



## Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde Yetiştirilen Yumurtacı Saf Tavuk Hatlarında Yumurta Verimi ile İlişkili IGF-I ve NPY Aday Genlerindeki Polimorfizmlerin Belirlenmesi

Taki Karşlı<sup>1\*</sup>, Murat Soner Balcıoğlu<sup>1</sup>, Eymen Demir<sup>1</sup>, Hüseyin Göktaş Fidan<sup>1</sup>, Mehmet Aslan<sup>1</sup>, Sedat Aktan<sup>2</sup>, Serdar Kamanlı<sup>3</sup>, Kemal Karabağ<sup>4</sup>, Emine Şahin<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 07058 Antalya, Türkiye

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 32260 Isparta, Türkiye

<sup>3</sup>Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 06170 Yenimahalle/Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 07058 Antalya, Türkiye

<sup>5</sup>Akdeniz Üniversitesi, Korkuteli Meslek Yüksekokulu, 07800 Korkuteli/Antalya, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

#### Araştırma Makalesi

Geliş 27 Nisan 2017

Kabul 09 Haziran 2017

#### Anahtar Kelimeler:

Aday genler

IGF-I

NPY

PCR-RFLP

Saf tavuk hatları

\* Sorumlu Yazar:

E-mail: takikarsli@akdeniz.edu.tr

### Ö Z E T

İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) ve nöropeptid Y (NPY) tavuklarda üreme özellikleri ile ilişkili aday genlerdir. Bu çalışmanın amacı Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilen yumurtacı saf hatlarda IGF-I ve NPY genlerindeki polimorfizmlerin PCR-RFLP yöntemi kullanılarak belirlenmesidir. Bu amaçla IGF-I (5' untranslated region) ve NPY genleri için sırasıyla 621 ve 248 bp büyüklüğündeki bantlar çoğaltılmıştır. PCR ürünleri IGF-I ve NPY genleri üzerindeki tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) belirlemek için sırasıyla *Pst*I ve *Dra*I restriksiyon enzimleri ile kesildi. IGF-I geni için Brown ve D-229 dışındaki tüm hatlar polimorfik bulunmuştur. Kahverengi yumurtacı saf hatlarda IGF-I geni için A allelinin frekansı 0,344 (COL) ile 0,906 (RIRII) aralığında değişirken, beyaz yumurtacı saf hatlarda 0,781 (Maroon) ile 1,000 (D-229, Brown) aralığında bulunmuştur. Bu çalışmada NPY geni için tüm kahverengi yumurtacı saf hatlar polimorfik iken, beyaz yumurtacı tavuk hatlarında sadece Maroon hattı monomorfik bulunmuştur. NPY geni için T allelinin frekansı kahverengi yumurtacılarda 0,200 (BARI) ile 0,985 (COL), beyaz yumurtacılarda ise 0,397 (D-229) ile 1,000 (Maroon) aralığında değişmiştir. Uygulanan ki-kare testine ( $\chi^2$ ) göre polimorfik popülasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenmemiştir. Sonuç olarak Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilen yumurtacı saf hatlarda IGF-I ve NPY genlerindeki polimorfizmler ilk kez gösterilmiştir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 5(9): 1051-1056, 2017

## Determination of Polymorphisms in IGF-I and NPY Candidate Genes Associated with Egg Yield in Pure Layers Chicken Lines Reared in the Ankara Poultry Research Institute

### ARTICLE INFO

#### Research Article

Received 27 April 2017

Accepted 09 June 2017

#### Keywords:

Candidate genes

IGF-I

NPY

PCR-RFLP

Pure chicken lines

\*Corresponding Author:

E-mail: takikarsli@akdeniz.edu.tr

### ABSTRACT

Insulin-like factor-I (IGF-I) and neuropeptide Y (NPY) are candidate genes related with reproductive traits in chicken. The aim of the present study, were to determine polymorphisms the IGF-I (5' untranslated region) and NPY genes in pure layer lines reared Ankara Poultry Research Institute by using PCR-RFLP method. For this purpose, 621 and 248 bp fragments were amplified for IGF-I and NPY genes, respectively. The PCR products were digested with *Pst*I and *Dra*I restriction enzymes, respectively, to detect of single nucleotide polymorphism (SNP) on IGF-I and NPY genes. All pure chicken lines were found polymorphic except Black and D-229 lines for the IGF-I gene. While the frequency of A allele ranged from 0.344 (COL) and 0.906 (RIRII) in brown layer pure lines for IGF-I gene, in white layer pure lines were found in the range between 0.781 (Maroon) and 1.000 (D-229, Brown). While all brown pure layer chicken lines were polymorphic for NPY gene in this research, only Maroon line was found monomorphic in white layer chicken lines. The frequency of the T allele for NPY gene ranged between 0.200 (BARI) and 0.985 (COL) in brown layers and between 0.397 (D-229) and 1.000 (Maroon) in white layers. According to applied chi-square test, no deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was observed in polymorphic populations. As a result, polymorphisms were shown for the first time for IGF-I and NPY genes in pure layer lines reared at the Ankara Poultry Research Institute.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i9.1051-1056.1290>

