

TEORİ VE UYGULAMADA VETERİNERLİK KONULARI

Editör: Doç. Dr. Mehmet YARDIMCI



TEORİ VE UYGULAMADA VETERİNERLİK KONULARI

Editör

Doç. Dr. Mehmet YARDIMCI

yaz
yayınları

2023

**TEORİ VE UYGULAMADA
VETERİNERLİK KONULARI**

Editor: Doç. Dr. Mehmet YARDIMCI

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayımlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-6524-79-8

Aralık 2023 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

İÇİNDEKİLER

SNP Çipler, Mitokondriyal DNA Markırları ve Genom Çapında Yapılan Analizlerle Hayvan Islahında Yaşanan Değişim ve Gelişim	1
--	----------

Mehmet YARDIMCI

Sığır Mastitisleri ve Mastitis Faktörleri.....	21
---	-----------

Derya OKUYAN, İlhan GÖKGÖZOĞLU

Çiftlik Hayvanlarında Ovulasyon Oranı ve İkizlik Oranını Kontrol Eden Genlerin Belirlenmesi	39
--	-----------

Özden ÇOBANOĞLU

Anatomy of the Articulatio Genus in Animals	71
--	-----------

Semine DALGA

SNP ÇİPLER, MİTOKONDRIYAL DNA MARKIRLARI VE GENOM ÇAPINDA YAPILAN ANALİZLERLE HAYVAN ISLAHINDA YAŞANAN DEĞİŞİM VE GELİŞİM

Mehmet YARDIMCI¹

1. GİRİŞ

Geleneksel hayvan ıslahı, istenilen genotipe sahip hayvanların seçimi ve damızlık değerlerinin belirlenmesi amacıyla hayvanların gözlemlenen fenotiplerine göre puanlanmasına dayanır. Bu fenotipik değerlendirmeye dayalı damızlık seçimi, zaman alması, uygulama güçlüğü ve nicel özellikler için genellikle doğru olmayan tahminleri içermesi bakımından tatmin edici bulunmamaktadır. Döl verimi, süt verimi, et kalitesi ve hastalıklara dayanıklılık gibi özellikler gençvre etkileşimlerinin ürünleri olduğu için bu kantitatif özelliklerin doğru tahmin edilmesi zordur. Ayrıca bu özellikler hayvan erginliğe ulaştıktan sonra ortaya çıktığı için tahmin sonuçlarının doğrulanmasında ciddi bir zaman kaybı olur (Goddard and Hayes, 2009). Bu nedenle üzerinde durulan özellik ile ilişkili genetik markırların taranması için hayvanlarda QTL'lerin (quantitative trait locus), SNP'lerin (single nucleotide polymorphism), InDel'in (insertion-deletion) tanımlanmasına yönelik genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, doğrudan markır seçimi ve transkriptomik analiz dahil olmak üzere çeşitli yaklaşımlar üzerinde durulmaktadır (Huang ve ark., 2023). Moleküler markırlar, popülasyon içi ve popülasyonlar arasındaki

¹ Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, dr.yardimci@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5650-437X.

genetik çeşitliliğin belirlenmesi, pedigrı verilerinin yeniden oluşturulması, etkili popülasyon büyüklüğünün ölçülmesi, karışık popülasyonlarının tanımlanması ve popülasyon genetiğinde geçmişin değerlendirilmesi açısından önemlidir (Gündüz ve ark., 2016).

Bir bireyin genomundaki varyasyonları tespit etmek için kullanılan markırlar morfolojik, protein ve DNA olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Morfolojik markırlar, bir bireyin dış görünüşüne ilişkin özelliklerdir. Bu özellikler, basit Mendel kalıtımı gösteren özelliklerdir. Allel sayılarının nispeten az olmasından dolayı kullanımları kısıtlıdır. Protein markırları, moleküler büyüklük ve amino asit bileşimi farklılıklardan dolayı jel elektroforez yöntemi kullanılarak kolaylıkla ortaya çıkarılabilir ve genetik markır olarak kullanılabilirler. Kan antijenleri ve izoenzim markırları, genetik çalışmalarda ilk zamanlarda yaygın olarak kullanılmıştır. DNA markırları ise bir tür içerisindeki farklı bireylerde dizi polimorfizmi gösteren DNA bölgeleridir ve bir bireyin genomundaki varyasyonları ifade eder. DNA markırları, morfolojik ve protein markırlarına göre daha yüksek alel sayısına sahiptir ve daha doğru sonuçlar verir. Ayrıca, DNA markırları, kan veya doku örnekleri kullanılarak elde edilebilir. Analizleri daha hızlı ve kolaydır (Özşensoy ve Kurar, 2012).

2. GENOMİK SELEKSİYONUN AVANTAJLARI

Genomik seleksiyon, hayvanların damızlık değerinin, onların veya yakın akrabalarının fenotipleri hakkında bilgi olmaksızın yoğun bir kromozom haritası yardımıyla doğru bir şekilde tahmin edilebildiği bir markır destekli seçim türüdür (Rabier ve ark., 2016).

DNA düzeyindeki araştırmalarda, genomdaki tek nükleotid değişimlerini (SNP'ler) ve mutasyonları tespit etmek için dizi analizi (sekanslama) kullanılır. Dizi analizi, gen yapısı

ve kontrol mekanizmaları hakkında merak edilen birçok bilgiyi sunan temel bir tekniktir (Ata, 2019). SNP, bir türün genomu içindeki tek bir lokasyondaki nükleotiddeki değişiklik yoluyla meydana gelen bir DNA dizisi varyasyonudur. SNP'nin genellikle yalnızca iki aleli vardır. SNP genom boyunca meydana gelebilir ve nötr veya fonksiyonel genetik çeşitliliği temsil edebilir. Bu bağlamda genomik seleksiyon, hayvanlarda tahmini damızlık değerini uygun maliyetle ve doğru şekilde belirlemesine ve ebeveynlerin genetik değere göre sıralamasına olanak tanıırken düşük kalıtım derecesine sahip, tek cinsiyette, yaşamın geç dönemlerinde veya kesimden sonra tespit edilebilen özelliklerin geliştirilmesinde kolaylıklar sağlar (Caetano, 2009; Koopae ve Koshkoiyeh, 2014).

Genomik seleksiyon (GS), genom boyunca dağılmış çok sayıda genetik markırın (çoğunlukla SNP), nicel özellik lokuslarıyla (QTL) ilişkili genomik bölgelerle bağlantı içinde olduğu bir markır destekli seçim türüdür (Carracelas ve ark., 2022). Markırlar genel olarak genomun özgün bir bölgesini tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Genomik seleksiyonda, hayvanların SNP markır dizileri üzerinden genotipleri kullanılarak damızlık değerleri tahmin edilmektedir. SNP'ler kalıtsaldır ve popülasyonlarda yaygın olarak bulunur. Damızlık değer, bir hayvanın belirli bir karakter için gelecekteki performansının bir ölçüsü olduğundan yüksek sayıda genetik markır, bir hayvanın damızlık değerini tahmin eden genomik bir tahmin formülünde girdi olarak kullanılır. Bu tahmin için referans popülasyonu olarak adlandırılan bir dizi genotip ve fenotiplenmiş hayvan kullanılır (Pszczola ve ark., 2012).

SNP çipler ile tek nükleotid polimorfizmlerine dayanan genom çapında ilişkilendirme, farklı hayvan ırklarında ekonomik açıdan önemli özelliklerle ilişkili lokusları belirlemesi (Sharma et al., 2015) ve hayvanları genomik değerlerine göre değerlendirme ve seçme işlemlerine tabi tutulmasına olanak vermesi nedeniyle

ıslah için avantajlı bir yöntemdir (Caetano, 2009; Neumann ve ark., 2021). Hayvan seçimi çok erken yaşlarda yapılabileceği gibi embriyolara bile uygulanabilmektedir. Böylece genomik seçim, generasyon aralığını kısaltarak verimliliği arttırabilmektedir. Ayrıca referans popülasyonunun büyüklüğünün arttırılmasıyla seçim yoğunluğu da artabilmektedir (Ibtisham ve ark., 2017)

Günümüzde birçok hayvan türü için ayrı ayrı SNP çipler bulunduğu ve yukarıda dile getirilen avantajlara ek olarak esneklik, hız, maliyet-düşüklüğü, hayvanların genetik yapısının daha kapsamlı ve doğru bir şekilde anlaşılmasını sağlaması, tahmin doğruluğunu artırması ve çiftlikte üreme kalitesini artırması gibi nedenlerle yetiştiriciler seleksiyonda geleneksel yöntem yerine genomik seleksiyonu tercih etmektedir (Huang ve ark., 2015).

Genetik markırlar, izlenebilirlik sisteminin kurulması, hayvancılık üretiminde ekonomik açıdan önemli özellikleri etkileyen lokusların bulunduğu kromozomal bölgelerin tanınmasıyla genetik ıslah için yararlı bir tanımlama aracı taşırlar (Fontanesi, 2009). Ancak sürünün genetik kompozisyonu başarılı bir seçim için önemlidir. Örneğin, akrabalıktaki artış, bazı özellikler için fenotipik değerlerde azalma, genetik varyans ve homozigot genotip sıklığında artış gibi çeşitli olumsuz etkilere yol açabilir (Scienski et al., 2019).

3. ESKİ VE YENİ TİP MOLEKÜLER MARKIRLAR

Genotipleme tekniklerinin seçimi, ihtiyaç duyulan genetik bilginin miktarı (genetik markırların sayısı) ve türü (kesinliği), kohortun boyutu (birey sayısı), mevcut hesaplama kapasitesi (ön işleme, son işleme) ve finansal sınırlamalar gibi parametrelere bağlıdır (Kockum ve ark., 2023).

Eski tip moleküler markırlar, yakın zaman kadar genetik çeşitliliği belirlemek, paternite analizi ve diğer moleküler genetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmıştır. Günümüzde ise genetik varyasyonları tanımlamak için genomun herhangi bir bölgesindeki tek nükleotid dizilim farklılıkları anlamına gelen tek nükleotid polimorfizmleri üzerine odaklanılmıştır (Gündüz ve ark., 2016).

Poligenik kalıtım, büyüme, gelişme, süt verimi, et verimi, döl verimi ve hastalıklara direnç gibi özelliklerin oluşumunda birden fazla gen birbiriyle etkileşime girerek özelliğin ortaya çıkmasını sağlar. Bu süreçte bir özelliğin oluşumunda diğer genlerden daha fazla etkili olan majör genlerden yararlanılarak, ıslah programlarında verim özelliklerinin geliştirilmesi üzerinde çalışılmaktadır. Major genlere yönelik ayrıntılı moleküler genetik analizler sonucunda bunların allelleri arasındaki farkların genelde tek nükleotid farklılıklarına dayandığı ortaya konmuştur. Bu bilgi, ıslah programlarında yararlanılarak verim özelliklerinin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Örneğin, süt verimi üzerine etkili olan major genlerin belirlenmesiyle, süt verimi yüksek hayvanlardan elde edilen embriyoların transferi yoluyla süt verimi yüksek hayvanlar yetiştirilebilir. Major genlerin allelleri arasındaki farklar, genellikle SNP'lere dayanır. Tek nükleotid farklılıkları (SNP'ler), DNA'nın belirli bir yerindeki iki nükleotid arasındaki farklılıklar olup genetik çeşitliliğin önemli bir kaynağıdır. PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphisms) yöntemi, SNP'leri belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde, DNA'nın belirli bir bölgesi PCR yöntemiyle çoğaltılır. Daha sonra, bu çoğaltılmış DNA'ya restriksiyon enzimleri eklenir. Restriksiyon enzimleri, DNA'yı belirli dizilerde keser. Kesilen DNA parçalarının boyutları, SNP'lere göre farklılık gösterir. Bu farklılıklar, elektroforez yöntemiyle belirlenerek SNP'ler tespit edilir (Cemal, 2014).

Kısaca tekniğin gelişim sürecine bakıldığında insan genom projesi ve diğer türler için ilgili projelerin birçok hayvan, bitki ve mikrobiyal genomun tam DNA dizisini oluşturmaya alt yapı oluşturduğu görülmektedir. Bu çabalarının önemli bir sonucu olarak farklı türler için milyonlarca SNP markırı tespit edilmiştir. Tüm bu SNP'lerin mevcudiyeti ve yüksek verimli SNP çipli genotipleme teknolojisindeki son yenilikler, devasa SNP panellerinin rutin şekilde genotiplemesini mümkün kılmıştır. Örneğin, insan genetiğinde 500000'den fazla SNP içeren testler rutin olarak kullanılırken, sığırlarda, domuzlarda ve koyunlarda yaklaşık olarak 50000 SNP çip ticari olarak temin edilebilir durumdadır (Meuwissen, 2009).

4. SNP ÇİPLERİN ÇALIŞMA PRENSİBİ

SNP çipler hayvanlarda arzu edilen özelliklerle ilişkili spesifik DNA dizilerini tanımlayarak çalışır. SNP çipler, çiftlik hayvanlarının genomlarında bulunan tek nükleotid polimorfizmlerini tespit etmek için kullanılan bir tekniktir. SNP'ler, DNA'daki tek bir nükleotidin (A, T, G veya C) başka bir nükleotid ile değişimidir ve genom boyunca rastgele dağılmış olsa da bazı karakterlerle ilişkili olan belirli bölgelerde kümelenirler. Bunlar genom dizisindeki adenin, timin, sitozin veya guanin değiştiğinde ortaya çıkan DNA dizisi varyasyonlarıdır. SNP çipler, genom boyunca dağıtılmış binlerce önceden seçilmiş SNP markırı içerir. SNP markırlarının avantajları arasında birçoğunun, DNA'nın kodlama alanında bulunması nedeniyle protein fonksiyonunu doğrudan etkilemesi, yüksek verimli genetik analiz için mikrosatellitlerden daha uygun olması, diğer DNA markırlarına göre stabil şekilde kalıtsal olması (bu da onları uzun vadeli seçim markırları olarak daha uygun kılar) ve yaygın olmaları ve ilgi odağı yakınında diğer

polimorfizm türlerine göre daha fazla potansiyel markır sağlaması sayılabilir (Choi, 2018; Koopae et al., 2014).

Bu yöndeki çalışmalarla aynı tür içinde birden fazla bireyin genom diziliminin çıkartılıp karşılaştırılması ile SNP farklılıkları ortaya konmuştur. Ardından bu SNP farklılıklarının belirlenmesine yönelik mikroarray çiplerin kullanıma girmesi ile birlikte aynı anda bir bireyde o türün genoma yayılmış onbinlerce ve hatta milyonlarca SNP'ye yönelik genotipi kısa sürede belirlemek mümkün olmuştur (Cemal, 2014).

5. SNP ÇİPLERİN HAYVANCILIKTA KULLANIM ALANLARI

Genomik seleksiyon için ilgili genler veya gen bölgeleri tanımlanır. Bu genler veya gen bölgeleri için markırlar geliştirilir. SNP markırların kullanımı için genel veri tabanından ilgilenilen özelliklere sahip popülasyondan fenotipik farklılıklara ve genetik geçmişe dayanarak, aday SNP'ler seçilir. Daha sonra, SNP markırları için birincil seçim yapılır. İkinci seçim adımında, ilişkilendirme analizi sırasında birincil seçimden doğrulanan SNP markırları kullanılır (Huang et al., 2015).

Bir SNP, DNA dizisindeki belirli bir lokustaki tek bir nükleotid mutasyonunun neden olduğu dizi polimorfizmidir. SNP'ler ekzonlarda, intronlarda, promoterlerde, güçlendiricilerde ve intergenik bölgelerde bulunur ve temel olarak geçişlerden ve dönüşümlerden oluşur. Geçişlerde, bir pürin diğer pürinle ($A \rightleftharpoons G$) değiştirilirken, ters sarmalda bir pirimidin diğer pirimidinle ($C \rightleftharpoons T$) değiştirilir. Genomda geçiş ve dönüşümlerin oluşumları eşit değildir. Kodlama bölgelerindeki SNP'ler, amino asit dizilerinin değişmesine veya translasyonun erken sonlanmasına yol açabildiğinden ve dolayısıyla gen fonksiyonunu etkileyebildiğinden, eğer değiştirilmiş gen

fonksiyonu veya değiştirilmiş fenotip önemliyse, bu fonksiyonel SNP'ler değerli markırlar haline gelir (Vijayan, 2009).

