleksiyon çalışmalarında genel olarak SSR (basit dizi tekrarları) ve SNP (Single Nucleotide Polymorphism: Tek Nükleotid Polimorfizmi) kullanılmaktadır. SSR’lar içerdikleri nükleotid dizin sayısına göre mikrosatellit veya minisatellit olarakta bilinir. Mikrosatellit markörlerin kullanım alanları; homozigot-heterozigot allel varyasyonlarının belirlenmesinde, genom haritalarının çıkarılmasında, popülasyonun genetik parametrelerinin tahmininde ve popülasyon farklılıklarının belirlenmesinde kullanılmaktadırlar (Wenz ve ark. 1998).

SNP’ler DNA dizini içerisinde baz /bazlarda meydana gelen nokta mutasyonların sebep olduğu polimorfizmler olarak bilinir. SNP polimorfizimlerini bulmak için SSCP analizi (Choi ve ark. 2014), heterodupleks analizi, Mikroarray yada doğrudan DNA dizilim analizleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en etkili DNA dizi analizi yöntemidir. DNA dizileri rastgele sıralama, PCR amplifikasyonu yapıldıktan sonra sıralama ve karşılaştırmalı EST analizleri kullanılarak sıralandırılır. Gelişen moleküler biyoloji teknikleri ile çok sayıda SNP’nin analizi hızlı ve güvenilir şekilde yapılabilmektedir. SNP’ler genel olarak, genetik çeşitlilik, popülasyon yapısı, kantitatif özellik lokusları (QTL), ve markör destekli seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılmaktadır (Bakhtiarizadeh ve ark. 2012).

Bu araştırmanın amacı, Atak-S ve Isa Brown tavuk hibritlerindeki genetik çeşitliliği belirleyerek, tavukçuluk sektöründe yapılabilecek olan markör destekli moleküler ıslah çalışmalarına katkı sağlamaktır. Bu amaç için, iki alt popülasyondan 200 tavukta 6 mikrosatellit lokusu ayrı ayrı genotiplendirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Araştırmada kullanılan hayvan materyali 200 adet Atak-S ve 200 adet Isa brown yumurtacı tavuklardan alınan kan örneklerinden oluşmuştur. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (20.04.2016 tarihli ve AÜHAYDEK-E.1600096307)”.

Metot

Genomik DNA İzolasyonu

Elde edilen kanlardan DNA izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonu Invitrogen PureLink Genomic DNA izolasyon kiti kullanılarak ve kitin prosedürüne uygun olarak yapıldı. Genomik DNA izolasyonunda ilk olarak su banyosu veya ısı bloku

55°C'ye ayarlandı. Steril mikrosantrifuj tüpü içerisine 200 mikro litre donmuş veya taze kan örneği eklendi. Daha sonra üzerine 20 mikro litre Proteinaz K ve RNaz A eklendi ve kısa bir süre vortexle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi. Daha sonra bu karışımın üzerine 200 mikro litre PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer eklendi ve karışım iyice homojenize olana kadar vortexle karıştırıldı. Daha sonra karışım 55 °C'ye ayarlanan su banyosu veya ısı blokunda 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışımın üzerine %96-100 moleküler grade ethanol eklendi ve karışım iyice homojenize olana kadar vortexte karıştırıldı. Daha sonra hazırlanan karışım PureLink® Spin kolonun içerisine eklendi ve oda sıcaklığında 10.000xg 'de 1 dakika santrifuj edildi. Daha sonra spin kolon çıkartıldı ve temiz bir tüpün içerisine alındı. Spin colum üzerine 500 mikro litre Wash Buffer I eklendi ve oda sıcaklığında 10.000xg 'de 1 dakika santrifuj edildi. Daha sonra spin colum tekrar yeni bir tüpün içerisine alındı ve üzerine 500 mikrolitre Wash Buffer II eklendikten sonra oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifuj edildi. Santrifuj işleminden sonra spin column 1.5 mikrolitrelik steril mikrosantrifuj tüpünün içerisine alındı ve üzerine 200 mikro litre Elution Buffer eklendikten sonra 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak spin column oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dakika santrifuj edildi ve böylece genomik DNA elde edildi. Elde edilen DNA örnekleri -20 °C'de muhafaza edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Kapillar Elektroferez

İlgili SSR markörleri polimeraz zincir reaksiyonunda analiz edildi. SSR markörlerine ait primer bilgileri Tablo 1' de verilmiştir. Her PCR deneyi 10 µl'lik karışımdan oluşmuştur. PCR karışımı: her bir primerden 5 pikomol, 1 µl 1X PCR tampon (10 mM Tris- HCl (pH 8.8), 50 mM KCl), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM nucleotit karışımı (dNTPs), 1 U Taq polimeraz ve 10-20 ng kalıp DNA ve steril distile su. PCR reaksiyonları ProFlex™ 3x32-Well PCR cihazı kullanılarak yapılmıştır (Thermo Fisher, USA). İlk denatürasyon 94 ° C'de 5 dakika yapıldı. Döngüsel denatürasyon 94 ° C'de 30 saniye, primer bağlanma 52-55 ° C'de (spesifik her primer için) 45 saniye süreyle ve 72 ° C'de 1 dakika 35 döngü boyunca gerçekleştirildi ve bunu takiben nihai 72 ° C'de 10 dakika boyunca uzatma yapıldı.