## Giriş

Çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan özelliklerin çoğu kantitatif kalıtım göstermektedir. Bu özelliklerin fenotipte ifade edilmesi çok sayıda gen ve çevre şartları tarafından belirlenir. Kanatlılarda ekonomik öneme sahip olan yumurta verimi ve yumurta kalite özellikleri poligenik kalıtım gösterir ve düşük kalıtım derecesine sahiptir. Tavuklarda yumurta verimi, üreme sisteminin gelişerek cinsel olgunluğa ulaşması ile başlamakta ve başta genetik alt yapı olmak üzere endokrin özellikler ve fotoperiyot uzunluğu ya da besleme koşulları gibi birçok çevresel faktörün interaksyonu ile şekillenmektedir. Tavuklarda yapılan klasik ıslah çalışmaları yanı sıra yumurta verimi ve kalitesiyle ilgili aday genlerin QTL ile belirlenmesi ve bu genlerin ayrı ayrı ya da birkaçının bir arada Marker Destekli Seleksiyonda (Marker Assisted Selection-MAS) kullanılması seleksiyonda başarıyı ve genetik ilerleme hızını arttıracak potansiyele sahiptir (Li ve ark., 2009; Uemoto ve ark., 2009, Xu ve ark., 2011).

Günümüzde diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi tavuklarda da MAS çalışmalarında kullanılabilecek çok sayıda aday gen tespit edilmiştir. Yumurta tavukçuluğunda yumurta verimi ve kalitesi için kullanılabilecek aday genler arasında *Gonadotropin salgılatıcı hormon (Gonadotropin releasing hormone - GnRH)* (Xu ve ark., 2011) İnsülin benzeri büyüme faktörü (*Insulin-like growth factor – IGF-I*), Büyüme Hormonu (*Growth hormone - GH*) (Li ve ark., 2008), Prolaktin (*Prolactin - PRL*) (Abdi ve ark., 2014), Dopamin (*dopamine-DA*) (Xu ve ark., 2010), Nöropeptid Y (*Neuropeptide Y NPY*) (Li ve ark., 2009), Vazoaktif intestinal polipeptit (*Vasoactive intestinal peptide- VIP*) (Zhou ve ark., 2010), Ovocalyxin-32 (Uemoto ve ark., 2009), Melatonin (Li ve ark., 2013) hormonları ve bunların reseptörlerine ait genler gösterilebilir. Bu hormonlar tavuklarda üreme sisteminin kontrolünde görev alarak yumurta verimi ve kalitesini etkilemektedir.

Kuşlarda yumurta üretim işlemi HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis- Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal eksen) tarafından sıkı şekilde kontrol edilir. *Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH)* bu eksenin en üstünde yer alan kilit bir hormondur. GnRH *gonadotropin salgılatıcı hormon* reseptörüne (GnRHR) bağlanarak hipofiz bezinden gonadotropin salgılanmasını uyarır ve daha sonra gonadlarda steroidogenezi başlar ve bunun sonucunda tavuklarda yumurtlama işlemi gerçekleşir. Nöropeptid Y (NPY) üreme fonksiyonlarının düzenlenmesine hipotalamus seviyesinde GnRH salgılanması kontrol mekanizmasına dahil olarak görev alır. NPY'nin yem tüketiminin düzenlenmesinde, üreme aktiviteleri ve cinsel olgunluk yaşında kritik rol oynadığı bilinmektedir (Li ve ark., 2009).

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (*Insulin-like growth factor – IGF*) sistemi IGF'ler (IGF-1 ve IGF-2) IGF reseptörleri (İnsülin reseptörü, IGF1R ve IGF2R) ve IGF bağlayıcı proteinlerden (IGFBP) oluşmaktadır. IGF'ler (somatomedinler) büyüme hormonunun anabolik ve mitojenik etkilerinin çoğunun ortaya çıkmasına aracı olan peptid ailesidir (Khadem ve ark., 2010). Büyüme hormonu eksenini (GH) oluşturan bileşenlerin üreme

sistemi için biyolojik işlemlerde büyüme ve farklılaşmaya kadar çok büyük etki alanı vardır. Büyüme hormonu reseptörü (GHR) ve insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) sistemleri hayvanlarda hızlı büyüme safhasında foliküllerin sayısını kontrol etmektedir. Tavuklarda her iki cinsiyette de vücut ağırlığı homeostazı ile üreme ekseninde açık fizyolojik iletişim vardır. Cinsel olgunluk yaşı kronolojik yaştan daha çok vücut ağırlığı ile ilişkilidir (Li ve ark., 2008).