Bir bireyin DNA'sı çıkarılır, işlenir ve SNP çipine hibritlenir. Çip daha sonra her bir SNP markırının varlığını veya yokluğunu ölçerek çeşitli analizler için kullanılabilecek bir genetik profil sağlar. Böylece genetik çeşitlilik, popülasyon yapısı, kantitatif özellik lokusları (QTL), markır destekli seleksiyon (MAS) çalışmalarında, ailesel ilişkilerin araştırılmasında, hayvanlarda çeşitli hastalıklarla ilişkili genetik varyantları tanımlamak için kullanılabilir (Huang ve ark., 2015).

SNP'ler hayvanların daha verimli, sağlıklı veya üretken hale getirilmesine yardımcı olmak için kullanılabilir (Say ve Altun, 2021). SNP çipler, babalığı belirlemek için oldukça doğru ve güvenilir bir yöntem sunar. Bu, hayvan yetiştirme programları ve soy kütüğü yönetimi için çok önemlidir.

Yukarıda verilen bilgiler ışığında SNP çiplerin, çeşitli hayvan türleri için ayrıntılı genetik haritaların oluşturulmasında, önemli özelliklerle ilişkili genlerin ve kantitatif özellik lokuslarının tanımlanmasında kullanılabildiği ifade edilebilir. Bu bilgi, karmaşık özelliklerin genetik temelini anlamanın ve marker yardımcı seleksiyon stratejileri geliştirmenin yanı sıra türlerin korunmasına yardımcı olacak programlar geliştirmek için bilimsel öneme sahiptir.

6. MITOKONDRIYAL GENOM POLİMORFİZMİ

Bir genomun organizmanın fenotipik özelliklerini nasıl yönlendirdiğini anlamak, modern moleküler genetiğin en önemli bilimsel hedeflerinden biridir. Bu hedefe ulaşmada tanımlanmış biyolojik olayların genetik temelini haritalandırmak için fenotipik özellikleri kullanan ileri genetik çalışmalar ile belirli bir genetik

unsuru değiştirmenin fenotipik etkilerini analiz eden çalışmaların bir kombinasyonu kolaylık sağlar (Klucnika and Ma, 2019).

Genetik bilgi olarak hayvan DNA'sının büyük bir kısmı (yaklaşık 3,3x10⁹ baz çifti) hücre çekirdeğindeki kromozomlarda depolanır. Ancak DNA'nın küçük bir kısmı mitokondri kromozomlarında, çekirdeğin dışında, sitozolde bulunur. Dairesel mitokondriyal genom da nükleer genom gibi çift sarmallı DNA'dan oluşur. Yaklaşık 16.500 baz çiftinden oluşur ve ökaryotik organizmalarda yarı otonom, eşeysiz olarak üreyen bir genomdur (Gsprdy, 2021). MtDNA molekülü, haploid kromozom seti ile karşılaştırıldığında çok küçük olduğundan, "genom" terimi genellikle genelleştirilir ve nükleer DNA'yı ifade eder (Slaska ve ark, 2014).

Nükleer markırlar, bir organizmanın çekirdeğindeki DNA'yı temsil eder. Bu markırlar, genomun herhangi bir yerinde bulunabilir ve bir dizi farklı özellik hakkında bilgi sağlayabilir. Örneğin, nükleer markırlar, bir organizmanın ebeveynlerini, akrabalarını ve diğer popülasyonlarla olan ilişkilerini belirlemek için kullanılabilir. Mitokondriyal DNA markırları ise mitokondriyal DNA'yı temsil eder. Mitokondriyal DNA, nükleer DNA'dan farklıdır çünkü sadece anne yoluyla kalıtılır. Bu, mitokondriyal DNA markırlarını, bir popülasyonun ana hattı soyağacını oluşturmak için ideal hale getirir. Bunun yanı sıra mitokondriyal DNA (mtDNA), hayvan popülasyon genetiğinde popülasyon yapısını analiz etmek ve filogenetik ilişkileri yeniden yapılandırmak için bir markır olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bir markır olarak, nükleer DNA ile karşılaştırıldığında mtDNA'nın benzersiz özelliklerinden bazıları, yüksek oranda nükleotid değişimi ve rekombinasyonun çok az olması veya hiç olmamasıdır (Consuegra et al., 2015).

Mitokondrial genom küçük (16,34 kb), dairesel ve haploid olup, rekombinasyona uğramaz ve anneden kalıtım yoluyla alınır

(Dorji et al, 2022). Bu nedenle, mtDNA'daki varyasyonlar, maternal hatlar arasında süt verimi ve döl verimi gibi özelliklerde farklılıklara neden olabilir (Özdemir ve Doğru, 2007). Bu yönde yapılan çalışmalar, süt verimi ve sütün bileşenleri gibi özelliklerde maternal hattın etkisinin farklı oranlarda olduğunu göstermektedir. Bu durum bazı maternal hatların bu özelliklerde diğerlerinden daha iyi olduğunu göstermektedir. MtDNA canlı vücudunda bol miktarda bulunur ve saç, kan ve kas gibi çeşitli dokulardan kolayca çıkarılabilir. Bu da onu analiz için kolayca erişilebilir kılar (Huang ve ark., 2023).

Mitokondrial DNA'nın mutasyon hızı yüksektir. Bu nedenle, mitokondrial DNA'da çok çeşitli varyasyonlar bulunur. Bu varyasyonlar, verim özellikleri ile ilişkili polimorfik markırların belirlenmesine yardımcı olur. Polimorfik markırlar, DNA segmentiyle bir sonraki jenerasyona aktarılan ve ilgili gen içinde veya o gene çok yakın bir bölgede bulunan varyasyonlardır. Bu markırların tespiti, moleküler yöntemler ile yapılabilir. Tespit edilen markırların verim varyansı üzerine etkileri, analizlerle ortaya konulabilir (Özdemir ve Doğru, 2007).

MtDNA haplotipleri, uzun zaman içinde genomda varlığını sürdüren tek nükleotid polimorfizm kümelerini temsil eder. Mitokondriyal genomun fenotipin belirlenmesinde rol oynadığına ve dolayısıyla damızlık değerlerini artırmak için genetik seçimde faydalı olabileceğine dair kanıtlar artmaktadır. MtDNA oldukça polimorfiktir. Kromozomal DNA ile karşılaştırıldığında 10 kat daha hızlı meydana gelen yüksek mutasyon oranından kaynaklanmaktadır ve bu, onu filogenetik çalışmalar için ideal bir araç haline getirmektedir (Tsai ve St. John, 2016).

7. GENOM ÇAPINDA İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARI

İlgilenilen bir fenotiple genetik yapı arasında bir ilişki bulma başarısını birçok faktör etkileyebilir. Her fenotipteki hayvan sayısı ve fenotiplerin bireylere aktarılma oranı bu faktörlerden bazılarıdır. Yeni mutasyonlar genellikle tek bir bireyde başlar ve onun yavruları arasında dağılır (ayrılır). Bu gibi durumlarda, baba-aile modellerinin aksine bireysel analizlerinin gerçekleştirilmesi avantajlı olur. Yüksek verimli hayvanlarla ilişkili yeni genlerin tanımlanması, çok sayıda mutasyonların ve fenotiplerin ortaya çıkarılmasına ve sürülerde daha üretken hayvanların seçilmesine yardımcı olur. Bu da gelecekte sürünün sonraki nesillerinin parçası olacak ilgi konusu genotipe sahip bir hayvanı seçmenin daha kolay olacağı anlamına gelir (Benavides ve ark., 2018).

Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları-GWAS (Genome-Wide Association Studies), verim özellikleriyle ilişkili genlerin ifadesine dayanarak bireylerin genetik yapısını tespit etmeyi amaçlamaktadır. Moleküler markırlar olarak da bilinen, genetik olarak ilişkili bireylerin genomlarında mevcut varyasyonlara dayanmaktadır ve fenotipi etkileyen QTL'lerin tanımlanmasında en çok SNP'ler kullanılır. GWAS analizleri, karmaşık ve poligenik özelliklerle ilişkili niceliksel ve niteliksel özellik lokuslarının ilişkisini araştırır (Barbosa ve ark., 2023). GWAS'ta, SNP'lerin etki ve doğruluğun tahmin edilmesindeki başarı, diğer faktörlerin yanı sıra, genellikle fenotipik varyanstan sorumlu nedensel mutasyonlar hakkındaki bilgi eksikliği nedeniyle markırlar ve QTL'ler arasındaki bağlantı dengesizliği (LD-linkage disequilibrium) ile ilişkilidir. Böylece, markır ile mutasyon arasındaki LD seviyesi markırın varyansını yakalayabilir. Fenotiplerle birlikte genotipler, DNA polimorfizmini ve belirli bir özellik ile ilişkili genleri göstererek bir hayvanın performansını etkileyen potansiyel kantitatif özellik

lokuslarını (QTL) tespit etmek amacıyla Genom Genelinde İlişkilendirme Çalışması (GWAS) kullanılır. GWAS'da testlerin sayısı genotiplendirilmiş bağımsız SNP'lerin sayısına eşittir. Bu sayı genellikle çiftlik hayvanlarında binlerce ve insan genetiğinde yüzbinlercedir (Kaseja ve ark., 2023; Meuwissen ve ark., 2016). Etkili popülasyon büyüklüğü, özelliğin kalıtsallığı, popülasyonun genetik yapısı ve fenotipi ve genotipi tanımlı hayvanların sayısı gibi diğer faktörler de QTL'lerin tespit gücünü ve tahmin doğruluğunu etkiler (Van Den Berg ve ark., 2013).

GWAS, araştırılan özellikler için konumsal aday genleri tanımlamak amacıyla, denemelerin her birinde yaklaşık 1000 veya daha fazla bireyden elde edilen genomların tamamına dağıtılmış tüm tespit edilen markırları kontrol gruplarına göre değerlendirir. Dolayısıyla GWAS, incelenen özelliklerin nedensel mutasyonlarını yakalamak için kullanılacak aday genlerin belirlenmesine yardımcı olur. GWAS, bir özellik ile ilişkili olan SNP'leri ve DNA'daki diğer varyantları tanımlar; ancak nedensel genleri tek başına belirleyemez. İncelenen özellik ile hangi varyantların önemli ölçüde ilişkili olduğunu belirlemek için bireylerde tespit edilebilir ortak genetik varyantların (SNP'ler, indeller) incelenmesi ve taranmasına yönelik bir süreç olan GWAS, değiştirilmiş özelliklere sahip bireylerin (örn. hastalığa duyarlı, zayıf üretim, üreme veya büyüme parametreleri) DNA profillerini kontrol olanlarla (sağlıklı veya normal parametrelere sahip olanlar) karşılaştırır. Bireylerin her birinden alınan DNA örneği, herhangi bir grupta daha yaygın olan spesifik SNP'lerin tespiti için mikrodizi analizine (veya NGS ve ardından in silico analizine) tabi tutulur. İlgili SNP'ler genom üzerinde bir bölgeyi işaretler. Bu tür çalışmalara 1000'den fazla denek dahil edilir çünkü SNP'ler ile nedensel değişkenler arasındaki ilişkiler genellikle düşük ($<1,5$) olasılık oranları gösterir. Ayrıca, daha büyük örneklem büyüklüğü testin gücünü artırarak çoklu test düzeltmelerini geçebilmesini sağlar (Mukhopadhyay ve Kumar,

2015). Böylece yüksek yoğunluklu tek nükleotid polimorfizmi markırlarının kullanıldığı genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, örneğin süt ve besi sığırı popülasyonlarındaki karmaşık özelliklerin genetik temelini belirlenmesine olanak tanımış (Bhuiyan ve ark., 2018) ve benzersiz markırların keşfedilmesinde veya farklı ortamlardaki hayvanlar için mevcut SNP markırlarının doğrulanmasını sağlamış olur (Adhikari ve ark., 2023).

8. SONUÇ

Hayvancılıktan elde edilen yüksek değerli protein, lipid ve mikro besin maddelerine olan talep, dünya nüfusunun gelişmesiyle birlikte artmaktadır. Bu nedenle, artan gıda talebini karşılamak için daha verimli ve hızlı sonuç verecek hayvan ıslah yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyacın karşılanması için son yıllarda kullanılan genetik markırlarla ıslah yöntemlerinden olumlu sonuçlar alınmaktadır. Bu nedenle damızlık olarak kullanılacak hayvanların damızlık değerinin tüm genomu kapsayan markırlardan tahmin edilebildiği yeni yaklaşım, geleneksel seleksiyon yöntemlerine alternatif olarak yaygın şekilde kabul görmekte ve genomik seleksiyona geçiş sürecinin yaşandığı ıslah anlayışının zaman içinde daha fazla moleküler genetik bilgiler temelinde ilerleyeceğine yönelik işaretler artmaktadır. Yapılacak çalışmalarla yeni özelliklerin geliştirilmesi, hayvanların çevresel strese daha iyi uyum sağlaması, hayvancılık endüstrisini daha verimli ve sürdürülebilir hale getirilmesi mümkün görülmektedir. Bu bağlamda markır temelinde yapılan ıslah yöntemlerinin gelecekte hayvan refahını ve küresel gıda üretimini iyileştirmek için önemli bir hayvancılık stratejisi haline gelmesi öngörülebilir. Bu yöntemlerin kullanımı, hayvancılıkta önemli bir verimlilik ve kalite artışı potansiyeline sahiptir. Bu teknolojilerin kullanımının yaygınlaşmasıyla,

hayvancılık sektöründe daha rekabetçi ve sürdürülebilir bir üretim gerçekleştirilmesi mümkün olacaktır. Bu teknolojiler, yetiştiricilerin hayvanlarının genetik özelliklerini daha doğru bir şekilde belirlenmesini, istenen özelliklerin daha hızlı bir şekilde geliştirilmesini, daha verimli bir şekilde seleksiyon yapılmasını ve istenen özelliklerin geliştirmesini sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Adhikari, M, Kantar, MB, Longman, RJ, Lee, CN, Oshiro, M, Caires, K, He, Y. (2023) Genome-wide association study for carcass weight in pasture-finished beef cattle in Hawai'i. *Frontiers in Genetics*, 14:1168150.
- Ajmone-Marsan, P, Boettcher, PJ, Colli, L, Ginja, C, Kantanen J, & Lenstra, JA, eds. (2023) Genomic characterization of animal genetic resources-Practical guide. FAO Animal Production and Health Guidelines No. 32. Rome.
- Ata, N. (2019) Türkiye yerli koyun ırklarında mitokondriyal DNA çeşitliliği. Doktora Tezi, 2019-DR-012. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Aydın.
- Benavides, MV, Souza, CJH, Moraes, JCF. (2018) How efficiently Genome-Wide Association Studies (GWAS) identify prolificity-determining genes in sheep. *Genetics and Molecular Research*, 17 (2): gmr16039909.
- Brajkovic, V, Hrsak, D, Bradic, L, Turkalj, K, Novosel, D, Ristov, S, Ajmone-Marsan, P, Colli, L, Cubric-Curik, V, Sölkner, J, Curik I. (2023) Mitogenome information in cattle breeding and conservation genetics: Developments and possibilities of the SNP chip. *Livestock Science*, 275: 105299.

- Barbosa, BL, e Silva, AP, de Castro, DP, Castro, GC, de Sousa Silva, T, de Brito Vieira, R, Sena, LS, Torres, TS, Pereira, EHU, Silva, LRG, da Silva Borges, L, de Oliveira, MB, Sarmento, JLR. (2023) Overview of the Use of Genomic Data in Animal Breeding. *Animal Production*, 53:10, e20220350.
- Bhuiyan, MSA, Kim, YK, Kim, HJ, Lee, DH, Lee, SH, Yoon, HB, Lee, SH. (2018) Genome-wide association study and prediction of genomic breeding values for fatty-acid composition in Korean Hanwoo cattle using a high-density single-nucleotide polymorphism array. *Journal of Animal Science*, 96: 4063-4075.
- Caetano, AR. (2009) SNPs markers: basic concepts, applications in animalbreeding and management and perspectives for the future. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38:64-71.
- Carracelas B, Navajas EA, Vera B, Ciappesoni G. (2022) SNP arrays evaluation as tools in genetic improvement in Corriedale sheep in Uruguay. *Agrociencia Uruguay*, 26(2): e998.
- Cemal, İ. (2014) Verim Denetimleri ve Genomik Tanımlama. *Koyun-Keçi Genetik Islah Çalıştayı*, 11-13 Haziran 2014, 54-78.
- Choi, N, Seo, D, Manjula P, Lee JH. (2018) Genetic diversity studies using molecular genetic markers. *Journal of Animal Breeding and Genomics*, 2(1): 021-027.
- Consuegra, S, John, E, Verspoor, E, de Leaniz CG. (2015) Patterns of natural selection acting on the mitochondrial genome of a locally adapted fish species. *Genetics Selection Evolution*, 47(1):58.
- Dorji, J, Jagt CJV, Chamberlain, AJ, Cocks, BG, MacLeod, IM, Daetwyler, HD. (2022) Recovery of mitogenomes from

whole genome sequences to infer maternal diversity in 1883 modern taurine and indicine cattle. Scientific Reports, 12:5582.