Multiplex PCR, floreson boyalı iki veya dört primer ile tek bir reaksiyonda gerçekleştirildi. Reaksiyon için kullanılan lokus setleri: 1) ADL136 ve ADL158; 2) ADL136 ve ADL176; 3) ADL158 ve ADL176; 4) MCW043 ve MCW005; 5) MCW043 ve MCW049; 6) MCW005 ve MCW049; 7)

ADL136, ADL158, MCW043, MCW005; 8) ADL158, ADL176, MCW005, MCW049.

PCR ampliconları kapillar elektroferez cihazı (Qiagen, Germany) kullanılarak analiz edildi. 1 ul amplicon, 11 ul 6X formamid yükleme boyası, bir denatüre edici ajan (Sigma) ve standart marker olan 0.3 µl ROX 500'ü içeren bir tampon ile karıştırıldı. Karışım 95 ° C'de 3 dakika boyunca denatüre edildi ve kapillar elektrofereze yüklenmeden önce buz üzerinde inkübe edildi. Allellerin çözünürlük modelleri, Genescan (sürüm 3.1) yazılımı kullanılarak incelendi ve boyut tahminleri Genotyper 3.1 yazılımı ile yapıldı. Alel skorlaması baz çiftleri halinde yapıldı.

Veri Analizleri

Her bir SSR markörü için, parçacıklar (Matsuoka ve ark. 2002) tarafından tanımlanan metot kullanılarak farklı allel'leri temsil eden bin'lere bölündü. Her bir işaretleyici için polimorfizm bilgi içeriği (PIC-Polymorphism information content) değeri her bir SSR için (Saal ve Wricke 1999) tarafından tanımlanan formüle göre hesaplandı:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 - 2 \sum_{i=j+1}^k \sum_{j=1}^{i-1} p_i^2 p_j^2$$

pi i'inci allel'in sıklığını (frequency) ve k ise her lokus için farklı allel'lerin toplam sayısını vermektedir.

Bütün genotiplerin özgün bir lokus için mikrosatellite değerleri: var (present) için 1, yok (absent) için 0 ve heterozigot bireyler içinde 0.5 gibi değerlerle skorlandı. Bu veriler Nei'nin genetik benzerlik indeksinin (The Nei index of genetic similarity) hesaplanmasında kullanıldı (Nei ve Li 1979). Elde edilen bu değerler Darwin (Perrier ve Jacquemoud-Coller 2006) ve the NTSYS computer programı (Rohlf 1998) ile yapılan Aritmetik ortalama kullanılarak yapılan ölçülmemiş çift grup yöntemi (UPGMA - unweighted pair-group metodu) uygulanarak Tavuk örnekleri (accessions) arasındaki genetik ilişkiyi gösteren bir dendrogram oluşturulmasında kullanıldı. Bu çalışma sonunda 200 adet tavuktan oluşan bir çekirdek Atak-S ve Isa brown hibrit koleksiyon Powercore (Kim ve ark. 2007) program kullanılarak oluşturuldu. Oluşturulan bu koleksiyon ilişkilendirme analizlerinde kullanıldı.

BULGULAR

Polimorfizm, bir lokusta iki veya daha fazla allelin ortaya çıkmasıdır. Bu çalışmada kullanılan tüm mikrosatellit lokuslarının, Botstein ve ark (1980)' na göre çok şekilli ve oldukça bilgilendirici olduğu bulunmuştur. Çalışılan 6 kromozom lokusu, istisnasız olarak incelenen tüm popülasyonların genomları vasıtasıyla farklı allel sayılarıyla başarılı bir şekilde çoğaltıldı.

Tablo 1: Kullanılan primerlerin özellikleri (Rajkumar ve ark., 2008)**Table 1:** Properties of used primers (Rajkumar ve ark., 2008)

SNP Adı	Primer sekansı	Bağlanma sıcaklığı °C	Tekrar Uniti	Genbank Giriş No
ADL136	F: TGT CAA GCC CAT CGT ATC AC R: CCA CCT CCT TCT CCT GTT CA	52	(TG)10 TC (TG)10	G01561
ADL158	F: TGG CAT GGT TGA GGA ATA CA 20 R: TAG GTG CTG CAC TGG AAA TC	52	(CA)12	G01582
ADL176	F: TTG TGG ATT CTG GTG GTA GC 20 R: TTC TCC CGT AAC ACT CGT CA	52	(GT)12	G01598
MCW043	F: TGA CTA CTT TGA TAC GCA TGG AGA R: CAC CAA GTA GAC GAA AAC ACA TTT	55	(T)21	L40073
MCW005	F: ACC TCC TGC TGG CAA ATA AAT TGC R: TCA CTT TAG CTC CAT CAG GAT TCA	55	(TG)14	L40048
MCW049	F: AGC GGC GTT GAG TGA GAG GAG CGA R: TCC CCA ACC CGC GGA GAG CGC TAT	55	(GCA)11	L40077