Tavuklarda IGF-I ve NPY genleri üzerindeki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ile yumurta verimi ve kalitesi arasında ilişkili olduğu bildirilmiştir. NPY genindeki polimorfizm ile ilk yumurtlama yaşı (P<0,05) (Dunn ve ark., 2004), 150 günlük yumurta verimi (P<0,01) (Xu ve ark., 2007), 300 günlük yumurta verimi (P<0,05) (Li ve ark., 2009), cinsel olgunluğa ulaşma ağırlığı (P<0,05) (Fatemi ve ark., 2012) arasında ilişki olduğu raporlanmıştır. IGF-I geni 5'-UTR (5'untranslated region) bölgesindeki SNP ile 300 ve 400 günlük yumurta verimi (P<0,05) (Li ve ark., 2008; Li ve ark.,2009), yumurta kabuk ağırlığı (P<0,01) ve kabuk kalınlığı (P<0,05) (Li ve ark., 2010), 12 haftalık yumurta ağırlığı (P<0,05) (Khadem ve ark., 2010) arasında ilişki olduğu belirtilmiştir.

Türkiye'de damızlık materyal üretimine yönelik çalışmalar sadece Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde yapılmaktadır. Kuruluşu 1930'lu yıllara dayanan enstitüde bugün 6 adet kahverengi [Rhode Island Red I (RIRI), Rhode Island Red II (RIRII), Barred Rock I (BARI), Barred Rock II (BARI), Colombian Rock (COL), Line-54 (L-54)] ve beş adet beyaz [Black Line, Brown Line, Blue Line, Maroon Line, D-229] yumurtacı saf hat bulunmaktadır. D-229 saf hattı 2010 yılında Çek Cumhuriyeti'nden diğer tüm hatlar ise 1995 yılında Kanada'dan ithal edilmiştir. Bu hatlar üzerinde çeşitli kriterler bakımından seleksiyon işlemine devam edilmektedir (Durmuş ve ark., 2008; Anonim, 2017).

Bu çalışmada Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü bünyesinde yetiştirilen yumurtacı saf hatlarda yumurta verimiyle ilişkisi daha önceki çalışmalarda tespit edilmiş IGF-I ve NPY genlerindeki polimorfizmlerin PCR-RFLP metodu kullanılarak belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışmadan elde edilecek bulguların daha sonra yapılması muhtemel MAS çalışmaları için temel bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Çalışmanın materyalini Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü bünyesinde yetiştirilen 6 adet kahverengi ve 5 adet beyaz yumurtacı saf tavuk hattından alınan kanlardan elde edilen DNA'lar oluşturmaktadır. Araştırmada her tavuk hattından en az 32 en fazla 40 birey olmak üzere IGF-I geni için toplam 388, NPY geni için 393 birey kullanılmıştır. DNA izolasyonu için tavukların kanat altı toplar damarından (*venous cutanea ulnaris*) EDTA'lı tüplere 2'şer ml kan alınmış ve kan örnekleri DNA izolasyonu yapılmaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

**Yöntem**

**DNA İzolasyonu:** Araştırmada genomik DNA molekülünün izolasyonunda Miller ve ark. (1988) tarafından bildirilen DNA izolasyon protokolü uygulanmıştır. DNA izolasyonunun başarılı olup olmadığı %1'lik agaroz jel kullanılarak kontrol edilmiş, izole edilen DNA molekülünün miktarı ve kalitesi spektrofotometre ile belirlenmiştir. İzole edilen DNA'ların miktarı PCR işleminde kullanılmadan önce 50 ng/μl olarak ayarlanmıştır.

**PCR-RFLP İşlemi:** PCR işleminde IGF-I ve NPY gen bölgelerini çoğaltmak için kullanılan primerler, bağlanma sıcaklıkları ve RFLP işleminde kullanılan enzimler Tablo 1'de verilmiştir. Uygulanan PCR programı ve PCR reaksiyon karışımları Tablo 2'de gösterilmiştir. PCR işleminde IGF-I geni için 621 bç, NPY geni için 248 bç

büyükliğindeki bantlar elde edildikten sonra PCR ürünlerinin restriksiyon enzimi ile kesimi 10μl PCR ürünü, 5U kesim enzimi (0,5 μl), 2 μl enzim buffer ve 2,5 μl H<sub>2</sub>O olmak üzere 15 μl hacminde ayarlanmış ve 37°C'de 12 saat (overnight) olarak uygulanmıştır. PCR sonucu oluşması gereken muhtemel bant büyüklükleri ile RFLP işlemi sonucu genotiplere ait bant büyüklükleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

**İstatistik Analizler**

Çalışılan populasyonlarda ilgili genlerdeki allel ve genotip frekanslarının hesaplanmasında ve populasyonlarda Hardy-Weinberg dengesinin test edilmesinde Popgen32 (Yeh ve ark., 1997) istatistik programı kullanılmıştır.