Fontanesi, L. (2009) Genetic authentication and traceability of food products of animal origin: new developments and perspectives. Italian Journal of Animal Science, 8:9-18.

Gáspárdy, A. (2021) Reality of Mitogenome Investigation in Preservation of Native Domestic Sheep Breeds. Book Chapter. Landraces - Traditional Variety and Natural Breed.

Goddard, ME, Hayes, BJ. (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. Nature Reviews Genetics, 10:381-391.

Gündüz, Z, Yılmaz, O, Cemal, İ, Biçer, O. (2016) A Comparison of Old and Modern Type DNA Marker Technologies and Their Impact on Animal Breeding Programs. Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology, 6(2): 175-180.

Huang, B, Khan, MZ, Chai, W, Ullah, Q, Wang, C. (2023) Exploring Genetic Markers: Mitochondrial DNA and Genomic Screening for Biodiversity and Production Traits in Donkeys. Animals, 13: 2725.

Huang, CW, Lin, YT, Ding, ST, Lo, LL, Wang, PH, Lin, EC, Liu, FW, Lu, YW. (2015) Efficient SNP discovery by combining microarray and lab-on-a-Chip data for animal breeding and selection, Microarrays 4(4): 570.

Ibtisham, F, Zhang, L, Xiao, M, An, L, Ramzan, MB, Nawab, A, Zhao, Y, Li, G, Xu, YM. (2017) Genomic selection and its application in animal breeding. The Thai Journal of Veterinary Medicine, 47(3): 301-310.

- Kaseja, K, Mucha, S, Yates, J, Smith, EM, Banos, G, Conington, JE. (2023). Genome-wide association study of health and production traits in meat sheep. *Animal*, 17(10): 100968.
- Klucnika, A, Ma, H. (2019) Mapping and editing animal mitochondrial genomes: can we overcome the challenges? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375: 20190187.
- Kockum, I, Huang, J, Stridh, P. (2023) Overview of genotyping technologies and methods. *Current Protocols*, 3: e727.
- Koopae, HK, Koshkoiyeh, AE. (2014) SNPs Genotyping Technologies and Their Applications in Farm Animals Breeding Programs: Review. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57: 87-95.
- Meuwissen, T. (2009) Accuracy of breeding values of ‘unrelated’ individuals predicted by dense SNP genotyping. *Genetics Selection Evolution*, 41:35.
- Meuwissen, T, Hayes, B, Goddard, M. (2016) Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers*, 6(1): 6-14.
- Mukhopadhyay CS, Kumar, D. (2015) Implications of Genome Wide Association Studies in Dairy Cattle Breeding (Theory). In: 21 Days CATF Training Program on “Advanced Tools for Analysis of Phenomic and Genomic Data” delivered on 24th March’ 2015 at NDRI, Karnal, India, organized during 5th to 25th March’ 2015.
- Neumann, GB, Korkuć, P, Arends, D, Wolf, MJ, May, K, Reißmann, Elzaki, MS, König, S, Brockmann GA. (2021) Design and performance of a bovine 200 k SNP chip developed for endangered German Black Pied cattle (DSN). *BMC Genomics*, 22(22): 905-913.

- Özdemir M, Doğru Ü. (2007) Genetik Karakterizasyonda Mitokondriyal DNA Kullanımı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 38 (1): 105-111.
- Özşensoy, Y, Kurar E. (2012) Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. Journal of Cell and Molecular Biology, 10(2):11-19.
- Pszczola, M, Strabel, T, Van Arendonk, JAM, Calus, MPL. (2012) The Impact of Genotyping Different Groups of Animals on Accuracy when Moving from Traditional to Genomic Selection. Journal of Dairy Science. 95: 5412–5421.
- Rabier, CE, Barre, P, Asp, T, Charmet, G, Mangin, B. (2016). On the Accuracy of Genomic Selection. PloS ONE, 11(6): e0156086.
- Say, E, Altun, EG. (2021) Sığırlarda Genomik Seleksiyon. International Journal of Eastern Mediterranean Agricultural Research, 4(1):60-67.
- Scienski, K, Ialacci, A, Bagnato, A, Reginelli, D, Durán-Aguilar, M, Strillacci, MG. (2019) Genetic variability in a Holstein population using SNP markers and their use for monitoring mating strategies. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 10: 643-663.
- Sharma A, Lee JS, Dang CG, Dang, CG, Sudrajat, P, Kim, HC, Yeon, SH, Kang, HS, Lee SH. (2015) Stories and challenges of genome wide association studies in livestock- a review. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 28:1371-9.
- Slaska, B, Makarevic, A, Surdyka, M, Nisztuk, S. (2014) Application Aspects of Animal and Human Mitochondrial Genomics. Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica, 13 (2): 3-18.

- Tsai, T, St. John JC. (2016) The role of mitochondrial DNA copy number, variants, and haplotypes in farm animal developmental outcome. Domestic Animal Endocrinology, 56: S133–S146.
- Van Den Berg, I, Fritz, S, Boichard, D. (2013) QTL fine mapping with Bayes C(π): a simulation study. Genetics Selection Evolution, 45, 19.
- Vijayan, K. (2009) Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) for Advanced Genomic Research in Sericulture. International Journal of Industrial Entomology, 19(1): 143-154.

SIĞIR MASTİTİSLERİ VE MASTİTİTİS FAKTÖRLERİ

Derya OKUYAN¹

İlhan GÖKGÖZOĞLU²

1. GİRİŞ

Siğir mastitisi meme bezindeki meme dokusunun fiziksel travma veya mikroorganizma enfeksiyonları nedeniyle ortaya çıktığı inflamatuvar bir yanıttır. Süt siğircılığı verimin düşmesi ve sütün kalitesizliği nedeniyle ekonomik kayba yol açan en yaygın hastalık olarak kabul edilmektedir [1]. Ortalama olarak, siğir mastitisine bağlı toplam başarısızlık maliyeti yılda 147 dolar olduğu tahmin edilmektedir, özellikle süt üretim kayıpları ve itlaf, bu da yıllık brüt kar marjının %11 ila %18'ini temsil etmektedir [2]. Süt üretiminin azalmasına neden olan meme dokusu hasarı, toplam kayıpların %70'ini oluşturur [3].

Siğir mastiti, inflamasyon derecesine göre klinik, subklinik ve kronik mastitis olmak üzere 3 sınıfa ayrılabilir. Klinik bir siğir mastiti belirgindir ve süt ineğinde kırmızı ve şişmiş meme ve ateş gibi görünür anormalliklerle kolayca tespit edilir. Süt pul pul ve pıhtıların varlığı ile sulu görünür [4]. Klinik mastitis, inflamasyonun derecesine bağlı olarak akut ve subakut olarak alt gruplara ayrılabilir [5]. Şiddetli klinik mastitis vakaları da ölümcül olabilir [6]. Klinik mastitisin aksine, subklinik

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Bandırma Onyedİ Eylöl Üniversitesi, Susurluk Tarım ve Orman Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, dokuyan@bandirma.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6758-8556.

² Öğr. Gör., Bandırma Onyedİ Eylöl Üniversitesi, Susurluk Tarım ve Orman Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, igokgozoglu@bandirma.edu.tr, ORCID: 0000-0001-9723-672X.

mastitis memede veya sütte gözle görülür bir anormallik göstermez, ancak somatik hücre sayısındaki (SCC) artışla süt üretimi azalır [7]. Subklinik mastitisin neden olduğu kaybın ölçülmesi çok zordur, ancak uzmanlar sürüde klinik vakalardan daha fazla mali kayıp oluşturduğu konusunda hemfikir [3,8]. Aksine, kronik mastitis, birkaç ay süren ve düzensiz aralıklarla meydana gelen klinik alevlenmelerle birlikte enflamatuvar bir süreçtir.

2. SIĞIR MASTİTİSLERİNİN RİSK FAKTÖRLERİ

Patojen, konakçı ve çevresel faktörlerinin de dahil olduğu ve önemli rol oynayan sığır mastiti insidansı ile ilişkili olduğu bilinen birkaç risk faktörü vardır. Tüm bu faktörler mastitis kontrol programlarında göz önünde bulundurulmuştur [9].

2.1.Patojen Faktörü

Bakteriyel meme içi enfeksiyon (IMI), sığır mastitinin ana nedeni olarak kabul edilir. Birçok bakteri türü, sığır mastiti için etken ajanlar olarak tanımlanmıştır. Bu bakteriyel enfeksiyonlar, bakteriyel kökene göre bulaşıcı ve çevresel olmak üzere 2 tipte sınıflandırılabilir [10]. Bulaşıcı mastitis, özellikle sağım sırasında bulaşabilen mastitisi ifade eder [11]. *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gibi bulaşıcı patojenler, *Mycoplasma bovis* ve *Corynebacterium* gibi daha az yaygın türler meme ve meme başı derisi üzerinde yaşarlar ve de meme başı kanalında kolonize olur ve büyürler [5]. Bunlar, genellikle SCC'de bir yükselme ile subklinik enfeksiyonlar oluşturabilir. SCC, IMI enfeksiyonunun önemli bir göstergesidir ve lökositlerden (yani nötrofiller, makrofajlar, lenfositler ve eritrositler) ve epitel hücrelerinden oluşur [12]. Bulaşıcı enfeksiyonlar, rezervuarlar ve enfekte olmamış inekler arasındaki teması azaltarak kontrol edilebilir. Bu nedenle, sağım ekipmanının uygun bakımı, sağım

sonrası meme başı dezenfeksiyonu, itlaf ve kuru tedavisi (DCT) bulaşıcı enfeksiyonları önlemek için önemlidir [13].

Bulaşıcı patojenlerin aksine, çevresel patojenler genellikle meme ve meme başı derisinde yaşamaz; bunun yerine, sürünün yataklarında ve barınaklarında bulunurlar. En iyi fırsatçı patojenler olarak tanımlanırlar. Sağım sırasında veya doğal bağışıklığı zayıf olduğunda meme başından girebilirler ve klinik mastite neden olabilirler. *Escherichia coli* (*E. coli*) veya *Strep. uberis* memesiye enfekte eder, konakçı bağışıklık sistemini indükler ve hızla elimine edilir [14]. Çok çeşitli bakteri türlerinin çevresel mastite neden olduğu bildirilmiştir; *Streptococcus spp.* (örneğin *Strep. uberis*), koliform türleri (örneğin *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*), *Pseudomonas spp.*, vb [15]. Çevresel enfeksiyonun kontrolü, meme uçlarının çevresel patojenlere maruziyetini azaltarak ve antibiyotik müdahalesi ve aşılama ile IMI'ye direncini artırarak sağlanabilir [13].

2.1.1. Staphylococcus aureus

Staph. aureus, çeşitli klinik ve subklinik mastit formlarıyla ilişkili olduğu bilinen en yaygın gram-pozitif patojendir [16]. *Staph. aureus*'un temel rezervuarı kronik olarak enfekte olmuş meme bezidir, bu nedenle meme ve sağım hijyeninin sağlanması ile enfeksiyon azaltılarak kontrol altına alınabilir [17]. *Staph. aureus* anormalliklere veya ölüme neden olmaz. Ancak meme dokusuna geri dönüşü olmayan bir şekilde zarar veren ve sonuçta süt üretimini azaltan parçalayıcı enzimler ve toksinler üretir [18].

Staph. aureus tedavisi antibiyotik kullanımı ile yapılır. Ancak Rainard ve ark. [17] patojenin β -laktam antibiyotiklere yani metisiline karşı geliştirdiği direnç nedeniyle antibiyotiğin etkili bir yöntem olmadığını göstermiştir. Bu tür *Staph. aureus* türleri, metisiline dirençli *Staph. aureus* olarak bilinir (MRSA), direnci sağlayan bir mecA genine sahiptir [19]. Bunun yanı sıra, *Staph. aureus*'ın yeteneği biyofilm üretmesi ve konakçı ortama

uyum sağlamasından dolayı tedavisi için daha da zor bir hedef haline getirmektedir [20, 21].

Biyofilmler, biyotik veya abiyotik yüzeylere yapışık, kendi kendine üretilen bir matris (ekzopolisakkaritler, proteinler, teikoik asitler, enzimler ve hücre dışı DNA) içine alınmış hücre kümesidir (yapılandırılmış bir bakteri hücresi topluluğu) [22]. Biyofilm oluşumu, bakterilerin abiyotik bir yüzeye bağlanmasıyla başlatılır, bu da hidrofobik veya elektrostatik etkileşimler tarafından yönlendirilebilir, ardından hücre duvarı ile ilişkili adezinler (yani, flagella, fimbria ve pili) tarafından yüzey yapışması sağlanır. Devamında ise bakteriler ve hücre yüzeyi arasında polimer köprülerin oluşumunu içerir. Bundan sonra, bakteriler hücre dışı polisakkaritlerle birbirine bağlanan çok hücreli bir yapı oluşturarak çoğalmaya başlar. Son olarak, biyofilm yoğun bir kütleyle ulaştığında, bakteriler göç etmeye ve kolonize olmaya başlarlar [23, 24]. *Staph. aureus*, glikokaliks adı verilen bir ekzopolisakkarit üretir. *Staph. aureus*'a bu sayede meme epitel hücrelerine yapışır ve antibiyotikler, dezenfektanlar gibi çevresel stresten korunarak fagositozdan da kaçır [23, 25]. Gram pozitif bir bakterinin antibiyotik kullanılarak tedavi edilmesinin zor olmasının ana nedeni budur, çünkü antibiyotik hedef bölgeye minimum inhibitör konsantrasyonda (MIC) ulaşmaz, ancak yalnızca patojeni öldüremeyen bir alt MİK'de ulaşır [26]. Sonuç olarak, *Staph. aureus*'ın biyofilm oluşturma yeteneğini doğrudan hedef alan alternatif tedaviler gereklidir [27].

2.1.2. Streptococcus agalactiae

Strep. agalactiae, bulaşıcı mastite neden olan gram pozitif bir patojendir. Sığır gastrointestinal sisteminde ve süt ineklerinin ortamında bulunabilir. Sağım makinesi ve orol-fekal yolla, özellikle kontamine içme suyu yoluyla bulaşabilir; bu nedenle, yakın zamanda yapılan bir çalışma, memenin korunmasının ve

sağım sağlığının *Strep agalactiae*'i kontrol etmek için yeterli olmadığını göstermiştir. Enfeksiyon ancak dışkı ve çevre yönetimi ile kontrol altına alınabilmektedir [28]. *Strep. agalactiae*, sütte herhangi bir anormallik gösterilmemesine rağmen yüksek SCC ve düşük süt üretimi ile subklinik mastite neden olur [5]. Meme bezlerinde, meme bezine yapışmalarına ve üremelerine izin veren bir biyofilm oluşturarak, aynı zamanda konakçı faktörüne ve besin yoksunluğuna karşı direnci artırarak süresiz olarak hayatta kalabilir [29].

2.1.3. Mikoplazma Türleri

Mycoplasma spp.'nin neden olduğu bulaşıcı mastit, *Staph. aureus* ve *Strep. agalactiae* enfeksiyonlarına oranla daha az yaygındır. Bununla birlikte, oldukça şiddetli seyreden enfeksiyon salgı dokularına zarar verir. Ayrıca bez ve lenfatik nodül fibrozisi ve apseleri indükler [5]. Mikoplazmal mastitis salgını sporadiktir. Kendi kendini sınırlamasına rağmen, biyofilm üretir ve konakçı hücreyi enfekte eder ve antibiyotik tedavisine yanıt vermez [30]. Tek kontrol, enfekte hayvanların düzenli olarak izlenmesi ve hızlı bir şekilde sürüden ayrılmasıdır [31].