Mikrosatelit Allel Dağılımı

Atak-S ve Isa Brown için yapılan SSR taraması sonucunda toplam 85 adet allel tespit edilmiştir. Her iki hibrit için allel ortalaması 14.16 ± 0.02 olarak bulunmuştur (Tablo 1). Yapılan SSR skorlama sonucunda Atak-S hibritlerinde SSR markörleri olan ADL136 için 12, ADL158 için 9, ADL176 için 6, MCW043 için 6, MCW005 için 10, MCW049 için 5 allel elde edilmiştir (Tablo 2). Isa Brown'da ise ADL136 için 8, ADL158 için 7, ADL176 için 4, MCW043 için 6, MCW005 için 8, MCW049 için 4 allel elde edilmiştir (Tablo 2).

Genetik Çeşitlilik

Beklenen heterozigotluk (H_e) ve PIC tahminleri, her bir alt popülasyonda ve hibritler arasındaki her lokus için allel frekansı verileri kullanılarak elde edildi. Ortalama H_e değeri 0.61 ± 0.05 , ortalama PIC değeri 0.62 ± 0.01 ve ortalama F_{is} değeri 0.25 ± 0.05 olarak bulundu (Tablo 1). En yüksek H_e değeri 0.534 (ADL136), en düşük H_e değeri ise 0.210 (MCW043) olarak tespit edildi. Ayrıca ortalama H_e değeri Atak-S tavuklarında 0.35 ± 0.76 , Isa Brown tavuklarında ise 0.26 ± 0.68 olarak belirlendi. PIC değeri en yüksek 0.48 (MCW005), en düşük 0.20 (MCW049) olarak bulundu (Tablo 3).

Tablo 2: İki tavuk hibritinde kullanılan 6 adet marköre ait tanımlayıcı bilgiler**Table 2:** Descriptive informations of 6 markers used in two chicken hybrids

Lokus	Allel büyüklüğü (bp)	Allel sayısı	H_e	PIC	F_{is}
ADL136	120-168	20	0.789	0.72	0.313
ADL158	167-198	16	0.692	0.64	0.309
ADL176	172-193	10	0.564	0.53	0.215
MCW043	110-133	12	0.434	0.62	0.154
MCW005	208-256	18	0.672	0.82	0.320
MCW049	110-129	9	0.543	0.44	0.234
Mean±SE	-	14.16 ± 0.02	0.61 ± 0.05	0.62 ± 0.01	0.25 ± 0.05

Not: H_e , beklenen heterozigotluk; PIC, Polimorfizm bilgi içeriği; F_{is} , Wright'ın sabitleme endeksi

Tablo 3: Atak-S ve Isa Brown alt popülasyonları içerisinde genetik çeşitlilik
Table 3: Genetic diversity within the subpopulations of Atak-S and Isa Brown