Tablo 1 IGF-I ve NPY gen bölgelerini çoğaltmak için kullanılan primerler ve RFLP işleminde kullanılan enzimler

Gen	Primerler (5'-3')	Kro.	Enzim	Bağlanma (°C)	Kaynak
IGF-I	F: GACTATACAGAAAGAACCAC	1	<i>Pst</i> I (Thermo, ER0611)	60	(Li ve ark., 2008; 2009)
	R: TACTACTCAAGTGGCTCAAGT				
NPY	F: TCTCAGAGCTCCAACGTATGA	7	<i>Dra</i> I (Thermo, ER0221)	59	(Li ve ark., 2009)
	R: ATATTTCTGTGCTGAACAACA				

Tablo 2 Çalışmada kullanılacak PCR reaksiyon karışımı ve PCR programı

PCR Bileşeni (Marka)	Miktar μl (1X)	PCR programı		30 döngü
H <sub>2</sub> O	11,4	İlk denatürasyon	95°C de 5 dk	
HQ buffer (GeneAll)	1,2	Denatürasyon	95°C de 45 sn	
10X buffer (GeneAll)	2	Bağlanma	Tablo 1. 45 sn	
dNTPs (Thermo)	2 (2,5 mM/ μl)	Uzama	72°C de 50 sn	
Forward Primer	0,3 (10 pmol/μl)	Son uzama	72°C de 5 dk	
Reverse Primer	0,3 (10 pmol/μl)			
Taq (GeneAll)	0,3 (2,5 U/μl)			
DNA	2,5 (50 ng/μl)			

Tablo 3 PCR ve RFLP işlemleri sonrasında olası genotiplere ait bant büyüklükleri

Gen	PCR fragment büyüklüğü (bç)	RFLP işlemi sonrası genotipler (bç)		
		AA	AB	BB
IGF-I	621	257-364	257-364-621	621
NPY	248	81-167	81-167-248	248

**Bulgular ve Tartışma**

PCR işleminde IGF-I geni için 621 bç, NPY geni için 252 bç büyüklüğündeki fragmentleri PCR ile çoğaltılmıştır. IGF-I için çoğaltılan PCR ürünlerinin *Pst*I restriksiyon enzimi ile kesimiyle üç genotip (AA-257/364 bç, AB-257/364/621 bç, BB-621 bç) elde edilmiştir. (Şekil 1). NPY geni için 248 bç büyüklüğündeki PCR ürünlerinin *Dra*I restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu üç genotip (TT-81/167bç, TC-81/167/248 bç, CC-248 bç) belirlenmiştir (Şekil 2).

Yapılan PCR-RFLP analizleri sonucu IGF-I geni için kahverengi yumurtacılarda tüm hatların polimorfik olduğu, beyaz yumurtacılarda ise Brown (genotip AA) ve D-229 (genotip AA) hatlarının monomorfik Black, Blue ve Maroon hatlarının polimorfik olduğu tespit edilmiştir. NPY geni için ise kahverengi yumurtacılarda L-54 hattı (genotip TC) dışındaki tüm hatlarda beyaz yumurtacılarda ise Maroon (genotip TT) dışındaki tüm hatlarda polimorfizm tespit edilmiştir (Tablo 4).

Yapılan araştırmada IGF-I geni için kahverengi yumurtacı hatlarda AA genotipinin frekansı en düşük COL hattında (0,125) en yüksek ise RIRII (0,812) hatlarında tespit edilmiştir. Beyaz yumurtacılarda ise AA genotipinin frekansı 0,625 (Maroon) ile 1,000 (Brown ve D-229) aralığında değişmektedir. Kahverengi yumurtacılarda AB genotipinin frekansı 0,188 (RIRII) ile 0,468 (BARII) arasında değişirken, beyaz yumurtacılarda 0,000 (Brown ve D-229) ile 0,312 (Maroon) arasında değişmiştir. Kahverengi yumurtacılarda BB genotipine RIRI, RIRII ve L-54 hatlarında rastlanmazken, 0,437 ile en yüksek frekans COL hattında tespit edilmiştir. Beyaz yumurtacılarda ise BB genotipine sadece Maroon hattında (0,063) rastlanmıştır.