2.1.4. Escherichia coli

E. coli en sık rastlanan gram negatif patojendir. Süt ineğinde meme başı yoluyla memeyi enfekte eder, çoğalır ve inflamatuvar yanıtı başlatır [13]. *E. coli*'nin neden olduğu mastitis genellikle klinik ve geçicidir. Semptomlar, sadece lokal belirtilerle (kırmızı ve şişmiş meme) hafiften sistemik belirtilerle (ateş) şiddetliye kadar değişebilir. *E. coli*'nin neden olduğu şiddetli klinik mastitis, meme bezinde geri dönüşü olmayan doku hasarına, süt üretiminin tamamen kaybolmasına, hatta bazen süt ineğinin ölümüne neden olabilir.

E. coli, konakçıda hızla inflamatuvar bir yanıt oluşturur. İnflamatuvar yanıt tetiklediği en iyi bilinen virülans faktörü, lipopolisakkarit (LPS) olarak bilinen *E. coli*'nin dış zarında

bulunan endotoksindir. LPS'nin Toll benzeri reseptör 4 (TLR4)'e bağlanması ile bir dizi sinyal yolu indüklenir [32]. TLR4 aktive olması miyeloid farklılaşma faktörü 88'i (MyD88) aktive eder ve interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz ailesinin ve tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör 6'nın üyelerini regüle eder. Bu da daha sonra transforme büyüme faktörü β ile aktive olan kinaz 1 (TAK1) kompleksini aktive eder. Aktive edilmiş TAK1 kompleksi, $IKK\alpha$, $IKK\beta$ ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) kinaz esansiyel modülatöründen (NEMO) oluşan nükleer faktör- κ B kinaz (IKK) kompleksinin bir inhibitörü olarak işlev görür ve daha sonra NF- κ B ($I\kappa$ B) inhibitörünün fosforilasyonunu sağlar. $I\kappa$ B'nin bozunması NF- κ B'yi serbest bırakır ve çekirdeğe translokasyonuna neden olur. Aynı zamanda, TAK1 ayrıca hücre dışı sinyal regüle kinaz (ERK), c-JUN N-terminal kinaz ve p38 mitojenle aktive olan protein kinaz (p38) gibi mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK) fosforilasyonunu da beraberinde getirir ve bu da aktivatör protein 1'in nükleer translokasyonu ile sonuçlanır [33, 34]. NF- κ B, DNA transkripsiyonunu, sitokin üretimini ve hücre sağkalımını kontrol eden önemli bir proteindir. NF- κ B'nin DNA dizisine bağlanması, mRNA'nın transkripsiyonu ve TNF- α , interlökin (IL)-1 β , IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi inflamatuvar belirteçlerin translokasyonuna neden olur [35]. Proinflamatuvar sitokinler sadece hem lokal hem de sistemik düzeyde inflamatuvar yanıtların başlatılmasında rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda hedef bölgelere göç ederek nötrofiller ve makrofajlar gibi lökositlerin işlevlerini aktive eder [18, 36].

E. coli, patojenitesine sadece tek ve spesifik virülans faktörü aracılık etmediğinden, farklı virülans faktörlerine sahip fırsatçı bir patojen olarak sınıflandırılmıştır [37]. Aslında, toksinler, adezinler, invazinler, kapsül üretimi, serum komplemanına direnme yeteneği ve demir süpürme gibi çeşitli virülans faktörlerinin kombinasyonların meme dokusunda rahat

bir şekilde kolonize olmaktadır [38]. *E. coli* meme bezinde kalabilir ve muhtemelen farklı seviyelerde biyofilm üretme yeteneği nedeniyle tedavisi zor olan tekrarlayan mastitis enfeksiyonlarına neden olabilir [1, 37].

2.1.5. Enterococcus Türleri

Enterococcus faecalis ve *Enterococcus faecium* en sık rastlanan *Enterococcus spp.* Türleridir [39]. Biyofilm oluşturabilen *Ent. faecalis* ve *Ent. faecium*'un lincomycin, tetrasiklin, kanamisin, streptomisin, kinupristin/dalfopristin (Synercid), eritromisin, kloramfenikol ve tylosin gibi çeşitli antibiyotiklere dirençli olduğu bildirilmiştir [40]. Bu durum hem tekrarlayan hem de kalıcı ve tedavisi zor olan enterokok enfeksiyonlarının sık görülmesine yol açar [39].

2.1.6. Streptococcus uberis

Strep. uberis, klinik ve subklinik enfeksiyonlarla ilişkili tekrarlayan mastite neden olan çevresel bir patojendir [43]. Sütteki α -kazein ve β -kazein bileşeninin biyofilm üretimini indükler ve bundan dolayı *Strep. uberis*, antibiyotik tedavisine direnç gösterir [1,44]. Dudaklar, bademcikler, deri, ağız boşluğu, rumen, solunum yolu, rektum, meme ağzı, meme başı kanalları, enfekte memeler, dışkı ve yaralar dahil olmak üzere hayvanların farklı kısımlarında tespit edilmiştir [45].

2.2.Genetik Faktörü

Islah ve genetik genetik faktörler ve süt yetiştiriciliği, mastite yatkınlık veya direnç üzerinde etkilidir. Yüksek verimli sığırların saf ırkı veya melez ırkı, özellikle Holstein-Friesian sığırları, orta verim veren ırklara göre mastite karşı genetik olarak daha savunmasız görünmektedir [46]. Örneğin, Jersey sığırlarının Holstein-Friesian sığırlarından daha düşük mastitis oranına sahip olduğu bildirilmiştir [47].

Meme yapısı memenin enfeksiyona yatkınlığı etkiler. Buzağılamadan meme başlarındaki morfolojik yapılar subklinik mastitis riskini belirlemektedir [49]. Bunun dışında, meme başı boyutu ve meme başı ile zemin mesafesi de farklılıklar mastitis nedenlerinin başlıcalarındandır [50].

2.3.Stresi ve Bağışıklık Sistemi Faktörü

Emzirme döneminde, süt sığırları tarafından kolostrum ve süt sentezi için daha yüksek bir enerji ve besin talebi vardır. Bu nedenle, yem alımı laktasyon taleplerini karşılamadığında, sığırlar negatif enerji dengesi sergiler [5]. Negatif enerji dengesi, eser elementlerdeki diyet eksiklikleri ile ilişkilidir (yani selenyum, demir, bakır, çinko, kobalt, krom), amino asitler (yani lizin, L-histidin) ve vitaminler (yani, A, C, E, β -karoten, likopen), laktasyonun başlangıcında hücresel ve humoral düzeyde immünoşüpresyona yol açar ve sonuç olarak enfeksiyonlara duyarlılığı artırır [46, 56]. Bu nedenle, E vitamini ve çinko takviyesi gibi geçiş döneminde diyetin uygun şekilde yönetilmesi, mastitis enfeksiyonunu önlemek ve laktasyonu artırmak için kritik öneme sahiptir [57, 58].

2.4. Çevre Faktörü

Sürülerin çevre koşulları ve yönetim uygulamaları, hayvan sağlığı ve refahı üzerinde belirleyici etkilere sahiptir. Sürüyü temiz ve rahat tutmak, mastitis insidansını ve şiddetini azaltabilir [59]. Yüksek stoklama yoğunluğu, kirli zemin, ıslak yataklama, yetersiz havalandırma, sıcak ve nemli iklim gibi çevresel nedenler mastitis patojenlerinin büyümesini ve mastitis oluşum riskini arttırmaktadır [7, 46, 60].

3. SONUÇ

Sığır mastitisi meme dokusunun fiziksel travma veya mikroorganizma enfeksiyonları nedeniyle ortaya çıktığı

inflatuar bir yanıttır. Bu süreç birçok faktörle beraber ele alınması gereken bir hastalık tipidir. Özellikle patojen faktörü ve genetik yatkınlıklar çevre faktörü ile desteklenmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Gomes, F., & Henriques, M. (2016). Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. *Current microbiology*, 72, 377-382.
- [2] Hogeveen, H., Steeneveld, W., & Wolf, C. A. (2019). Production diseases reduce the efficiency of dairy production: A review of the results, methods, and approaches regarding the economics of mastitis. *Annual review of resource economics*, 11, 289-312.
- [3] Zhao, X., & Lacasse, P. (2008). Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *Journal of animal science*, 86(suppl_13), 57-65.
- [4] Khan, M. Z., & Khan, A. (2006). Basic facts of mastitis in dairy animals: A review. *Pakistan veterinary journal*, 26(4), 204.
- [5] Kibebew, K. (2017). Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 7(2), 1-14.
- [6] Gruet, P., Maincent, P., Berthelot, X., & Kaltsatos, V. (2001). Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Advanced drug delivery reviews*, 50(3), 245-259.
- [7] Abebe, R., Hatiya, H., Abera, M., Megersa, B., & Asmare, K. (2016). Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at

- Hawassa milk shed, South Ethiopia. BMC veterinary research, 12(1), 1-11.
- [8] Romero, J., Benavides, E., & Meza, C. (2018). Assessing financial impacts of subclinical mastitis on Colombian dairy farms. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 273.
- [9] Klaas, I. C., & Zadoks, R. N. (2018). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 166-185.
- [10] Lakew, B. T., Fayera, T., & Ali, Y. M. (2019). Risk factors for bovine mastitis with the isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from farms in and around Haramaya district, eastern Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 51, 1507-1513.
- [11] Schreiner, D. A., & Ruegg, P. L. (2002). Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2503-2511.
- [12] Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(3), 429-438.
- [13] Smith, K. L., & Hogan, J. S. (1993). Environmental mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9(3), 489-498.
- [14] Bradley, A. J. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *The veterinary journal*, 164(2), 116-128.
- [15] Bogni, C., Odierno, L., Raspanti, C., Giraudo, J., Larriestra, A., Reinoso, E., ... & Vissio, C. (2011). War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Science against microbial pathogens: Communicafing current research and technological advances*, 483-494.

- [16] Vasudevan, P., Nair, M. K. M., Annamalai, T., & Venkitanarayanan, K. S. (2003). Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Veterinary microbiology*, 92(1-2), 179-185.
- [17] Rainard, P., Foucras, G., Fitzgerald, J. R., Watts, J. L., Koop, G., & Middleton, J. R. (2018). Knowledge gaps and research priorities in *Staphylococcus aureus* mastitis control. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 149-165.
- [18] Gilbert, F. B., Cunha, P., Jensen, K., Glass, E. J., Foucras, G., Robert-Granié, C., ... & Rainard, P. (2013). Differential response of bovine mammary epithelial cells to *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* agonists of the innate immune system. *Veterinary research*, 44(1), 1-23.
- [19] Hamid, S., Bhat, M. A., Mir, I. A., Taku, A., Badroo, G. A., Nazki, S., & Malik, A. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Veterinary world*, 10(3), 363.
- [20] Oliveira, M., Bexiga, R., Nunes, S. F., & Vilela, C. L. (2011). Invasive potential of biofilm-forming *Staphylococci* bovine subclinical mastitis isolates. *Journal of Veterinary Science*, 12(1), 95-97.
- [21] Scali, F., Camussone, C., Calvino, L. F., Cipolla, M., & Zecconi, A. (2015). Which are important targets in development of *S. aureus* mastitis vaccine?. *Research in veterinary science*, 100, 88-99.
- [22] Gomes, F., Saavedra, M. J., & Henriques, M. (2016). Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential

- role of microbial biofilms. FEMS Pathogens and Disease, 74(3), ftw006.
- [23] Melchior, M. B., Vaarkamp, H., & Fink-Gremmels, J. (2006). Biofilms: a role in recurrent mastitis infections?. The Veterinary Journal, 171(3), 398-407.
- [24] Garrett, T. R., Bhakoo, M., & Zhang, Z. (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. Progress in natural science, 18(9), 1049-1056.
- [25] Arslan, S., & Özkardes, F. (2007). Slime production and antibiotic susceptibility in staphylococci isolated from clinical samples. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102, 29-33.
- [26] Amini, B., BAGHCHEHSARAEI, H., & HAJI, O. F. M. (2009). Effect of different sub MIC concentrations of penicillin, vancomycin and ceftazidime on morphology and some biochemical properties of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa isolates.
- [27] Asli, A., Brouillette, E., Ster, C., Ghinet, M. G., Brzezinski, R., Lacasse, P., ... & Malouin, F. (2017). Antibiofilm and antibacterial effects of specific chitosan molecules on Staphylococcus aureus isolates associated with bovine mastitis. PloS one, 12(5), e0176988.
- [28] Jørgensen, H. J., Nordstoga, A. B., Sviland, S., Zadoks, R. N., Sølverød, L., Kvitle, B., & Mørk, T. (2016). Streptococcus agalactiae in the environment of bovine dairy herds—rewriting the textbooks?. Veterinary microbiology, 184, 64-72.
- [29] Rosini, R., & Margarit, I. (2015). Biofilm formation by Streptococcus agalactiae: influence of environmental conditions and implicated virulence factors. Frontiers in cellular and infection microbiology, 5, 6.

- [30] McAuliffe, L., Ellis, R. J., Miles, K., Ayling, R. D., & Nicholas, R. A. (2006). Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology*, 152(4), 913-922.
- [31] Nicholas, R. A., Fox, L. K., & Lysnyansky, I. (2016). *Mycoplasma mastitis in cattle: To cull or not to cull*. *The Veterinary Journal*, 216, 142-147.
- [32] Chow, J. C., Young, D. W., Golenbock, D. T., Christ, W. J., & Gusovsky, F. (1999). Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, 274(16), 10689-10692.
- [33] Burvenich, C., Van Merris, V., Mehrzad, J., Diez-Fraile, A., & Duchateau, L. (2003). Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary research*, 34(5), 521-564.
- [34] Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*, 11(5), 373-384.
- [35] Maturu, P., Overwijk, W. W., Hicks, J., Ekmekcioglu, S., Grimm, E. A., & Huff, V. (2014). Characterization of the inflammatory microenvironment and identification of potential therapeutic targets in wilms tumors. *Translational oncology*, 7(4), 484-492.
- [36] Ezzat Alnakip, M., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Fernández-No, I., Caamaño-Antelo, S., Calo-Mata, P., & Barros-Velázquez, J. (2014). The immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. *Journal of veterinary medicine*, 2014.
- [37] Fernandes, J. B. C., Zanardo, L. G., Galvão, N. N., Carvalho, I. A., Nero, L. A., & Moreira, M. A. S. (2011). *Escherichia*

- coli from clinical mastitis: serotypes and virulence factors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(6), 1146-1152.
- [38] Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
- [39] Elhadidy, M., & Zahran, E. (2014). Biofilm mediates *Enterococcus faecalis* adhesion, invasion and survival into bovine mammary epithelial cells. *Letters in applied microbiology*, 58(3), 248-254.
- [40] Róžańska, H., Lewtak-Piłat, A., Kubajka, M., & Weiner, M. (2019). Occurrence of enterococci in mastitic cow's milk and their antimicrobial resistance. *Journal of veterinary research*, 63(1), 93.
- [41] Taponen, S., & Pyörälä, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis—Not so different from *Staphylococcus aureus*?. *Veterinary microbiology*, 134(1-2), 29-36.
- [42] Simojoki, H., Hyvönen, P., Ferrer, C. P., Taponen, S., & Pyörälä, S. (2012). Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase-negative staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infection?. *Veterinary Microbiology*, 158(3-4), 344-352.
- [43] Abureema, S., Smooker, P., Malmo, J., & Deighton, M. (2014). Molecular epidemiology of recurrent clinical mastitis due to *Streptococcus uberis*: evidence of both an environmental source and recurring infection with the same strain. *Journal of dairy science*, 97(1), 285-290.
- [44] Varhimo, E., Varmanen, P., Fallarero, A., Skogman, M., Pyörälä, S., Iivanainen, A., ... & Savijoki, K. (2011).

Alpha-and β -casein components of host milk induce biofilm formation in the mastitis bacterium *Streptococcus uberis*. *Veterinary microbiology*, 149(3-4), 381-389.

- [45] Krömker, V., Reinecke, F., Paduch, J. H., & Grabowski, N. (2014). Bovine *Streptococcus uberis* intramammary infections and mastitis. *Clinical Microbiology: Open Access*, 3.
- [46] Shaheen, M., Tantary, H. A., & Nabi, S. U. (2016). A treatise on bovine mastitis: disease and disease economics, etiological basis, risk factors, impact on human health, therapeutic management, prevention and control strategy. *J Adv Dairy Res*, 4(1), 1-10.
- [47] Washburn, S. P., White, S. L., Green Jr, J. T., & Benson, G. A. (2002). Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *Journal of dairy science*, 85(1), 105-111.
- [48] Curone, G., Filipe, J., Cremonesi, P., Trevisi, E., Amadori, M., Pollera, C., ... & Riva, F. (2018). What we have lost: Mastitis resistance in Holstein Friesians and in a local cattle breed. *Research in veterinary science*, 116, 88-98.
- [49] Persson Waller, K., Persson, Y., Nyman, A. K., & Stengärde, L. (2014). Udder health in beef cows and its association with calf growth. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1), 1-8.
- [50] Sharma, T., Das, P. K., Ghosh, P. R., Banerjee, D., & Mukherjee, J. (2017). Association between udder morphology and in vitro activity of milk leukocytes in high yielding crossbred cows. *Veterinary World*, 10(3), 342.