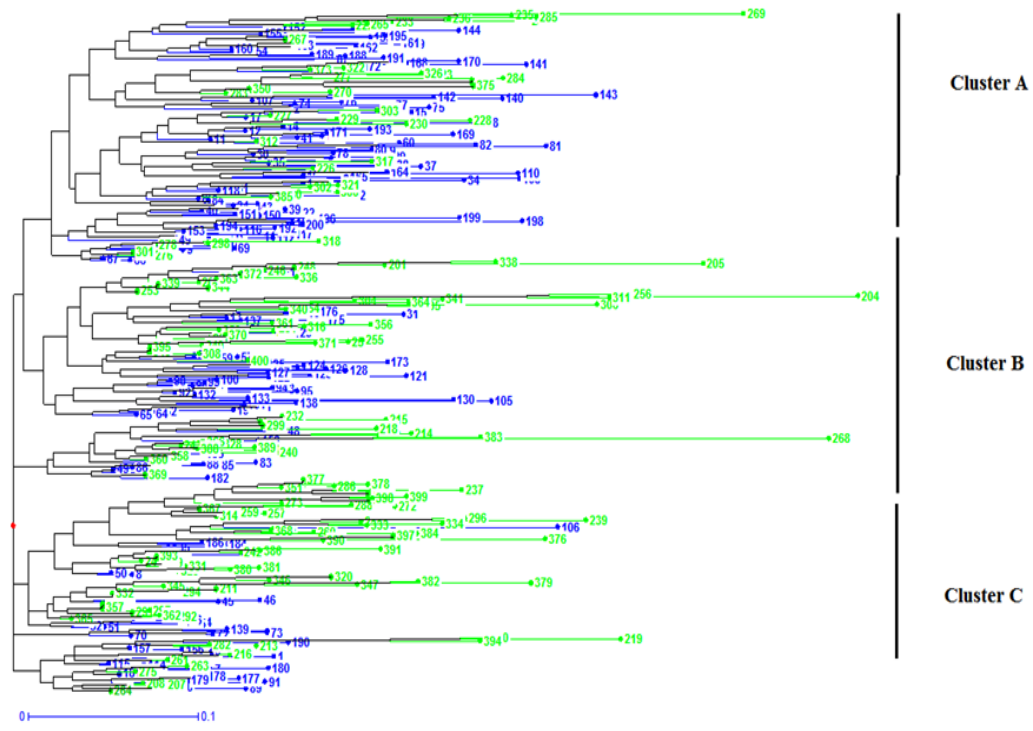
	Lokus	Atak-S	Isa Brown
ADL136	bp	120-168	120-168
	N	12	8
	H_o	0.429	0.372
	H_e	0.534	0.355
	PIC	0.42	0.30
ADL158	bp	167-198	167-198
	N	9	7
	H_o	0.423	0.267
	H_e	0.445	0.247
	PIC	0.40	0.34
ADL176	bp	172-193	172-193
	N	6	4
	H_o	0.253	0.249
	H_e	0.302	0.262
	PIC	0.29	0.24
MCW043	bp	110-133	110-133
	N	6	6
	H_o	0.221	0.220
	H_e	0.210	0.224
	PIC	0.30	0.32
MCW005	bp	208-256	208-256
	N	10	8
	H_o	0.435	0.256
	H_e	0.390	0.282
	PIC	0.48	0.34
MCW049	bp	110-129	110-129
	N	5	4
	H_o	0.245	0.201
	H_e	0.265	0.238
	PIC	0.24	0.20
Mean \pm SE	N \pm SE	8 \pm 0.76	6 \pm 0.16
	H_o \pm SE	0.33 \pm 0.05	0.26 \pm 0.08
	H_e \pm SE	0.35 \pm 0.76	0.26 \pm 0.68
	PIC \pm SE	0.35 \pm 0.5	0.29 \pm 0.05

Not: bp, allel büyüklüğü; N, allel sayısı; H_o , gözlenen heterozigotluk; H_e , beklenen heterozigotluk; PIC, Polimorfizm bilgi içeriği.

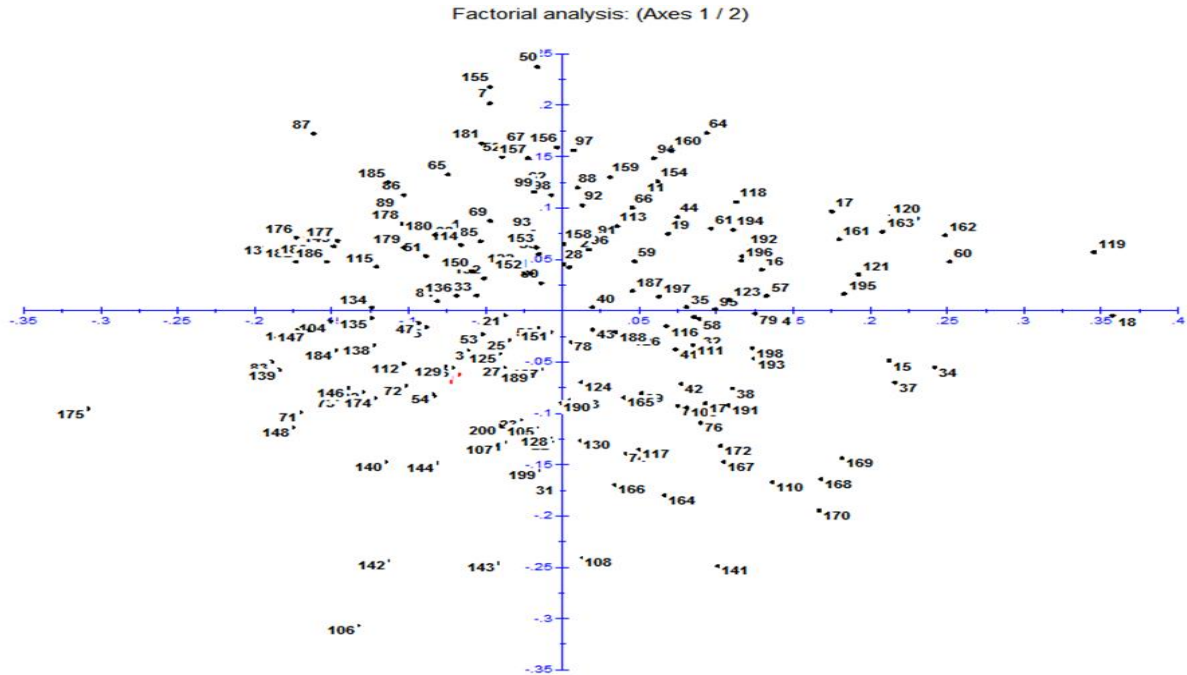
Çalışmada kullanılan SSR verileri Dice coefficient and unweighted neighbor-joining algorithm kullanılarak oluşturulan dendogram analizi ve matris uzaklığı için kullanıldı. Mantel test sonuçları dendogram ve matris uzaklığı arasında yüksek oranda korelasyon olduğunu gösterdi ($r = 0.96$). Her iki hibrit için SSR markörlerine dayalı genetik farklılık analizinde SSR markörleri arasında istatistikî farklılıklar bulunmuştur. Ayrıca her iki hibrit üç farklı gruba ayrılmıştır (Şekil 1). Bu durum iki hibrit arasında SSR markör bakımında farklılıkların olduğunu göstermektedir.