Yürütülen çalışmada kahverengi yumurtacılarda IGF-I geninde A allelinin frekansı 0,344 (COL) ile 0,906 (RIRII) aralığında, beyaz yumurtacılarda 0,781 (Maroon) ile 1,000 (Brown, D-229) aralığında değişmiştir. Kahverengi yumurtacılarda B allelinin frekansı en düşük

RIRII hattında (0,094), en yüksek COL hattında (0,656) tespit edilmiştir. Beyaz yumurtacılarda ise B alleli için en düşük frekans Brown ve D-229 hatlarında (0,000), en yüksek frekans Maroon hattında (0,219) belirlenmiştir.

Li ve ark. (2008) Wenchang tavuklarında IGF-I geni için AA genotipinin frekansını 0,32, AB genotipinin frekansını 0,41 ve BB genotipinin frekansını 0,27 olarak bildirmiştir. A ve B allel frekanslarının ise sırasıyla 0,53 ve 0,47 olduğu bildirilmiştir. Kahadem ve ark. (2010) Mazandaran tavuklarında yaptıkları çalışmada IGF-I geninde AA, AB, BB genotiplerinin frekansını sırasıyla 0,18, 0,42 ve 0,40 olarak bildirmiştir. Abbasi ve Kazemi (2011) Mazandaran tavuklarında yaptıkları çalışmada IGF-I geninde AA, AB ve BB genotiplerinin frekansını sırasıyla 0,26, 0,50 ve 0,24 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada A allelinin frekansını 0,51 ve B allelini frekansını 0,49 olarak bildirilmiştir. Vu ve Ngu (2016) Vietnam Noi tavuklarında IGF-I geninde AA, AB ve BB genotiplerinin frekansını sırasıyla 0,06, 0,29 ve 0,65 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar A allelinin frekansını 0,21 ve B allelinin frekansını 0,81 olarak bildirmiştir.

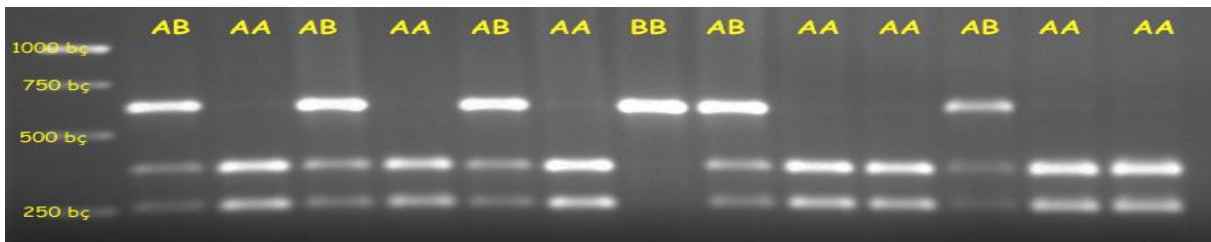
Bu çalışmada kahverengi ve beyaz yumurtacılarda IGF-I genindeki allel ve genotip frekansları literatürde değişik tavuk ırklarında bildirilen değerler ile karşılaştırıldığında özellikle beyaz yumurtacılarda AA genotip ve A allel frekanslarının yüksek olduğu görülmektedir. Benzer şekilde kahverengi yumurtacılardan RIRI, RIRII ve L-54 hatlarında AA genotipi ve A allelinin frekansını literatürde bildirilen değerlerden yüksektir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan kahverengi ve beyaz yumurtacı hatlar karşılaştırıldığında beyaz yumurtacılarda A allelinin kahverengi yumurtacılara göre daha fazla olduğu görülmektedir.

Li ve ark., (2009) IGF-I geni için AA genotipini taşıyan hayvanların diğer genotipleri taşıyanlara göre 300 ve 400 günlük yumurta veriminin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda AA genotip frekansının literatürde bildirilen değerlerin çoğundan yüksek çıkmasının altında yatan temel neden bu hatlarda yumurta verimi ve kalitesi ile ilgili çeşitli kriterler için uzun yıllardır uygulanan seleksiyon işlemi olabilir. Ayrıca literatürde bildirilen çalışmalar çoğunlukla yerli ırklar ile

yapılan çalışmalardır. Bu çalışmada kullanılan tavuk hatları Rhode Island Red, Plymouth Rock ve Leghorn gibi yumurtacı hatlardan elde edildiği düşünülürse AA genotip frekanslarının yüksek olması beklenebilir. Beyaz ve kahverengi yumurtacılar arasındaki farklılığın altında yatan nedenin ise genetik alt yapıdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan kahverengi yumurtacılardan RIRI ve RIRII Rhode Island Red ırkıdan BARI, BARI ve COL hatları ise Plymouth Rock ırkıdan elde edilmiştir. Beyaz yumurtacıların genetik kökeni ise Beyaz Leghorn'lardır. Beyaz yumurtacı saf hatların canlı ağırlıkları kahverengi yumurtacılara daha az olmakla beraber yumurta verimleri biraz daha fazladır.