- [51] Król, J., Brodziak, A., Litwinczuk, Z., & Litwinczuk, A. (2013). Effect of age and stage of lactation on whey protein content in milk of cows of different breeds. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 16(2).
- [52] Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?. *Journal of dairy science*, 82(11), 2259-2273.
- [53] De Visscher, A., Piepers, S., Haesebrouck, F., & De Vliegher, S. (2016). Intramammary infection with coagulase-negative staphylococci at parturition: Species-specific prevalence, risk factors, and effect on udder health. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6457-6469.
- [54] Fadlelmula, A., Al Dughaym, A. M., Mohamed, G. E., Al Deib, M. K., & Al Zubaidy, A. J. (2009). Bovine mastitis: epidemiological, clinical and etiological study in a Saudi Arabian large dairy farm. *Bulgarian journal of veterinary medicine*, 12(3).
- [55] Sharma, N., Singh, N. K., Singh, O. P., Pandey, V., & Verma, P. K. (2011). Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(4), 479-484.
- [56] Matsui, T. (2012). Vitamin C nutrition in cattle. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 25(5), 597.
- [57] Chandra, G., Aggarwal, A., Singh, A. K., Kumar, M., & Upadhyay, R. C. (2013). Effect of vitamin E and zinc supplementation on energy metabolites, lipid peroxidation, and milk production in peripartum sahiwal cows. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 26(11), 1569.
- [58] Bayril, T., Yildiz, A. S., Akdemir, F. A. T. İ. H., Yalcin, C., Köse, M., & Yilmaz, O. (2015). The technical and

financial effects of parenteral supplementation with selenium and vitamin E during late pregnancy and the early lactation period on the productivity of dairy cattle. Asian-Australasian journal of animal sciences, 28(8), 1133.

- [59] Weigel, K. A., & Shook, G. E. (2018). Genetic selection for mastitis resistance. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 34(3), 457-472.
- [60] Zeinhom, M. M., Aziz, R. L. A., Mohammed, A. N., & Bernabucci, U. (2016). Impact of seasonal conditions on quality and pathogens content of milk in Friesian cows. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 29(8), 1207.

ÇİFTLİK HAYVANLARINDA OVULASYON ORANI VE İKİZLİK ORANINI KONTROL EDEN GENLERİN BELİRLENMESİ

Özden ÇOBANOĞLU¹

1. GİRİŞ

Karmaşık özellikler tipik olarak birden fazla genin birleşik katkılarından ve çevresel faktörlerin modifikasyonlarından etkilenir. Bununla birlikte, herhangi bir evcilleştirilmiş türün bireyleri arasındaki çeşitliliğin çoğundan birkaç gen veya lokus sorumludur. Son 50 yılda süt ve besi sığırlarında ekonomik önemi nedeniyle araştırmacılar, üretim, üreme ve performans özelliklerini iyileştirmek için marker destekli seleksiyon (MAS) gibi çeşitli yöntemler geliştirmiştir.

Damızlık hayvanların genotipik yapılarına göre seçilmesi, besi hayvanlarında üreme yeteneği olarak ovulasyon oranının, doğurganlığın ve yavrulama oranının artırılmasında daha etkilidir. Sonuç olarak, üreme verimliliği için yüksek oranda polimorfik marker (marker) bilgisine dayalı olarak hayvanların seçilmesi, hayvancılık üretim sisteminde gelecekteki yetiştirme ve ıslah programları için büyük önem taşımaktadır.

Bu bölümde, çiftlik hayvanlarının üreme amaçlı genetik gelişimi için kritik olan ve ekonomik değere sahip özelliklerden olan ruminantlarda çoklu ovulasyon vakalarına, model türlerdeki ovulasyon hızına ilişkin temel çalışmalara ve büyükbaş hayvanlarda ovulasyon ve ikiz doğum oranlarını kontrol eden

¹ Prof. Dr., Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, ocobanogluludag.edu.tr, ORCID: 0000-0001-9633-634X.

genlerin belirlenmesine yönelik yapılan başlıca çalışmalar geniş bir biçimde değerlendirilip özetlenmiştir.

2. HAYVANCILIKTA ÜREME PERFORMANSINI İNCELEMEDE GENETİK ARAÇLARIN KULLANIMI

Üreme verimliliğinin genetik olarak iyileştirilmesi, çiftlik hayvanlarının performansını artırmak için mevcut en etkili stratejilerden biridir. Özellikle son 50 yılda klasik veya moleküler genetik prensiplere dayalı seleksiyon programları süt ve besi sığırlarının verim seviyelerinin kalıcı olarak iyileştirilmesinde önemli olumlu değişikliklere yol açmıştır.

Üreme verimliliği esas olarak beslenme rejimi, hayvan sağlığı ve yönetimi gibi çevresel faktörlerden ve bunların birbiriyle olan etkileşimleriyle hayvanların sahip olduğu pek çok genden etkilenmektedir. Üreme ile ilgili özellikler genellikle düşük ila orta düzeyde kalıtım derecesine sahip olduklarından klasik seleksiyon yöntemleriyle doğru mükemmel bir genetik ilerleme gözlenmemektedir. Bu nedenle üreme yeteneğini etkileyen genlerin belirlenerek seleksiyon programına dahil edilmesi seleksiyon sürecinin verimliliğinin ve başarısının artırılması için önemli argümanlardan biridir. Sığır yumurtalıklarındaki folikül sayısı ile ilgili genetik markerler (belirteç; markör), yüksek verimli hale gelecek düveleri belirlenmesinde kullanılabilirler çünkü genler bir organizmanın fiziksel yapısında ve işleyişinde aktif rol oynamaktadır. Bu nedenle çiftlik hayvanlarında genom analizi, hayvancılıkta ekonomik açıdan önemli özelliklerden olan doğurganlığı ve üreme verimliliğini etkileyen genlerin nihai amaç olarak kontrolünü anlamamızı sağlayacaktır.

Kantitatif özelliklerin belirlenmesinde etkili olan spesifik kromozomal bölgelere kantitatif özellik lokusları (Quantitative

Trait Loci; QTL) adı verilir. Genetik çeşitlilik ıslah programları için gerekli olduğundan, çiftlik hayvanları ve deney hayvanlarında kantitatif özelliklerde gözlenen genetik varyasyonu belirlemek maksadıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Genetik markerler kullanılarak kantitatif özellikleri etkileyen lokusları tespit edebilme düşüncesi, Sax'ın 1923'te fasulyelerle yaptığı çalışmalarda tohum büyüklüğü ile ilişkili olduğu düşünülen tohum kabuğu karakterlerinin marker olarak kullanması sonucunda ortaya çıkmıştır (Sax, 1923).

Belirli lokuslardaki marker bilgisine dayalı olarak pozitif etkili alellerin seçilmesi, gelecek generasyonda seleksiyonun etkisini ve verimliliğini artırıcı bir etki yapacaktır. Genetik markerler olarak adlandırılan kısa DNA dizileri, hayvan genomunda ilgili belirli üreme özellikleriyle güçlü ilişkisi olan spesifik DNA bölgeleridir. Bu polimorfik bölgeler, ilgilenilen belirli üreme özellikleriyle pozitif veya negatif olarak ilişkilendirilebilir. Genetik iyileştirme de, PCR-RFLP, SSCP, SSR, qRT-PCR, tam genom analizi ve yeni nesil dizileme teknikleri gibi farklı yöntemler kullanılarak mikrosatellitler, minisatellitler ve tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) gibi moleküler marker alellerinin popülasyonlarda hem lokasyonlarını hem de görülme frekanslarını belirlemek mümkündür. (Cobanoğlu, 2012). Mikrosatellit markerler oldukça polimorfiktir ve genom boyunca bol miktarda bulunur (Weber ve May, 1989). Bu nedenle marker alelleri ile verim özelliklerine ait fenotipik gözlemler arasındaki ilişki, bir popülasyonda ilgili özelliklerin QTL haritasını çıkarmak amacıyla bağlantı analizlerinde yaygın olarak kullanılabilir. Çeşitli çiftlik hayvanlarının genetik haritalandırılmasında polimorfik DNA markerlerin varlığı ve bunların bu hayvanlarda kayıt altına alınan ilgili fenotipik veriler ile olan ilişkileri QTL bölgelerinin doğru ve güvenilir bir şekilde belirlenmesinde etkin araçlardır.

Ancak hedef bölgeye yakından bağlı markerlerin belirlenmesi ve marker aleli ile kantitatif özellikleri kontrol eden QTL aleli arasındaki ilişkinin belirlenmesi karmaşık bir süreçtir. Üreme performansı gibi özellikleri kontrol eden düşük ila orta düzeyde etkileri olan marker lokuslar ve QTL arasındaki bağlantıyı belirlemek için yüksek çözünürlüklü bir marker haritasına ve doğru olarak kaydedilmiş fenotipik verilere ihtiyaç vardır (Soller ve Beckmann, 1987). Bu nedenle, MAS sisteminde uygulanabilecek ve ilgilenilen üreme özelliği için genetik kazanımı arttırabilecek moleküler markerleri bulmak amacıyla esas olarak düşük-orta dereceli kalıtsal özellikleri etkileyen QTL bölgesi tespit edilmektedir.

Kalıtım derecesi yaklaşık %1-5 civarında olan süt sığırlarında ergenlik yaşı, erken yumurtlama, yumurtlama foliküllerinin boyutu, çoklu yumurtlama, yumurtalık kistik yapısı, embriyonun hayatta kalma oranı ve kızgınlık tespiti dahil olmak üzere çok çeşitli üreme özellikleri doğurganlıkla ilişkilendirilmiştir (Cushman vd., 1999; Gargantini vd., 2005; Cammack vd., 2009). Sürülerde çeşitli ekonomik verim özelliklerine ait hesaplanan bu kalıtım oranları, büyükbaş hayvanlarda üreme özelliklerine karşı seleksiyonda hala bir genetik ilerleme kaydedilme potansiyelinin bulunduğunu göstermektedir.

Ayrıca genom çapında ilişkilendirme çalışmaları da (GWAS), son yirmi yılda farklı organizmalarda hastalık direnci ve doğurganlık ve üreme yetenekleriyle ilgili çeşitli karmaşık özelliklerle güçlü bir şekilde ilişkili genetik varyantları keşfetmek için yaygın olarak kullanılan önemli tekniklerden bir diğeridir. Bu amaçla GWAS analizini destekleyecek yüksek işleme kapasiteli bir platform olarak microçip tabanlı mikrodizi teknolojisi geliştirilmiştir. GWAS, sorumlu (causative) veya fenotipik varyasyonla bağlantılı olan markerlerin varsayılan konumlarını belirlemek için genom boyunca yüksek yoğunluklu SNP

markerlerinin analizine dayalı olarak uygulanan bir tekniktir. Milyonlarca SNP markerinin mevcudiyeti, sistemin tüm genomu kapsayacak şekilde dizayn edilen platformlar üzerinde kolayca genotiplerin belirlenmesini sağlamaktadır (Koopae ve Koshkoiyeh, 2014). Özellikle süt sığırları (Zhang vd., 2012), besi sığırları (Sharmaa vd., 2015), manda (de Camargo vd., 2015), domuz (Verardo vd., 2016), koyun (Tobar vd., 2020) ve keçi (Gomes vd., 2020) türlerine ait çeşitli ırklar olmak üzere hayvancılık üzerinde çeşitli GWAS çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ancak GWAS tarafından tanımlanan birçok potansiyel genin etkisi henüz tam olarak doğrulanmamıştır.

En güçlü çalışma modeli olarak, hayvan türlerinde GWAS verileri ve genomik seleksiyon (GS) araştırma sonuçlarının MAS ile birleştirilmesi, ekonomik verim özelliklerine yönelik yüz binlerce fenotiplendirilmiş hayvandan toplanan milyonlarca genetik marker bilgisi ile birlikte büyük genotipik verilerin doğru ve güvenilir bir şekilde analiz edilip yorumlanmasında ki başarı şansını kesin olarak artırılabilecektir (Iwata vd., 2013; Cui vd., 2018). Ayrıca hayvan türlerinde mRNA'ların genom çapında dizilenmesi yoluyla uygulanacak RNA dizileme teknolojisi (RNA seq) de dahil olmak üzere diğer yeni teknolojiler, zaman içerisinde genomik çalışmalarına ek olarak proteomik, metabolomik, transkriptomik, epigenomik gibi birçok alan omik teknolojisi yaygın olarak uygulanabilecektir (Miao vd., 2016). Sonuç olarak, çiftlik hayvanların yapılan tüm genomu kapsayarak yapılan genomik çalışmalarındaki dramatik artışla birlikte SNP genotipleme ve DNA ve RNA dizileme fiyatlarındaki ciddi düşüş nedeniyle çok daha önemli genlerin, sorumlu (causative) mutasyonların ve hatta pek çok minör etkilere sahip genlerin kısa sürede kesin olarak tanımlanmasının yapılabilmesi beklenmektedir.

Ayrıca üreme biyoteknolojisi alanı son zamanlarda hayvancılık verimliliğini ve üreme performansını artırmaya

yönelik güçlü bir diğer araç olarak ortaya çıkmıştır. Bu nedenle son yıllarda üreme temelli birçok çalışmada geleneksel klasik tekniklerin yerine modern üreme teknolojileri kullanılması gittikçe yaygınlaşmıştır. Folikül gelişimi ve seçimi konusundaki bilgi seviyesindeki ilerleme, in vitro fertilizasyon (IVF), embriyo kültürü ve transfer (ET), klonlama, östrus senkronizasyonu, transgenesis gibi ileri üreme teknolojilerinin yaygın uygulanmasına ek olarak sabit zamanlı suni tohumlama (AI) için senkronizasyon protokollerinin geliştirilmesi de önemli adımlardandır (Choudhary vd., 2016; Hadgu vd., 2020).

Sonuç olarak, sürdürülebilir hayvancılık verimliliği açısından bu gelişmeler, hayvan türlerinde üreme verimliliğinin artırılmasına yönelik doğru seçimlerin yapılması açısından önem arz etmektedir.

3. MODEL ORGANİZMA OLARAK KÜÇÜK RUMİNANLARDA YUMURTLAMA ORANI ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Üreme özelliklerini kontrol eden önemli genlerin tespiti, hayvan türlerinde genetik kazanç oranının artırılmasına fırsat sağlar. Bununla birlikte, doğurganlık özellikleri genellikle düşük kalıtım derecesine sahip olup gözlemlenebilir verilere dayalı fenotipik seçime bağlı üremeye ilgili gelişmeler düşük ve sınırlıdır. Ancak koyunların yumurtlama oranı ve yavru sayısı önemli doğurganlık özellikleridir ve yetiştiriciler için yüksek ekonomik değerlere sahiptirler (Notter, 2008). Yumurtlama oranı esas olarak koyunların verimliliğini belirler. Yumurtlama oranı ve yavru sayısı yalnızca tek bir cinsiyete göre ifade edilir ve hayvan yaşamının nispeten geç dönemlerinde kaydedilebilir. Doğurganlık özelliklerinin iyileştirilmesine odaklanmak, koyun yetiştiriciliğinde karlı üretim üzerine uzun vadeli olumlu bir etkiye sebep olmuştur (Pramod vd., 2013). On yıldan fazla bir

süredir pek çok araştırmacı, yüksek doğurganlık oranı ve yumurtalık folikül seçimi gibi üreme fonksiyonlarını kontrol eden genleri tanımlamak ve bu üreme sisteminde yer alan fizyolojik mekanizmaları araştırmak için koyunları temel bir model organizma olarak kullandılar. Bu çalışmalarda koyunlarda üretkenliği kontrol eden önemli majör genlere dair güçlü kanıtlar belirlendi (Davis vd., 1982). Spesifik olarak koyunlarda doğurganlığa ilişkin varyasyonun üzerindeki genetik etki, birçok genetik mutasyonun yumurtlama oranının kontrolünde önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle bu genlerin, fenotipik selegasyona bağlı modellere dayalı olarak çeşitli popülasyonlarda test edildiği görülmektedir. Bu nedenle, küçükbaş hayvanlarda yumurtlama oranı ve yavru sayısı gibi üreme performansı ve doğurganlık ile ilgili özellikleri iyileştirmek için ilgili aday genlerin genotiplenmesine dayalı olarak damızlık hayvanların seçimi konusu daha etkili olmuştur.