Popülasyon Yapısı ve Genetik Orijinler

Popülasyon yapısı SSR verilerine göre incelendi ve yukarıdaki sonuçlara benzer veriler elde edildi. Sonuçlara göre veriler $K=2$ modeline göre en iyi şekilde tanımlandı ve üç farklı sub-popülasyon grubu elde edildi. Belirlenen sub-popülasyonların treshhold değerinin $p \geq 0.6$ olduğu gözlemlendi. Popülasyonların genetik orijinleri PCoA'ya göre belirlendi. Yapılan faktöriyel analiz sonucu iki hibritte de SSR markörlerinin farklı frekanslarda allel oluşturduğu gözlemlendi (Şekil 2 ve Şekil 3).

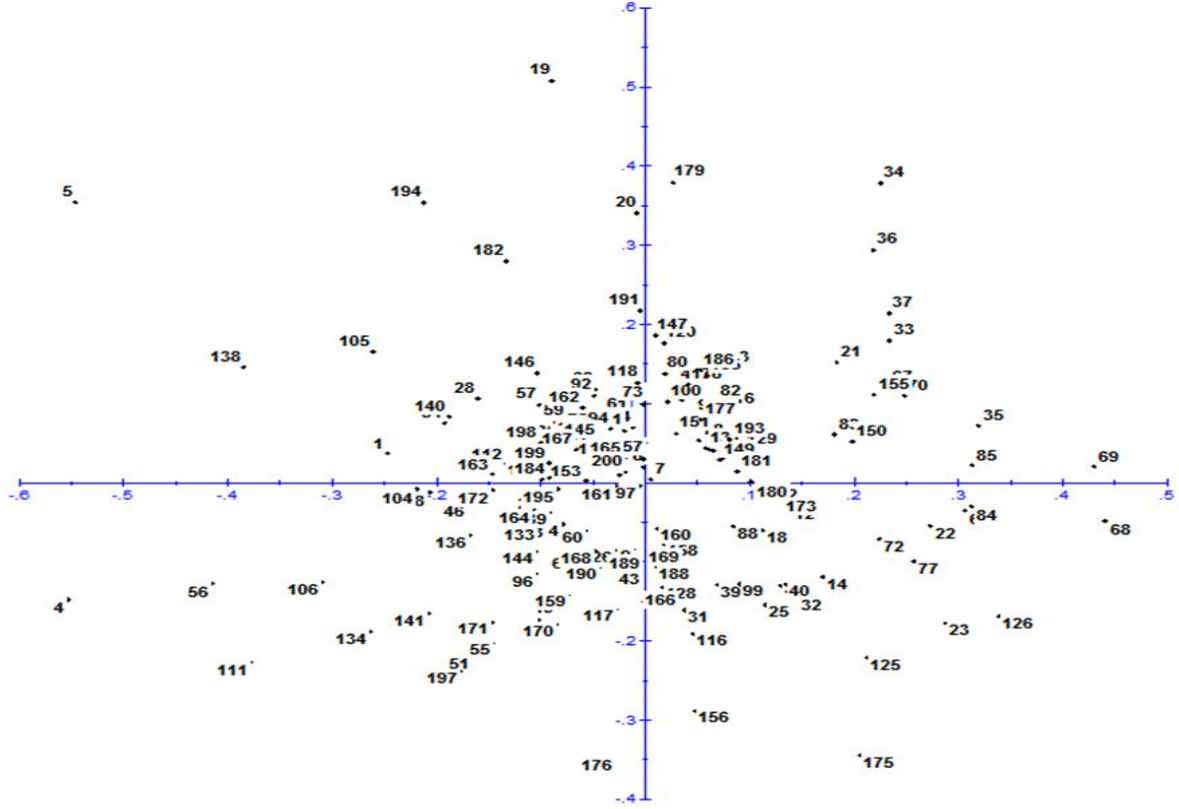


Şekil 1: Isa Brown ve Atak-S hibritleri için oluşturulan Unweighted neighbor-joining dendrogram (Yeşil; Atak-S, Mavi; Isa Brown). Cluster A; Isa Brown, Cluster B; Atak-S, Cluster C; Isa Brown + Atak-S.
Figure 1: Unweighted neighbor-joining dendrogram (Green; Atak-S, Blue; Isa Brown) for Isa Brown and Atak-S hybrids. Cluster A; Isa Brown, Cluster B; Atak-S, Cluster C; Isa Brown + Atak-S.