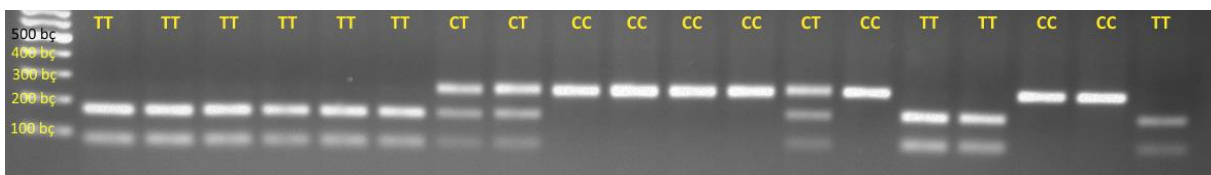
Çalışmada NPY geninde kahverengi yumurtacılarda TT genotipinin frekansını 0,000 (L-54) ile 0,969 (COL) arasında değişmiştir. Beyaz yumurtacılarda ise 0,128 (D-229) ile 1,000 (Maroon) aralığında değişmiştir. Kahverengi yumurtacılarda TC genotipinde en düşük genotip frekansını COL hattında (0,031) tespit edilirken en yüksek L-54 hattında (1,000) bulunmuştur. Beyaz yumurtacılarda Maroon hattında TC genotipi tespit edilemezken, en yüksek frekans D-229 hattında (0,538) belirlenmiştir. Kahverengi yumurtacılarda CC genotipinin frekansını 0,000 (RIRI, COL, L-54) ile 0,650 (BARI) aralığında değişirken, beyaz yumurtacı hatlarda 0,000 (Maroon) ile 0,342 (Blue) aralığında değişmiştir. NPY geni için T allelinin frekansını kahverengi yumurtacılarda 0,200 (BARI) ile 0,985 (COL) aralığında, beyaz yumurtacılarda ise 0,397 (D-229) ile 1,000 (Maroon) aralığında değişmiştir.

Benzer değerler değişik tavuk ırklarında çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Li ve ark. (2009) Wenchang tavuk ırkında NPY geni için TT genotipinin frekansını 0,29, TC genotipinin frekansını 0,50 ve CC genotipinin frekansını 0,21 olarak bildirmiştir. Fatemi ve ark. (2012) Mazandaran tavuk ırkında NPY geninde TT, TC ve CC genotiplerinin frekansını sırasıyla 0,664, 0,231 ve 0,105 olarak, T ve C allel frekanslarını ise 0,78 ve 0,22 olarak bildirmiştir. Ngu ve ark. (2015) Noi tavuklarında NPY geninde TT, TC ve CC genotiplerinin frekanslarını sırasıyla 0,36, 0,42 ve 0,22, T ve C allel frekanslarını ise 0,43 ve 0,57 olarak bulmuşlardır.



Şekil 1 IGF-I PCR ürünlerinin *PstI* restriksiyon enzimi ile kesim görüntüsü

(Marker: Thermo, 1 kb, Kat. No: SM0311; % 2'lik agaroz jel, Kesim büyüklükleri AA: 257-364 bp, AB: 257-364-621 bp, BB:621 bp)



Şekil 2 NPY PCR ürünlerinin *DraI* restriksiyon enzimi ile kesim görüntüsü

(Marker: Thermo, 100 bp, Kat. No: SM0241; % 2.5'lik agaroz jel, Kesim büyüklükleri TT: 81-167 bp, TC: 81-167-248 bp, CC: 248 bp)