Bu bağlamda yapılan bir çalışmada Booroola Merinos türünden geliştirilen koyunların, yumurtlama oranını yaklaşık bir buçuk yumurta kadar artıran otozomal mutasyona sahip olduğu görüldü (Turner, 1982). Bu nedenle memelilerin yumurtlama oranlarını kontrol eden mekanizmaları araştırmak için bu gen mükemmel bir aday olarak değerlendirildi (Bindon vd., 1982; Davis vd., 1982). Bir çalışmada Booroola doğurganlık geninin (FecB), yüksek yumurtlama oranlarına sahip homozigot taşıyıcı hayvanlarda embriyonik kayıp nedeniyle yavru sayısı üzerinde kısmen baskın etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Piper vd., 1985). Daha sonra, FecB geninin bir kopyasının ortalama olarak yavru sayısını yaklaşık 1,5 kat artırdığı ve gen kopyası başına yaklaşık 1,65 oosit olarak yumurtlama oranlarının arttığı gözlenmiştir. Yapılan haritalama çalışmalarında bu gen, koyunlarda kemik morfogenetik protein reseptörü 1B'nin (BMPR1B) bulunduğu bölgede kromozom (Chr) 6 ile doğru bir şekilde haritalanmıştır (Wilson vd., 2001). Bu bölgenin farelerde

Chr 3 veya 5'e ve insanlarda ise Chr 4 ile benzerlik (homoloji) gösterdiği de bildirilmektedir (Montgomery vd., 1993).

Ayrıca Inverdale koyunlarında yumurtlama oranını ve yavru sayısını artıran diğer bir majör gen de tespit edildi. Inverdale doğurganlık geni (FecXI), X kromozomu üzerinde yer almakta olup, heterozigot koyunlarda ovulasyon oranını arttırmaktadır (Davis vd., 2001a). Ancak homozigot koyunların folikül gelişimi eksikliğinden dolayı kısır oldukları görülmektedir (Montgomery vd., 1992). Başka bir doğurganlık geni (FecXH) de Hanna koyun popülasyonunda X kromozomunda başarıyla tanımlanmıştır (Galloway vd., 2000). FecXI ve FecXH, kemik morfogenetik protein 15 (BMP15) bölgesinde haritalandı. Inverdale ve Hanna koyun popülasyonu ile yapılan bir diğer çalışmada BMP15 geninde farklı nokta mutasyonları belirlenmiştir. Koyunların bunlardan herhangi biri için heterozigot olması, yumurtlama oranının iki ila üç yumurtaya çıkmasına neden olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, eğer koyunlar Booroola mutasyonu için homozigot ise, ovulasyon oranı önemli ölçüde 5'ten 14'e yükseldiği görülmüştür (McNatty vd., 2001). Yumurtlama oranının kalıtımını anlamak için Coopworth koçları tarafından tohumlanan koyunların kızlarından elde edilen yumurtlama hızı kayıtlarını araştıran bir başka çalışma da, Inverdale FecX lokusundan tamamen farklı olan X kromozomu (FecX2w) üzerindeki üretkenliği etkileyen, anneden aktarılan bir başka genin varlığı da kanıtlanmıştır (Davis vd., 2001b). Yaklaşık 40 yıl önce yapılan araştırmaların bulguları, koyunların model organizma olarak yaygın şekilde kullanıldığı üreme performansı ile ilgili daha sonra yapılan pek çok araştırmaya da yön vermiştir.

Şu ana kadar çeşitli koyun ve keçi ırklarında yumurtlama oranı ve üreme performansında önemli fenotipik farklılıklara neden olan bu beş önemli gen moleküler düzeyde karakterize edilmiştir. Genel olarak tespit edilen genler kemik morfogenetik

protein reseptörü, tip 1B (BMPR1B; Booroola Merinos, Cava, Küçük Kuyruk Han, Hu, Garole ve Kendrapada ırklarında) (Mulsant vd., 2001; Souza, 2001; Wilson vd., 2001), kemik morfogenetik protein 15'tir (BMP15; Inverdale'de), Hanna, Romney, Belclare, Cambridge, Galway, Lacaune, Raza Aragonesa, Olkaska ve Grivette ırklarında) (Galloway vd., 2000), büyüme farklılaşma faktörü 9 (GDF9; Belclare, Cambridge, İzlanda Thoka, Santa Ines, Embrapa, Finlandiya Landrace, Norveç'te) Beyaz Koyun, Ile de France ve Baluchi ırklarında) (Hanrahan vd., 2004), beta-1,4-N-asetil-galaktozaminil transferaz 2 (Lacaune'de B4GALNT2) (Drouilhet vd., 2013) ve leptin reseptörüdür (Davisdale koyunlarında LEPR) (Juengel vd., 2016).

Yüksek doğum oranına sahip koyun ırklarında sebep (causative) polimorfizmin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalar, oositten salgılanan Dönüşen büyüme faktörü-beta (TGF- β) sinyal yolunda yer alan BMP15, BMPR1B ve GDF9 genleri için en az 12 adet tanımlanmış alellik varyantın olduğunu göstermektedir. TGF- β , ovulasyon oranı, yavru sayısı ve üreme performansı ile önemli ölçüde ilişkilidir ve bu nedenle küçük ruminantların folikülogenezinde kritik bir rol oynamaktadır. Birçok çalışma, TGF- β yolu ile ilişkili genlerdeki mutasyonların, heterozigot hayvanlarda yumurtlama oranını (%35-100) arttırdığını bildirmiştir (García-Guerra vd., 2017a). Üstelik doğurganlıkla ilgili sebep (causative) mutasyonlar tam olarak keşfedilmemiş olsa da, son çalışmalarda çoklu yavruleyen koyun ırklarında segrege olan FecX2W (Davis vd., 2001b) ve FecD (Juengel vd., 2011) olarak isimlendirilen iki genetik varyant daha tanımlanmıştır.

Benzer şekilde, TGF- β ile ilişkili genler de dahil olmak üzere yaklaşık 20 aday genin, çeşitli keçi ırklarında folikülogenez ve üreme ile ilgili özelliklerin düzenlenmesinde çok önemli rolü olduğu tespit edilmiştir (Gomes de Lima vd., 2020). Çiftlik

hayvanlarında yüksek verimliliği etkileyen hayvanların genetik yapısını iyileştirmek için, üreme performansı ile ilgili özelliklerle ilgili varyasyonları belirlemeye odaklanan aday gen çalışmalarında çoğunlukla yüksek verimli koyun ve birkaç keçi ırkı olmak üzere 30'dan fazla küçükbaş hayvan ırkı aktif olarak kullanılmaktadır.

4. SIĞIRLARDA YUMURTLAMA ORANI ÇALIŞMALARI

4.1.Çoklu Yumurtlama İçin Model Hayvan Olarak Sığır

Sığır, gebelik sırasında tek bir folikülün yumurtlamasından kaynaklanan ve çoğu durumda yalnızca bir yavru üreten tek yumurtalı bir türdür. Bununla birlikte, sığırlarda ikiz veya üçüz buzağılamanın görülme sıklığı esas olarak ırk farklılıkları, ananın yaşı, parite, mevsim, besleme ve yönetim sistemleri, yetiştirilen hayvanların yetiştirildiği coğrafi konumu ve diğer çevresel etkilerle ilgili olarak ortaya çıkan çoklu foliküler ovulasyondan kaynaklanmaktadır (Sreenan ve Diskin, 1989). Spesifik olarak, besi sığırlarında çift doğum insidansı yaklaşık %1 olarak gözlenmiştir (Rutledge, 1975). Yapılan karşılaştırmalar da bu oran düvelerde yaklaşık %1'den yaşlı sütçü ineklerde yaklaşık %10'a kadar değişmekle birlikte ortalama %4-5 olarak belirlenmiştir (Cady ve Van Vleck, 1978; Ryan ve Boland, 1991).

Genetik olarak oldukça polimorfik hayvanlar seçilerek, çoklu ovulasyon oranlarının, özellikle de sığırlardaki ikiz doğum oranlarının altında yatan sebeplerin belirlenmesiyle ilgili trans-rectal ultrasonografi kullanarak veya dolaşımdaki AMH konsantrasyonlarını ölçerek, embriyo transfer tekniklerinden yararlanarak (Davis vd., 1989) veya hormonal tedavilerden

yararlanarak (McCaughe ve Dow, 1977) çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Gregory vd., 1990a).

Sığırlarda yumurtlama oranı, ovulasyon ile ikiz doğum oranları arasında 0,75 ile 1,0 arasında değişen yüksek genetik korelasyon nedeniyle ikizlik oranıyla yakından ilişkilidir (Van Vleck vd., 1991). Sığırlarda çoklu yumurtlamada etkili olan genlerin belirlenmesi uzun süredir araştırmacıların ilgilendiği önemli konular arasında olmasına ve sığır ırklarında çoklu yumurtlamanın altında yatan mekanizmaya anlamaya yönelik pek çok araştırma yapılmasına rağmen (Morris vd., 2010) yumurtlama oranı üzerinde önemli derecede etkileri olan sebep genlerin ya da mutasyonlar yakın zamana kadar tanımlanması maalesef yapılamamıştır (Kirkpatrick ve Morris, 2015).

4.2.İkiz Doğum ve Yumurtlama Oranlarına İlişkin Kantitatif Özellik Lokusu (QTL) Çalışmaları

Seleksiyon çalışmalarına bağlı genetik olarak üstün hayvanların seçimi, farklı ülkelerdeki uzun süreli yetiştiriciliği ve takibi yapılan çeşitli sürülerde uygulanmaktadır. Bu amaçla, kırk yıldır çeşitli ülkelerde çoklu ovulasyon çalışmalarına yönelik çeşitli araştırma sürüleri oluşturularak yapılan çalışmalarda aktif olarak kullanılmaktadır. Bu sürüler her generasyonda artan ikizlik oranlarına göre seçim yapmak için Fransa'da (Frebling vd., 1982), Avustralya'da (Bindon vd., 1982), Yeni Zelanda'da (Morris ve Day, 1986) ve ABD'deki USDA-ARS'nin Et Hayvanları Araştırma Merkezi'nde (MARC) süt ve besi sığırı üretiminde ikizlik ve yumurtlama oranları, et kalitesi ve hayvan sağlığı dahil olmak üzere üretim verimliliğini artırmaya yönelik etkili genetik stratejiler geliştirmek üzere 80'lerin başında oluşturuldu (Gregory vd., 1988). Proje kapsamında, MARC ikiz doğum kapasiteli hayvan popülasyonu, foliküler gelişim ve iyileştirme çalışmalarıyla ilgili araştırmalar yapmak ve öncelikli olarak da ikizlik oranını etkileyen genleri belirlemek maksadıyla

başlangıçta etçi, sütçü, ve dual amaçla yetiştiriciliği yapılan ırkılar olmak üzere on iki farklı ırktan toplam 307 adet uygun hayvanla başlatılmış; daha sonra da çalışmalarda 1981'den itibaren ovulasyon oranı da dikkate alınarak inekler yüksek ikiz doğum oranlarına göre seçilmiştir. (Gregory vd., 1990a, Greogry vd., 1997). İkizlik oranı; ovulasyon, gebelik ve embriyonun hayatta kalma süreçlerini içeren ardışık olaylar olarak tanımlanmaktadır (Gonda vd., 2004). MARC merkezinde ilk popülasyon, kızları yüksek ikizlik oranlarına sahip olan boğalar ile tohumlanan ineklerin yetiştirilmesiyle oluşturuldu. Ayrıca projede ağırlıklı olarak İsveç ve Norveç kökenli boğalardan toplanan spermalar kullanıldı. Sürüdeki kurucu ırklar çoğunlukla Holstein (%18), İsveç Kırmızısı ve Beyazı ve Norveç Kırmızısı (%12,8), İsveç Friesian (%16,1), Pinzgaurer (%18,4), Simmental (%15,8), Charolais (%5,3), Angus ve Hereford (%8,3) ve diğer ırkların melezleriydi (%5,3) (Gregory vd., 1996). Araştırmanın temel amacı sürüdeki ikizlik oranını arttırmaktı. Bu nedenle hayvanların ikizlik performanslarına bakılarak ideal sürü oluşturulmuştur.

Ancak daha sonra araştırmacılar, ovulasyon oranıyla ikiz doğum oranı arasında genetik olarak yüksek bir korelasyonu olduğundan (0.90) hayvanların 8 ila 10 kızgınlık döngüsüne ait yumurtlama hızı kayıtlarını da değerlendirmeye dahil edilmiştir (Echternkamp vd., 1990a). Böylece, 1990 yılında ikizlik oranlarına ilişkin damızlık değerlerini tahmin etmek için tekrarlanan çok sayıda verim özelliklerine ilişkin kayıtlara sahip bir hayvan modeli geliştirip kullanmışlardır. Bu metodolojiyi uygulayarak, sadece bireyden değil aynı zamanda mevcut tüm akrabalarından ikizlik ve yumurtlama oranlarına ilişkin bilgileri kullanabilmiştir. Yumurtlama oranı kayıtlarını ikizlik oranının tahmininde kullanmanın en önemli avantajı generasyonlar arası süreyi kısaltarak birkaç nesil boyunca kayıt tutulacak olan inek sayısını azaltmaya imkan sağlamasıdır. Tahmini ikizlik oranı

1984'te %4 civarındayken bu tahmin 1996'da doğrusal olarak %35'e yükselmiştir (Gregory vd., 1997). En son raporda, tahmini damızlık değeri (EBV) daha düşük olan tüm inekler sürüden çıkartılarak sürünün ikizlik oranındaki artış korumaya alınmıştır. Böylece sürü büyüklüğü yıllık doğum yapan 750 inekten 250 ineğe düşürülmüştür. İkizlik oranı daha sonra 1997'den bu yana yıllık %35'ten %50'nin üzerine çıkması sağlanmıştır (Echternkamp ve Gregory, 1999a; Echternkamp ve Gregory, 1999b).

Farklı sığır popülasyonlarında ovulasyon oranı ve ikizlik oranıyla ilişkili QTL bölgesini belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır. USDA Et Hayvanları Araştırma Merkezi (MARC) ikiz hayvan sürüsü ile Holstein-Friesian ve Norveç Kırmızısı ırklarından oluşan diğer bir sürüde kullanılarak, varsayılan ovulasyon oranına ilişkin bovine chromosome 7 (BTA7) ve BTA23'te (105), BTA5, 7 ve 19'da (Kappes vd., 2000), BTA5'te (Arias ve Kirkpatrick, 2004; Van Vleck ve Gregory, 1996), BTA7, 10 ve 19'da (Lien vd., 2000) ve BTA14'te (Gonda vd., 2004) çeşitli genom bölgeleri belirlenmiştir (Van Vleck ve Gregory, 1996). Ayrıca Norveç süt sığırı popülasyonu ile yapılan bir diğer çalışmada BTA5, 7, 12 ve 23'te ikizlik oranıyla ilişkili olası QTL bölgeleri de tespit edilmiştir (Cruickshank vd., 2004, Cobanoglu, Berger, Kirkpatrick, 2005, Kim vd., 2009a).

Genom çapında araştırmalara dayanan ikizlik oranı üzerinde etkili QTL bölgeleri ayrıca ABD de ki ticari süt sığırı popülasyonlarında BTA5, 7, 19 ve 23'te (Vinet vd., 2010), BT8, 10, 14, 21 ve 29'da (Kim vd., 2009a), BTA2, 5 ve 14'te (Sahana vd., 2010), boğaların kızları modeli (daughter design) kullanılarak İsrail-Holştayn sığırlarında yapılan bir diğer çalışmada da BTA6, 7 ve 23 üzerinde (Kirkpatrick ve Morris, 2011) ve ikiz doğum oranına yönelik seçilen INRA deney sürüsünde ise BTA20 ve 28 üzerinde ikizlik oranı üzerinde önemli etkisi olan QTL bölgeleri (Dijke ve Hill, 2004) tespit

edilmiştir. Kompozit MARC sürülerinin kullanıldığı çalışmalarda, birden fazla nesil boyunca yüksek ikizlik ve yumurtlama oranları için genetik seleksiyona dayalı ikiz doğum yapan ineklerin, kontrol gruplarındaki hayvanlara göre yaklaşık iki kat daha fazla ikincil folikül ürettiği belirlenirken bu sürüdeki yüksek ikizlik ve yumurtlama oranlarının olası nedeninin, kantitatif özelliklerle ilişkili birden fazla genin birleşik etkisinin etkili olabileceği öne sürülmüştür (Greogry vd., 1990a, Gregory vd., 1997).