Şekil 2: SSR verilerine dayanan PCoA analizi (Isa Brown).
Figure 2: PCoA analysis based on SSR data (Isa Brown).

Factorial analysis: (Axes 1 / 2)



Şekil 3: SSR verilerine dayanan PCoA analizi (Atak-S).
Figure 3: PCoA analysis based on SSR data (Atak-S).

TARTIŞMA

Mikrosatellit Allel Dağılımı

Bu çalışma, önemli ticari hibritlerden olan Atak-S ve Isa Brown yumurtacı hibritlerinin karşılaştırmalı popülasyon yapısını ve bazı mikrosatellitler ile yumurta verimi ve ağırlığı arasındaki genetik ilişkiyi ortaya koymuştur. Biz bu çalışmada genomik çeşitlilik ve tavukların evrim geçmişi çıkarmak için genom kaynaklı mikrosatellit markörlerini kullandık. Mikrosatellit lokusu, eğer uygun PIC değerlerine sahip Mendel kalıtımına benzer koşulları, farklı kromozom /bağlantı gruplarındaki varlıkları ve bağımsız çeşitlilik gibi koşulları yerine getiriyorsa, bir popülasyonun bağımsız bir evrimsel geçmişini temsil eder. Bu çalışmada kullanılan ve tüm koşulları sağlayan lokuslar, biyoçeşitlilik ve popülasyon genetiği çalışmaları için uygun bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada evrensel olarak kabul edilmiş polimorfik lokus setine dayanan, oldukça kararlı, tekrarlanabilir ve yüksek çözünürlüklü bir yöntem kullanıldı.

Bu çalışmada önceki raporlara kıyasla çok daha fazla mikrosatellit değişikliği olduğu ortaya çıktı (Crooijmans ve ark. 1996a, Crooijmans ve ark.

1996b, Rajkumar ve ark. 2008, Kaya and Yıldız 2008). Bu çalışmada elde edilen allellerin sayısı ve büyüklük aralıkları diğer araştırmacılar tarafından bildirilenlerden daha yüksek bulundu (Vanhala ve ark. 1998, Romanov and Weigend 2001, Shahbazi ve ark., 2007, Kaya and Yıldız 2008). Osman ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada Japon ve yabancı tavuk popülasyonlarında her bir lokus için 18 allel tespit etmiştir. Pirany ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada MCW005 için 27 adet allel tespit edilmiştir. Daha önce Türkiye’de yetiştirilen ve yerli tavuk hibritlerinden olan denizli ve gerze tavuklarına üzerine yapılan bir çalışmada ADL 136 için 12, ADL 158 için 5 ve ADL 176 için ise 9 adet allel bulunmuştur (Kaya and Yıldız 2008). Hindistanda ki tavuk popülasyonları üzerine yapılan bir çalışmada ADL 136 için 21, ADL 158 için 10, ADL 176 için 18, MCW043 için 13, MCW005 için 26 ve MCW049 için 10 adet allel tespit edilmiştir (Rajkumar ve ark. 2008). Allel sayısındaki ve allel büyüklüğündeki farklılıklar, yüksek derecede genetik varyasyon içeren birbirleriyle bağımsız olan yerel popülasyonların ve ticari türlerin genotiplendirilmesinden kaynaklı olabilir. Büyük allel büyüklüğü dağılımı ve lokus sayısı içeren bu çalışma, farklı tavuk popülasyonlarının verimlerini

arttırmaya yönelik yapılacak olan moleküler ıslah üzerine çalışmalara yarar sağlayacaktır.