Tablo 4 IGF-I ve NPY genleri için allel ve genotip frekansları

Hat	Gen	n	Gen frekansı		Genotip Frekansı			$\chi^2$	
			A	B	AA	AB	BB		
KY	RIRI	IGF	32	0,875	0,125	0,750	0,250	0,000	0,653 <sup>a</sup>
	RIRII	IGF	32	0,906	0,094	0,812	0,188	0,000	0,341 <sup>a</sup>
	BARI	IGF	37	0,473	0,527	0,298	0,351	0,351	3,225 <sup>a</sup>
	BARII	IGF	32	0,516	0,484	0,282	0,468	0,250	0,121 <sup>a</sup>
	COL	IGF	32	0,344	0,656	0,125	0,438	0,437	0,029 <sup>a</sup>
	L-54	IGF	35	0,785	0,215	0,571	0,429	0,000	2,591 <sup>a</sup>
BY	Black	IGF	39	0,949	0,051	0,898	0,102	0,000	0,115 <sup>a</sup>
	Brown	IGF	37	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	-
	Blue	IGF	40	0,962	0,038	0,925	0,075	0,000	0,060 <sup>a</sup>
	Maroon	IGF	32	0,781	0,219	0,625	0,312	0,063	0,234 <sup>a</sup>
	D-229	IGF	40	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	-
Hat	Gen	n	Gen Frekansı		Genotip Frekansı			$\chi^2$	
			T	C	TT	TC	CC		
KY	RIRI	NPY	32	0,890	0,110	0,781	0,219	0,000	0,478 <sup>a</sup>
	RIRII	NPY	32	0,438	0,562	0,250	0,375	0,375	1,813 <sup>a</sup>
	BARI	NPY	40	0,200	0,800	0,050	0,300	0,650	0,156 <sup>a</sup>
	BARII	NPY	32	0,359	0,641	0,187	0,344	0,469	2,057 <sup>a</sup>
	COL	NPY	32	0,985	0,015	0,969	0,031	0,000	0,011 <sup>a</sup>
	L-54	NPY	39	0,500	0,500	0,000	1,000	0,000	-
BY	Black	NPY	38	0,513	0,487	0,342	0,342	0,316	3,778 <sup>a</sup>
	Brown	NPY	39	0,923	0,077	0,872	0,102	0,026	3,004 <sup>a</sup>
	Blue	NPY	38	0,487	0,513	0,316	0,342	0,342	3,778 <sup>a</sup>
	Maroon	NPY	32	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	-
	D-229	NPY	39	0,397	0,603	0,128	0,538	0,334	0,602 <sup>a</sup>

BY: Beyaz yumurta, KY: Kahverengi yumurta,  $\chi^2_{0,05;1}$ : 3.84; a: Hardy-Weinberg dengesinden sapma önemsiz

Daha önceki çalışmalarda NPY geninde CC genotipini taşıyan bireylerin 300 günlük yumurta veriminin daha fazla olduğu (Li ve ark., 2009) ve TC genotipini taşıyan bireylerin cinsel olgunluğa ulaşma ağırlığının daha fazla olduğu (Fatemi ve ark., 2012) belirtilmiştir. Bu çalışmada kahverengi yumurtacılarından L-54 hattında tüm bireylerin TC genotipini taşıdığı tespit edilmiştir. L-54 sentetik bir hattır ve araştırmada kullanılan diğer hatlardan farklı olarak bu hatta canlı ağırlığı azaltmak için %15 Leghorn kanı katılmıştır (Göger ve Erdurmuş, 2003).

Bu çalışmada kullanılan saf hatlardan D-229 2010 yılında Çek Cumhuriyeti'nden diğer saf hatlar ise 1995 yılında Kanada'dan ithal edilmiştir. Bu saf hatlar Türkiye'ye getirilmeden öncede üzerlerinde seleksiyon uygulanmıştır (Karlı, 2015). Bu saf hatlar üzerinde uygulanan seleksiyon işlemi yaklaşık 70 yıldır devam etmesine karşın ilginç bir şekilde çalışılan genler bakımından polimorfik hatlarda Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenmemiştir.

Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü bünyesinde yetiştirilen kahverengi ve beyaz yumurtacı saf tavuk hatlarında IGF-I ve NPY genlerindeki polimorfizm ilk kez gösterilmiştir. IGF-I geni için kahverengi yumurtacılarında tüm hatlar, beyaz yumurtacılarında ise Black, Blue ve Maroon hatları polimorfiktir. NPY geni için ise kahverengi yumurtacılarında L-54 ve beyaz yumurtacılarında ise Maroon hattı dışındaki tüm hatlar polimorfiktir. Gerek IGF-I ve NPY genlerindeki gösterilen polimorfizm gerekse Hardy-Weinberg testinden elde edilen sonuçlar bundan sonra yapılacak ıslah çalışmaları için halen önemli potansiyel olduğunu göstermektedir. Bu hatlar üzerinde devam eden klasik

ıslah çalışmalarına ek olarak MAS çalışmaları genetik ilerleme ve seleksiyonda başarıyı artırabilir. Planlanacak MAS çalışmalarında IGF-I ve NPY genlerinden yararlanılabilir.

### Teşekkür

Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FBA-2015-756 proje numarası ile desteklenmiştir) ve kan örneklerinin sağlanmasındaki yardımlarından dolayı Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü çalışanlarına teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

- Abbasi HA, Kazemi M. 2011. Detection of polymorphism at the insulin like growth factor-I gene in Mazandaran native chicken using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. *Am J Anim Vet Sci.*, 6: 80–83.
- Abdi M, Seyedabadi H, Gorbani A. 2014. Prolactin and NPY gene polymorphism and its associations with production and reproductive traits in west-Azerbaijan native chicken. *Bull Env Pharmacol Life Sci.*, 3: 39-45.
- Anonim 2017. Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. "Tarihçe", Erişim Adresi: <http://arastirma.tarim.gov.tr/tavukculuk/Menu/48/Tarihce>. Son erişim tarihi: 3 Nisan 2017.
- Durmuş İ, Sarıca M, Aktan S, Yıldız T, Kahraman Z, Ertaş S. 2008. Geliştirilmekte olan yerli ticari yumurtacı hibritlerin verim özelliklerinin belirlenmesi. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 8: 15-19.