Günümüzde çeşitli sığır ırklarında yumurtlama oranı, ikizlik oranı ve çoklu doğum oranlarıyla ilişkili çoklu pozisyonel aday gen bölgeleri bağlantı analizi, aralık (interval) haritalaması, bağlantı dengesizliği (LD) analizi, birleşik bağlantı-bağlantı dengesizliği analizi (LDLA) ve GWAS yöntemleri yardımıyla yalnızca birkaç generasyon replike olsalar bile analiz edilip belirlenebilmektedir. Şu ana kadar yapılan çalışmaların çoğu değerlendirildiğinde Tablo 1'de verilen 30 sığır kromozomunun yaklaşık 18'ini kapsayacak şekilde belirlenen QTL veya tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), istatistiksel olarak anlamlılık düzeylerine bağlı olarak sığır genomu boyunca çeşitlilik göstermektedir (García-Guerra vd., 2017a).

ABD MARC deney sürüsünde ve Norveç'te yetiştirilen ticari süt sığırı popülasyonlarında BTA5 üzerinde önemli bir QTL bölgesinin tespit edilmesi de dikkat çekicidir. Bileşik MARC popülasyonundaki kurucu babalardan bazıları, yavruları birden fazla doğum yapan İskandinav ülkelerinden gelmektedir. Bu nedenle, kurucu genlerin önemli bir kısmının iki farklı popülasyonda paylaşılması nedeniyle gelecekteki çalışmalarda aynı QTL'lerin tespit edilme olasılığı oldukça yüksektir (Gregory vd., 1990a). Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda, BTA5'te aday bir gen olarak (özellikle 2. intronik bölgede) IGF-1'in ABD Holstein sığırlarındaki ikizlik oranıyla büyük ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Elks vd., 2010; Kamalludin vd., 2018). Bağlantı

dengesi (LE) ve bağlantı dengesizliği (LD) analizlerine dayalı olarak genom boyunca yüksek verimli tek nükleotid polimorfizmi (SNP) için genotiplleme yapılan çalışmalar sonucunda, 30 sığır kromozomunun 24 'ünü kapsayan ikizlik oranı ve yumurtlama oranı üzerinde etkili pek çok QTL'nin varlığı tespit edilmiştir.

4.3.Sığırlarda Çoklu Ovulasyonu Etkileyen Yeni Aday Genler

Sığırlarda ikiz veya üçüz doğumlar, sığırlarda ortak bir fizyolojik olay olmasa da, doğal olarak meydana gelen üreme süreçleridir. Oldukça yüksek yavruleyen koyun ırkları üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen modeller, sığırlar veya insanlar gibi monotok türlerde foliküler gelişimin düzenlenmesini incelemek için iyi bir çerçeve sağlamaktadır.

1993 yılında Yeni Zelanda'daki sığır sürülerinden birinde 'Treble' adında son derece verimli bir dişi buzağı doğdu. Cinsin kökeni bilinmemekle birlikte, vücut rengi desenine göre muhtemelen Hereford, Holstein, Angus ve Jersey ırklarının bir melezini içerdiği varsayılmaktadır. Treble, ilk kez 1995 yılında bir düve ve ikisi ölü doğan buzağı, 1996 yılında ikinci kez iki düve ve Trio adı verilen bir erkek ve son olarak da 1999 yılında ise üçüncü kez doğum sırasında yaşanan ciddi zorluk nedeniyle tümü ölü doğan buzağılar olmak üzere ömrü boyunca üç set üçüz doğurdu. Treble daha sonra klonlandı ve 2000 yılında Yeni Zelanda'daki AgResearch Center'da iki klon nesli doğdu. Öte yandan, 'Triple' adı verilen oldukça üretken bir ineğin erkek buzağısı, 2008 yılına kadar çok sayıda yavru doğuran, yüksek buzağılama oranlarına sahip bir grup inekle çiftleştirildi. Bu boğanın, toplam kırk dört kızından on üçü; toplam on beş ikiz ve altı üçlü set ürettiği bildirilmiştir; burada üçlü buzağılama, tüm çoklu buzağılamaların %29'unu oluşturuyordu ve bu Yeni Zelanda' da üçüz buzağılama yeteneğine sahip bir sığır ailesinde nesiller boyunca yüksek doğurganlık oranına katkıda bulunan bir

majör sığır alelli fikrini destekliyordu. Bu duruma ilişkin olası senaryo, bir genin veya gen kümesinin, tek gen kalıtımı için bir anadan (Treble), bazı akrabaları aracılığıyla oğluna (Trio) tek bir kopya olarak segregе olduğu şeklinde gerçekleştiğidir. Üstelik böyle benzersiz bir gen alelinin dışı hayvanlarda baskın veya kısmen baskın olarak segregе olduğu şeklindedir (Morris vd., 2010).

Trio'nun pek çok dışı yavrusu (131), 2008'den 2011'e kadar Wisconsin Üniversitesi (UW)-Madison araştırma çiftliğinde spermlerinin ithal edilmesinin ardından ABD'de suni tohumlama yoluyla meydana geldi. Araştırmacılar, UW-Madison araştırma çiftliğinde yetiştirilen hayvanlarda yüksek yumurtlama oranı için önemli bir sığır alelinin tanımlandığını ve kullanılan ayrıntılı (fine mapping) haritalama teknikleri ile BTA10'da 2 Mb'lık bir aralıkta haritalandırıldığını (taşıyıcı dişiler için döngü başına +1.02 korpus luteumluk (CL) yüksek yumurtlama oranı) rapor etmektedir. Böylece, Trio'nun kızlarında, sığırlarda çoklu ovulasyon üzerinde önemli bir etkiye sahip olan ve BTA10 üzerinden taşınan bir alel genin yüksek doğurganlık üzerine etkili olduğu da kanıtlanmıştır (Kirkpatrick ve Morris, 2015).

Tespit edilen gen bölgesi, çoklu yavruleyen koyun ırklarında yüksek yumurtlama oranı ve yavrulama sayısı için daha önce bildirilen herhangi bir majör genle örtüşmemektedir. Sonunda, Treble'ın dikkate değer üreme performansına ek olarak, Trio'da dahil onun soyundan gelenlerin hayvanların tümünün olağanüstü üreme performansı sergilediğini ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, yüksek üreme yeteneğine sahip Treble ailesinin üyeleri, yüksek doğurganlık oranı üzerinde etkili olan majör genlerin keşfedilmesi için gen haritalama çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Genetik çeşitliliğe yönelik daha sonra yapılacak olan araştırmalar için sığır verimliliği konusunda önemli bir kaynak teşkil edeceği aşıkardır (Morris vd., 2010).

Takip eden çalışma da, tek bir mutasyon nedeniyle Trio alelinin taşıyıcısı olduğu varsayılan bir boğa tarafından tohumlanan dişilerin yarı kardeş dişi buzağuları kullanılarak, BTA10'un 1,2 Mb bölgesinde yüksek yumurtlama oranı için önemli bir genin daha lokasyonu güçlü bir şekilde tespit edildi. Elde edilen yeni bölgenin, daha önce bildirilen herhangi bir majör genle örtüşmemesi dikkat çekmekle birlikte bu durum, ruminant hayvanlarda yumurtlama oranını önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle yapılan çalışma, yeni tanımlanan bölgelerin, taşıyıcı babanın soyundan alınan çoklu yumurtlama oranlarına ilişkin kalıtım modellerinin takip edilmesi için kullanılabileceğini göstermektedir. Çünkü söz konusu genin ekzonik bölgesi ve 5' UTR (5'cil uçta translasyon olmayan bölge) ya da 3' UTR bölgelerinde fonksiyonel bir mutasyonun taranması, polimorfik bir SNP bölgesinin hayvanların yüksek üreme performansını kontrol eden herhangi bir aday genin ekspresyon seviyesini etkileyebileceğini hatırlatmaktadır (Kirkpatrick ve Morris, 2015). Oldukça üretken olarak UW-Masion'da yetiştirilen hayvanlarda Trio alellerini taşıyanların foliküler ve hormonal dinamikleri incelendiğinde, Trio taşıyıcısı hayvanlarda birden fazla yumurtlama görüldüğü bildirilmektedir. Taşıyıcılar, tüm foliküler dalgalanma boyunca sapmanın başlangıcına yakın folikül büyüme hızının daha yavaş olması nedeniyle bu süreçte daha baskın, daha küçük çap ve hacimde yumurtlayan foliküller üretmektedirler.

Çalışmada, Trio' dan gelen aleli taşıyan heterozigot dişiler ile taşıyıcı olmayan yarı üvey kardeşler arasındaki foliküler dalgalanma da sapma süreleri benzer olsa bile, Trio aleline sahip ineklerde çoklu dominant ovulatuvar foliküllerin sayısında önemli bir artışın olduğu görüldü. Trio aleline sahip olmanın, foliküllerdeki sapma zamanına yakın bir zamanda folikül uyarıcı hormon (FSH) salgısının artan konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Trio aleli taşıyan hayvanlarda, küçük

boyutlu foliküllerin, taşıyıcı olmayanlara göre daha fazla luteinize edici hormon (LH) reseptörüne sahip olduğuna dair kanıtlar da mevcuttur; bu durum da, Trio aleli taşıyıcılarında çoklu ovulatuar foliküllerin üretimine neden olan potansiyel yeni fizyolojik mekanizmaların olabileceği görüşünü desteklemektedir (García-Guerra vd., 2017a).

Tablo 1. Çeşitli sığır ırklarında ovulasyon oranı, ikizlik oranı ve çoklu doğum oranıyla ilişkili Kantitatif Özellik Lokusu (QTL) ve Tek Nükleotid Polimorfizminin (SNP) kromozomal lokasyonları.

Özellik	Chr (cM olarak Yaklaşık Konum)	Populasyon	Aday Genler (Chr)	Metot
Ovulasyon Oranı	7 (40), 23 (27)	MARC Twinner	<i>CYP21</i> (23)	Aralık Haritalaması (Interval Mapping).
Ovulasyon Oranı	5 (107), 7(5, 57) 19 (65)	MARC Twinner		Aralık Haritalaması.
Ovulasyon Oranı	5 (40)	MARC Twinner		
Ovulasyon Oranı	7 (30), 10 (75), 19 (65)	MARC Twinner	<i>AMH</i> (7), <i>ESR2</i> (10), <i>IGFBP4</i> (19)	Aralık Haritalaması.
Ovulasyon Oranı	14 (61)	MARC Twinner		Aralık Haritalaması.
İkizlik Oranı	5 (68), 7 (108), 12 (9), 23 (30)	Norwegian Cattle	<i>IGF1</i> (5), <i>CYP21</i> (23)	Aralık Haritalaması.
İkizlik Oranı	5 (64)	Norwegian Cattle	<i>MGF</i>	LDLA
İkizlik Oranı	5 (68)	US Holstein	<i>IGF1</i> (5)	Aralık Haritalaması./LDL A
İkizlik Oranı	8 (117), 10 (41), 14 (68)	US Holstein		Aralık Haritalaması.
İkizlik Oranı	6 (55), 7 (25), 23 (67)	Israel Holstein	<i>AMH</i> (7), <i>CYP21</i> (23)	GWAS

İkizlik Oranı	10 (49), 20 (27), 28 (8) 4 (44), 5 (67), 6 (8,44), 7 (68,76), 8 (58), 9	INRA Twin		LDLA	
İkizlik Oranı	(34), 11 (47), 14 (21, 38), 15 (23), 23 (51), 28 (9)	US Holstein	<i>IGF1</i> (5)	LDLA/GWAS	
İkizlik Oranı	10 (14)	MARC Twiner	<i>SMAD3</i> , <i>SMAD6</i> , <i>IQCH</i> (10)	Bağlantı/Ay Harita Mapping).	rıntılı (Fine
İkizlik Oranı	24 (40)	Italian Maremman a	<i>ARHGAP8</i> , <i>TMEM200</i> <i>C</i> (24)	GWAS	
Çoklu Doğum Oranı	11 (31)	Swiss Holstein and Simmental Cattle	<i>LHCGR</i> , <i>FSHR</i> (11)	GWAS	

Sığırların 10. kromozomunun 1.2 Mega bazlık (Mb) bir bölümü kapsayan bu yeni aday bölge içerisinde, üç tanesi varsayılan (putative) aday gen olarak kabul edilen toplamda yedi adet protein kodlayan gen yer almaktadır. Bu genlerin, Transforming growth factor- β (TGF β)/Bone Morphogenic Protein (BMP) resptörleri (Dijke ve Hill, 2004) ve insanlarda ilk adet döngüsü ile güçlü bir şekilde ilişkili olan IQ motif containing H (IQCH) (Elks vd., 2010) için birincil sinyal dönüştürücülerden olan Small mothers against decapentaplegic (SMAD) family member 3 (SMAD3) ve SMAD family member 6 (SMAD6) olduğudur. Akabinde UW-Madison araştırma çiftliğindeki hayvanlarla yapılan diğer çalışmada da kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) tekniği ile BMP/SMAD bağımlı sinyal yolağının önlenmesinde çok önemli bir rol oynayan ve iyi

korunmuş bir SMAD6 geninin, yüksek doğurganlık Trio aleli için taşıyıcı hayvanlarda, bu aleli taşımayan hayvanlara kıyasla 9,3 kat daha fazla ifade edildiği ortaya çıkmıştır. Sonuçta, SMAD6 geninin aşırı ekspresyonunun, çoklu yavruleyen koyun ırklarında yumurtlama oranının yukarı doğru insidansını değiştirebilecek sinyal yolunun bir parçası olarak nedensel (causative) mutasyonların BMP15, BMPR1B ve GDF9 genlerinin fonksiyonları üzerindeki etkisine benzer bir etki gösterdiği bildirilmiştir. İtalyan yerli Maremmana sığır ırkında ikiz doğum ve buzağı ölümlerinde gözlenen artışın genetik temelini belirlemek için yapılan başka bir çalışmada ise, en önemli SNP markerinin (Hapmap22923-BTA-129564), BTA24 üzerinde sığırlarda gözlenen ikizlik oranları üzerine etkili fonksiyonel adaylardan olan ARHGAP8 ve TMEM200C genleri yakınında konumlanmıştır. Ayrıca, çok yakın bir zamanda İsviçre sığır popülasyonuna ait tüm genom dizilimi bilgileri kullanılarak yapılan bir çalışmada da araştırmacılar, çoklu doğum oranları üzerinde etkili BTA11'de 31.00 ile 31.07 Mb arasında 70 kb'lik bir lokus aralığında haritalanmış büyük bir QTL bölgesini tespit ettiler. Bu gen bölgesinin bağlantı-dengesizlik analizine (LD) dayalı olarak toplam genetik varyasyonun yaklaşık %16'sından sorumlu olduğunu bildirdiler. Tanımlanan QTL bölgesi, fonksiyonel aday genler olarak LHCGR ve FSHR genlerini içermektedir. Sonuçta büyük bir olasılıkla, LHCGR 'nin 5' UTR bölgesinde düzenleyici bir varyantın, ikiz doğum oranı üzerinde etkili bir QTL bölgesi için potansiyel bir nedensel (causative) mutasyona sahip olabileceği öngörülmektedir (Widmer vd., 2021; Sarybayev vd., 2023).

5. SONUÇLAR

Çoklu doğumlar yoluyla yumurtalık foliküler gelişimini düzenleyen fizyolojik mekanizmaları kapsayan bu çalışmalar,

üreme özelliklerinin oldukça karmaşık olduğunu ve potansiyel bir genetik arka plan ile çeşitli çevresel faktörlerin önemli katkılarını içerdiğini göstermektedir. Çeşitli çalışmalar, BMP15, BMPR1B ve GDF9 dahil olmak üzere TGF- β yolu ile ilişkili genlerdeki nedensel (causative) mutasyonların, doğal seyri içerisinde birden fazla ovulasyonun olması eğilimindeki çoklu doğum yapan küçükbaş hayvanlarda yumurtlama oranlarını güçlü bir şekilde etkilediğini göstermektedir.