Genetik Çeşitlilik

Popülasyonlardaki heterozigotluk tahminleri, belirlenen allel sayısında ve polimorfik bilgi içeriğinde belirgin bir heterojenlik gösteren bir dizi markör üzerine kurulmuştur. Çok değişken ve daha az değişken mikrosatellitlerden oluşan bir karışımın kullanılması, aşırı değişken lokusların kullanılması durumunda oluşabilecek genetik değişkenliğin aşırı tahmin edilmesi tehlikesini azaltacaktır (Wimmers ve ark. 2000). Bu çalışmada tüm lokuslar için yüksek H_e gözlemlendi ve ortalama lokuslar için H_e değeri 0.61 ± 0.05 olarak bulundu (Tablo 2). İki hibrit arasında H_e ise; Atak-S'de 0.35 ± 0.76 , Isa Brown'da 0.26 ± 0.68 olarak bulundu (Tablo 3). Bu sonuç, Atak-S hibritindeki genetik çeşitliliğin Isa Brown hibritine göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Kore yerli tavuklarında yapılan bir çalışmada genetik çeşitliliği gösteren H_e değerinin 0.63 olduğu (Kong ve ark. 2006), Afrika, Asya ve Güney Amerika yerel tavuklarında yapılan bir çalışmada H_e değerinin $0.45-0.67$ arasında olduğu (Wimmers ve ark. 2000), Çin yerel tavuklarında yapılan bir çalışmada ise H_e değerinin $0.63-0.86$ arasında olduğu (Shahbazi ve ark. 2007) rapor edilmiştir. Beklenen heterozigotluğun değişimi, konum, örnek büyüklüğü, popülasyon yapısı ve mikrosatellit belirteçlerinin kaynakları arasındaki farklılıklara bağlı olabilir.

Ortalama PIC, allel fragmanlarının polimorfizmini ölçmek için ideal bir indekstir. Botstein ve ark. (1980)'na göre $PIC > 0.50$, oldukça bilgilendirici bir lokusu, $0.50 > PIC > 0.25$, orta düzey bilgilendirici bir lokusu, ve $0.25 > PIC$ düşük bilgilendirici bir lokusu ifade eder. Bu çalışmada PIC ortalaması 0.62 ± 0.01 olarak bulundu. Bu sonuç Atak-S ve Isa Brown hibritlerinde kullanılan mikrosatellit belirteçlerinin yüksek oranda bilgilendirici olduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda ADL0158, ADL0171, ADL0176, ADL0210, ve ADL0267 mikrosatellitlerinin yüksek seviyede bilgilendirici olduğu tespit edilmiştir (Wimmers ve ark. 2000, Kaya and Yıldız 2008).

SONUÇ

Bu çalışmada, sınırlı sayıda lokus ve analiz edilen numuneler olsa bile, Atak-S ve Isa Brown alt popülasyonlarını tanımlamak ve karşılaştırmak için moleküler belirteç olarak mikrosatellit primerlerinin kullanılabilirliği gösterilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler, Atak-S ve Isa Brown hibritleri içindeki ve arasında genetik çeşitliliklerin iyi korunmuş olduğunu ileri sürmektedir. Diğer bir ifadeyle çalışmada kullanılan SSR markörlerinin, yumurta yönlü yerli hibritlerimizin performansının yükseltilmesi, kapasite ve üretim düzeylerinin artırılması üzerine yapılacak moleküler ıslah çalışmalarında kullanılması faydalı olacaktır. Ayrıca,

mikrosatellit analizi ile tahmin edilen Atak-S ve Isa Brown hibritleri hakkındaki bilgiler, gelecekteki genetik varyasyon araştırmalarını tasarlamak ve koruma stratejileri geliştirmek için hedeflerin belirlenmesinde rehber olarak yararlı olabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın moleküler kısımları Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DAYTAM) yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- Bakhtiarizadeh MR, Arefnejad B, Ebrahimie E, Ebrahimi M.** Application of Functional Genomic Information to Develop Efficient EST-SSR For The Chicken (*Gallus gallus*). Genet Mol Res. 2012; 11(2): 1558-74.
- Balcı F, Petek M, Başpınar H, Oğan M.** Farklı genotipten yumurtacı tavukların eşdeğer çevre koşullarında karşılaştırmalı verim özellikleri, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2003; 29 (1): 9-20.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW.** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet. 1980; 32(3): 314-31.
- Büyükbeci İ, Kadioğlu B.** Yumurta Verim Yönlü Yerli Yerli ve Dış Kaynaklı Hibritlerin Çeşitli Performanslarının Karşılaştırılması. Gelişme Raporu, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü 1991 Yılı Faaliyet raporu. 1992 Ankara.
- Choi W, Shin GW, Hwang HS, Pack SP, Jung GY, Jung GY.** A Multiplex Single Nucleotide Polymorphism Genotyping Method Using Ligase-Based Mismatch Discrimination nnd CE-SSCP. Electrophoresis. 2014; 35(8): 1196-203.
- Crooijmans RPMA, Groen AF, Van Kampen AJA, Van der Beek S, Van der Poel JJ, Groenen MAM.** Microsatellite polymorphism commercial broiler and layer lines estimated using pooled blood samples. Poult. Sci. 1996a; 75: 904-909.
- Crooijmans RPMA, van Ders PAM, Strijk JA, Van der Poel JJ, Groenen MAM.** Preliminary linkage map of the chicken (*Gallus domesticus*) genome based on microsatellite markers: 77 new markers mapped. Poult. Sci. 1996b; 75: 746-754.
- Çelik, İ.** İkili (PR) Yerli Kahverengi Hibritlerle Yabancı Kahverengi Hibritlerin Çeşitli Verim Özellikleri Bakımından Karşılaştırılması. Gelişme raporu, T.C.

- Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Tavukçuluk Araştırma Enstitü Müdürlüğü 1991 Yılı Faaliyet raporu. 1992 Ankara.
- Durmuş İ, Sarıca M, Aktan S, Yıldız T, Kahraman Z, Ertaş S.** Geliştirilmekte Olan Yerli Ticari Yumurtacı Hibritlerin Verim Özelliklerinin Belirlenmesi, Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2009; 8(1): 5-9.
- Erensayın C.** Bilimsel-Teknik-Pratik Tavukçuluk (Et Tavukçuluğu Ve Kuluçka). Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti, Ankara. 2000a; 1(183): 561.
- Erensayın C.** Bilimsel-Teknik-Pratik Tavukçuluk (Yumurta Tavukçuluğu). Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti, Ankara. 2000b; 2(184): 472.
- Fathel AN, Elibol O.** Yerli ve Dış Kaynaklı Kahverengi Yumurtacı Hibritlerin Verim Özellikleri Bakımından Karşılaştırılması, Tarım Bilimleri Dergisi. 2006; 12 (2): 182-187.
- Karaçay, N.** Yerli ve Dış Kaynaklı Yumurtacı Hibritlerin Birinci ve İkinci Verim Dönemi Performansları Bakımından Karşılaştırılması. 19 Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 2000.
- Kaya M, Yıldızı MA.** Genetic diversity among Turkish native chickens, Denizli and Gerze, estimated by microsatellite markers. *Biochem. Genet.* 2008; 46: 480-491.
- Kim KW, Chung HK, Cho GT, Ma KH, Chandrabalan D, Gwag JG, Kim TS, Cho EG, Park YJ.** PowerCore: a program applying the advanced M strategy with a heuristic search for establishing allele mining sets. *Bioinformatics* 2007; 23: 2155-2162.
- Kong HS, Oh JD, Lee JH, Jo KJ, Sang BD, Choi CH, Kim SD, Lee SJ, Yeon SH, Jeon GJ, Lee HK.** Genetic variation and relationships of Korean native chickens and foreign breeds using 15 microsatellite markers. *Asian Aust J Anim Sci.* 2006; 19(11): 1546–1550.
- Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez JG, Buckler E, Doebley J.** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *PNAS* . 2002; 99(9): 6080–6084.
- Nei M, Li WH.** Mathematical Model For Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* 1979; 76: 5269–5273.
- Osman SAM, Sekino M, Nishihata A, Kobayashi Y, Takenaka W, Kinoshita K, Kuwayama T, Nishibori M, Yamamoto Y, Tsudzuki M.** The genetic variability and relationships of Japanese and foreign chicken assessed by microsatellite DNA profiling. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2006; 19: 1369-1378.
- Pirany N, Romanov MN, Ganpule SP, Devegowda G, Prasad DT.** Microsatellite analysis of genetic diversity in Indian chicken populations. *J. Poult. Sci.* 2007; 44: 19-28.
- Rajkumar U, Gupta BR, Reddy AR.** Genomic Heterogeneity of Chicken Populations in India. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2008; 21(12): 1710 – 1720.
- Rohlf FJ.** NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.02. Exeter Software, Setauket, New York, 1998.
- Romanov MN, Weigend S.** Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and red jungle fowl using microsatellite markers. *Poult. Sci.* 2001; 80: 1057-1063.
- Saal B, Wricke G.** Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale*L.) (1999) *Genome.* 1999; 42(5): 964-972.
- Shahabazi S, Mirhossini SZ, Romanov MN.** Genetic diversity in five Iranian native chicken populations estimated by microsatellite markers. *Biochem. Genet.* 2007; 45: 63- 75.
- Türkoğlu M, Arda M, Yetişir R, Sarıca M, Altan A, Erensayın C.** Tavukçuluk Bilimi (Yetiştirme Ve Hastalıklar), I.Baskı Bey Ofset, Matbaacılık Ltd.Şti, Ankara. 2004; 489.
- Vanhala T, Tuiskala-Haavisto M, Elo K, Vilkki J, Maki TA.** Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers. *Poult. Sci.* 1998; 77: 783-790.
- Wenz H, Robertson JM, Menchen S, Oaks F, Demorest DM, Scheibler D, Rosenblum BB, Wike C, Gilbert DA, Efcavitch JW.** High-Precision Genotyping By Denaturing Capillary Electrophoresis. *Genome Res.* 1998; 8(1): 69-80.
- Wimmers K, Ponsuksili S, Hardge T, Valle-Zarate A, Mathur PK, Horst P.** Genetic distinctness of African, Asian and South American local chickens. *Anim Genet.* 2000; 31(3): 159-65.
- Yığıtoğlu E, Testik A.** Atak-S Yumurtacı Tavuk Hibritinin Çukurova (Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Ve Uygulama Çiftliği) Koşullarında Performansının Saptanması. Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü. 2008; 18: 2.