- Dunn IC, Miao YW, Morris A, Romanov MN, Wilson PW, Waddington. 2004. A study of association between genetic markers in candidate genes and reproductive traits in one generation of a commercial broiler breeder hen population. *Heredity*, 92: 128-134.
- Fatemi S, Mehrabani-yeganeh H, Nejati-javaremi, A, Niknafs S. 2012. Association of neuropeptide Y and gonadotrophin-releasing hormone receptor gene SNPs with breeding value for growth and egg production traits in Mazandaran native chickens. *Genet Mol Res.*, 11: 2539–2547.
- Göger H, Erdurmuş C. 2003. Kanada'dan ithal edilen saf hatların hat içi seleksiyonla üretilmesi. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Kanlı Yetiştiriciliği Değerlendirme ve Planlama Toplantısı, 2-4 Nisan, 201-266, (yayınlanmamış), Ankara.
- Karşlı T. 2015. Ankara tavukçuluk araştırma istasyonunda bulunan kahverengi yumurtacı saf hatlarda genetik varyasyonun mikrosatellit markerler kullanılarak belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 118s, Antalya.
- Khadem A, Hafezian H, Rahimi-Mianji G. 2010. Association of single nucleotide polymorphisms in IGFI, IGF-II and IGFBP-II with production traits in breeder hens of Mazandaran native fowls breeding station. *Afr J Biotechnol.*, 9: 805-810.
- Li H, Zhu W, Chen K, Wu X, Tang Q, Gao Y. 2008. Associations between GHR and IGF-1 Gene polymorphisms, and reproductive traits in Wenchang Chickens. *Turk J Vet Anim Sci.*, 32: 281-285.
- Li HF, Zhu WQ, Chen KW, Wu X, Tang QP, Gao YS, Song WT, Xu HL. 2009. Polymorphism in NPY and IGF-I genes associate with reproductive traits in Wenchang chicken. *Afr J Biotechnol.*, 8: 4744-4748.
- Li H, Zhu W, Chen K, Song W, Shu J, Han W. 2010. Effects of the polymorphisms of GHR gene and IGF-1 gene on egg quality in Wenchang chicken. *Res J Poult Sci*, 3: 19-22.
- Li DY, Zhang L, Smith DG, Xu HL, Liu YP, Zhao XL, Wang Y, Zhu Q. 2013. Genetic effects of melatonin receptor genes on chicken reproductive traits. *Czech J Anim Sci.*, 58: 58–64.
- Miller S, Dykes D, Plesky HA. 1988. Simple salting out procedure for extracting DNA from human cells. *Nucleic Acids Res.*, 16: 1215.
- Ngu NT, Xuan NH, Vu CT, An NT, Dung TN, Nhan NTH. 2015. Effects of genetic polymorphisms on egg production in indigenous Noi chicken. *JEBAS.*, 3: 487 – 493.
- Uemoto Y, Suzuki C, Sato S, Ohtake T, Sasaki O, Takahashi H, Kobayashi E. 2009. Polymorphism of the ovocalyxin-32 gene and its association with egg production traits in the chicken. *Poult Sci.*, 88: 2512–2517.
- Vu CT, Ngu NT. 2016. Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with egg production traits in native Noi chicken of Vietnam. *Int J Pl An and Env Sci.*, 6: 162-169.
- Xu W, Hui-fang L, Mei-jiao Y, Qing-ping T, Kuan-wei C, Jin-yu C, Yu-shi G, Yun-jie Y, Wen-qi Z. 2007. Associations of gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) and neuropeptide Y (NPY) genes' polymorphisms with egg-laying traits in Wenchang chicken. *Agr Sci China.*, 6: 499-504.
- Xu HP, Shen X, Zhou, M, Fang M, Zeng H, Nie Q, Zhang X. 2010. The genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on chicken egg production and broodiness traits. *BMC Genet.*, 11: 1-10.
- Xu HP, Zeng H, Zhang DX, Jia XL, Luo CL, Fang MX, Nie QH, Zhang QX. 2011. Polymorphisms associated with egg number at 300 days of age in chickens. *Genet Mol Res.*, 10: 2279-2289.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX. 1997. "POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis". Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
- Zhou M, Du Y, Nie Q, Liang Y, Luo C, Zeng H, Zhang X. 2010. Associations between polymorphisms in the chicken VIP gene, egg production and broody traits. *Br Poult Sci.*, 51: 195-203.