Sığırlar doğal olarak düşük sayıda ovulasyon yapan memelilerden olsalar da ve ayrıca bu tür özelliklerin kalıtım derecesi de düşük olsa da bu hayvanların yumurtlama oranlarında hala bazı farklılıklar gözlemlenebilir; dolayısıyla sığırlarda dolaylı seleksiyon kriteri olarak ovulasyon oranında ki çoklu gözlemlere dayanarak üreme özelliklerine karşı seleksiyon yoluyla genetik ilerleme kaydedilme potansiyeli oldukça fazladır. Özellikle BTA5, 10, 11, 14 ve 24'te çoklu ovulasyonu etkileyen genomik bölgeleri ciddi anlamda daraltan son ayrıntılı haritalama (fine mapping) çalışmaları, yüksek yumurtlama oranını kontrol eden nedensel (causative) mutasyonun kısa sürede tanımlanabileceğine dair olumlu sinyaller vermektedir.

Kızgınlık döngüsü sırasındaki karmaşık foliküler büyüme sürecinin ve oositlerin gelişiminin tam olarak anlaşılması, şüphesiz, canlı hayvan türlerinde üreme verimliliğini, özellikle de ikiz veya üçüz doğumların varlığını en üst düzeye çıkarmak ve kontrol etmek için gerekli olan bilgi birikimine önemli katkılar sağlayacaktır. Çünkü yumurtlama sonrasında birden fazla yumurtanın dölllenmesi çoğul doğumların temel nedenidir. Öte yandan genetik etkenlerle birlikte çevresel kaynaklar başta olmak üzere ırk farklılıkları, anaların yaşı ve pariteleri, buzağılama mevsimi ve özellikle büyükbaş hayvan üreme sistemlerinde ovulasyon ve ikizlik oranlarını önemli ölçüde etkileyen besleme ve yönetim sistemlerinin etkisi gibi pek çok faktörün de göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Bu nedenle, ikiz doğuran ineklerin

karşılaştığı üreme sorunlarıyla başa çıkmak için en verimli yönetim ve besleme programlarının uygulanması, yetiştirici için ikiz buzağı üretimini daha karlı bir hale getirecektir.

Sonuç olarak, memelilerde yüksek doğurganlığın genetik arka planının anlaşılması, bir yandan hayvancılıkta uygun genetik iyileştirme ve yönetim programlarının tasarlanması bakımından son derece önemli iken; diğer yandan da büyükbaş hayvanların ideal model organizma olarak kullanarak insanlarda yaşanan doğurganlık sorunlarının aşabilmek için gerekli temel bilgileri sağlayacağı umulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Arias J, Kirkpatrick BW. Mapping of bovine ovulation rate QTL; an analytical approach for three generation pedigrees. Anim. Genet. 2004;35:7-13.
- Bindon BM, Piper LR, Cheers MA, Curtis YM, Nethery RD, Holland EJ. Ovulation rate of cattle selected for twinning, Proceedings of the Australian Society for Reproductive Biology, Fourteenth annual conference Univ. of Sydney, Australia. 1982; 99:11-14.
- Cady RA, Van Vleck LD Factors affecting twinning and effects of twinning in Holstein Dairy cattle. J. Anim. Sci. 1978; 46:950-956.
- Cammack, K., Thomas, M., and Enns, R. (2009). Reproductive traits and their heritabilities in beef cattle. Prof. Anim. Sci. 25, 517–528. doi: 10.15232/s1080-7446(15)30753-1.
- Choudhary KK, Kavya KM, Jerome A, Sharma RK. Advances in reproductive biotechnologies. Veterinary World. 2016;9(4):388-395.

- Cobanoglu O, Berger PJ, Kirkpatrick BW. Genome screen for twinning rate QTL in four North American Holstein families. *Anim. Genet.* 2005;36:303-308.
- Cobanoglu O. Genetic markers and various applications in animal husbandry. *Hasad Animal Husbandry Magazine.* 2012;27: 321.48-54.
- Cruickshank J, Dentine MR, Berger PJ, Kirkpatrick BW. Evidence for quantitative trait loci affecting twinning rate in North American Holstein cattle. *Anim. Genet.* 2004;35:206-212.
- Cui Y, Yan H, Wang K, Xu H, Zhang X, Zhu H, Liu J, Qu L, Lan X, Pan C. Insertion/deletion within the KDM6A gene is significantly associated with litter size in goat. *Front Genet.* 2018;9:1–11.
- Cushman, R.A.; DeSouza, J.C.; Hedgpeth, V.S. et al. Superovulatory response of one ovary is related to the micro- and macroscopic population of follicles in the contralateral ovary of the cow. *Biology of Reproduction* v. 60, n. 2, p. 349-354, 1999.
- Davis GH, Montgomery GW, Allison AJ, Kelly RW, Bray AR. Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* 1982;25:525–529.
- Davis ME, Harvey WR, Bishop MD, Gearheart WW. Use of embryo transfer to induce twinning in beef cattle: embryo survival rate, gestation length, birth weight and weaning weight of calves. *J. Anim. Sci.* 1989;67(2):301-310.
- Davis GH, Dodds KG, Wheeler R, Jay NP. Evidence that an imprinted gene on the X chromosome increases ovulation rate in sheep. *Biol. Reprod.* 2001a;64:216–221.

- Davis, GH, Bruce GD, Dodds KG. Ovulation rate and litter size of prolific Inverdale (FecX1) and Hanna (FecXH) sheep. *Pfoc. Assoc. Adv. Anim. Breed. Genet.* 2001b;14:145-78.
- de Camargo GMF, Aspilcueta-Borquis RR, Fortes MRS, Portoneto R, Cardoso DF, Santos DJA, Lehnert SA, Reverter A, Moore SS, Tonhati H. Prospecting major genes in dairy buffaloes. *BMC Genomics.* 2015;Oct 28:16:872.
- Dijke PT, Hill CS. New insights into TGF- β -Smad signalling. *Trends Biochem. Sci.* 2004;29:265–273.
- Drouilhet L, Mansanet C, Sarry J, Tabet K, Bardou P, Woloszyn F, Lluch J, Harichaux G, Viguie C, Monniaux D, Bodin L, Mulsant P et al. The highly prolific phenotype of Lacaune sheep is associated with an ectopic expression of the B4GALNT2 gene within the ovary. *PLoS Genet.* 2013;9:e1003809.
- Echternkamp SE, Spicer LJ, Gregory KE, Canning SF, Hammond JM. Concentrations of insulin-like growth factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. *Biology of Reprod.* 1990a;43:8-14.
- Echternkamp SE, Gregory K. E. Effects of twinning on gestation length, retained placenta, and dystocia. *J. Anim. Sci.* 1999a;77:39-47.
- Echternkamp SE, Gregory K. E. Effects of twinning on postpartum reproductive performance in cattle selected for twin births. *J. Anim. Sci.* 1999b;77:48-60.
- Elks CE, Perry JRB, Sulem P, Chasman DI, Franceschini N, He C, Lunetta KL, Visser JA, Byrne EM, Cousminer DL, Gudbjartsson DF, Esko T et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 2010;42:1077–1085 .

- Frebling J, Gillard P, Menissier F. Preliminary results of natural twinning ability in a selected sample of Charolais and Maine Anjou cows and their progeny. 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, 8. Symposia; Madrid: 1982. p(2):351-355.
- Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MPE, Juengel JL, Jokiranta TS, McLaren RJ, Luiro K, Dodds KG, G. Montgomery W, Beattie AE, Davis GH, and Ritvos O. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. Nat. Genet. 2000;25:279-283.
- García-Guerra A, Kirkpatrick BW, Wiltbank MC. Follicular waves and hormonal profiles during the estrous cycle of carriers and non-carriers of the Trio allele, a major bovine gene for high ovulation and fecundity. Theriogenology. 2017a;100:100-113.
- Gargantini, G.; Cundiff, L.V.; Lunstra, D.D. et al. Genetic relationships between male and female reproductive traits in beef cattle. The Professional Animal Scientist v. 21, p. 195 - 199, 2005.
- Gomes de Lima L, Balbino de Souza NO, Rios RR, Araújo de Melo B, Alves dos Santos LT, Silva KDM, Murphy TW, Fraga AB. Advances in molecular genetic techniques applied to selection for litter size in goats (*Capra hircus*): a review, Journal of Applied Animal Research. 2020;48(1):38-44.
- Gregory KE, Echternkamp SE, Dickerson GE, Cundiff LV, Koch RM. Twinning in cattle. In: Proc. VI World Conf. on Anim. Prod. 1988;481.

- Gregory KE, Echternkamp SE, Dickerson GE, Cundiff LV, Koch RM, Van Vleck, LD. Twinning in cattle: I. Foundation animals and genetic and environmental effects on twinning rate. J. Anim. Sci. 1990a;68:1867-1876.
- Gregory KE, Echternkamp SE, Cundiff LV. Effects of twinning on dystocia, calf survival, calf growth, carcass traits, and cow productivity. J. Anim. Sci. 1996;74:1223-1233.
- Gregory KE, Bennett GL, Van Vleck LD, Echternkamp SE, Cundiff LV. Genetic and environmental parameters for ovulation rate, twinning rate, and weight traits in a cattle population selected for twinning. J. Anim. Sci. 1997;75:1213-1222.
- Gomes de Lima L, Balbino de Souza NO, Rios RR, Araújo de Melo B, Alves dos Santos LT, Silva KDM, Murphy TW, Fraga AB. Advances in molecular genetic techniques applied to selection for litter size in goats (*Capra hircus*): a review, Journal of Applied Animal Research. 2020;48:(1):38-44.
- Gonda MG, Arias JA, Shook GE, Kirkpatrick BW. Identification of an ovulation rate QTL in cattle on BTA14 using selective DNA pooling and interval mapping. Anim. Genet. 2004;35:298-304.
- Hadgu A, Fesseha H. Reproductive biotechnology options for improving livestock production: A review. Adv. Food Technol. Nutr. Sci Open J. 2020;6(1):13-20.
- Hanrahan JP, Grogan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, Galloway SM. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in cambridge and belclare sheep (*Ovis aries*). Biol. Reprod. 2004;70:900–909.

- Iwata H, Hayashi T, Terakami S, Takada N, Sawamura Y, Yamamoto T. Potential assessment of genome-wide association study and genomic selection in Japanese pear *Pyrus pyrifolia*. *Breed. Sci.* 2013;63:125–140.
- Juengel JL, O'connell AR, French MC, Proctor LE, Wheeler R, Farquhar PA, Dodds KG, Galloway SM, Johnstone PD, Davis GH. Identification of a line of sheep carrying a putative autosomal gene increasing ovulation rate in sheep that does not appear to interact with mutations in the transforming growth factor beta superfamily. *Biol. Reprod.* 2011;85:113–120.
- Juengel JL, French MC, O'connell AR, Edwards SJ, Haldar A, Brauning R, Farquhar PA, Dodds KG, Galloway SM, Johnstone PD, Davis GH. Mutations in the leptin receptor gene associated with delayed onset of puberty are also associated with decreased ovulation and lambing rates in prolific Daisdale sheep. *Reprod. Fertil. Dev.* 2016;28:1318–1325.
- Kamalludin MH, Garcia-Guerra A, Wiltbank M, Kirkpatrick BW. Trio, a novel high fecundity allele: I. Transcriptome analysis of granulosa cells from carriers and non-carriers of a major gene for bovine ovulation rate. *Biol. Reprod.* 2018;98:323-334.
- Kappes SM, Bennett GL, Keele JW, Echternkamp SE, Gregory KE, Thallman RM. Initial results of genomic scans for ovulation rate in a cattle population selected for increased twinning rate. *J. Anim. Sci.* 2000;78:3053-3059.
- Kim ES, Shi X, Cobanoglu O, Weigel K, Berger PJ, Kirkpatrick BW. Refined mapping of twinning-rate quantitative trait loci on bovine chromosome 5 and analysis of insulin-like growth factor-1 as a positional candidate gene. *J. Anim. Sci.* 2009a;87:835-843.

- Kirkpatrick BW, Morris CA. Discovery of a major gene for bovine ovulation rate. *Biology of Reproduction*. 2011;85(1):419.
- Kirkpatrick BW, Morris CA. A major gene for bovine ovulation rate. *PLoS ONE*. 2015;10:e0129025.
- Koopae HK, Koshkoiyeh AE. SNPs genotyping technologies and their applications in farm animals breeding programs: Review. *Braz. Arch. Biol. Technol*. 2014;57(1): 87-95.
- Lien S, Karlsen A, Klemetsdal G, Vage DI, Olsaker I, Klungland H, Aasland M, Heringstad B, Ruane J, Gomez-Raya L. A primary screen of the bovine genome for quantitative trait loci affecting twinning rate. *Mamm. Genome*. 2000;11:877-882.
- McCaughe WJ, Dow C. Hormonal induction of twinning in cattle. *Vet. Rec*. 1977;100:29-30.
- McNatty, KP, Juengel JL, Wilson T, Galloway SM, Davis GH. Genetic mutations influencing ovulation rate in sheep. *Reproduction, Fertility and Development*. 2001.;13:549-555.
- Miao X, Luo Q, Zhao H, Qin X. Genome-wide analysis of miRNAs in the ovaries of Jining Grey and Laiwu Black goats to explore the regulation of fecundity. *Sci. Rep*. 2016;6: 379-383.
- Montgomery GW, McNatty KP, Davis GH. Physiology and molecular genetics of mutations that increase ovulation rate in sheep. *Endocr. Rev*. 1992;13:309-328.
- Montgomery GW, Crawford AM, Penty JM, Dodds KG, Ede AJ, Henry HM, Pierson CA, Lord EA, Galloway SM, Schmack AE, Sise JA, Swarbrick PA, Hanrahan V, Buchanan FC, Hill DF. The ovine Booroola fecundity

- gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Nat. Genet.* 1993;4:410–414.
- Morris, CA, Day AM. Ovulation results from cattle herds with high twinning frequency. *Proceedings 3rd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.* Lincoln, Nebraska, USA: 1986. P.96-100
- Morris CA, Wheeler M, Levet GL, Kirkpatrick BW. A cattle family in New Zealand with triplet calving ability. *Livestock Science.* 2010;128:193–196.
- Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lanneluc I, Pisselet C, Riquet J, Monniaux D, Callebaut I, Cribiu E, Thimonier J et al. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proc Natl. Acad. Sci.* 2001;98:5104–5109.
- Notter D.R. Genetic aspects of reproduction in sheep. *Reproduction in Domesticated Animals.* 2008;43:122-128.
- Piper LR, Bindon BM, Davis GH. The single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino. In *Genetics of Reproduction in Sheep.* Eds RB Land and DW Robinson. Butterworths, London, 1985;115-125.
- Pramod KR, Sharma SK, Kumar R, Rajan A. Genetics of ovulation rate in farm animals. *Veterinary World.* 2013; 6(11):833-838.
- Rutledge JJ. Twinning in cattle. *J. Anim. Sci.* 1975. ;40, 803-815.
- Ryan DP, Boland MP. Frequency of twin births among Holstein-Friesian cows in a warm dry climate. *Theriogenology.* 1991;36:1-10.

- Sahana G, Guldbrandtsen B, Bendixen C, Lund, MS. Genomewide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Anim. Genet.* 2010; 41, 579–588.
- Sarybayev Y, Ussenbekov Y, Turebekov O, Turumbetov B, Tutkyshbay I. Genotyping of cows by LHCGR, FSHR loci, and determination of the level of ovulation depending on the expression of the studied genes. *Open Vet J.* 2023 Mar;13(3):352-357.
- Sax K. The Association of Size Differences with Seed-Coat Pattern and Pigmentation in *Phaseolus Vulgaris*. *Genetics.* 1923;8:552-560 .
- Sharmaa A, Lee JS, Dang CG, Sudrajad P, Kim HC, Yeon SH, Kang HS, Lee SH. Stories and challenges of genome wide association studies in livestock — A review. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2015;28:1371-1379. 10.5713/ajas.14.0715.
- Sreenan JM, Diskin MG. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 1989;87:657–664.
- Soller M, Beckmann JS. Cloning quantitative trait loci by insertional mutagenesis. *Theor. Appl. Genet.* 1987;74:369–378.
- Souza C. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene. *J. Endocrinol.* 2001;169:1–6.
- Tobar KMC, Alvarez DCL, Franco LAA. Genome-wide association studies in sheep from Latin America. *Review. Rev. Mex. Cienc. Pec.* 2020;11(3):859 -883.

- Van Vleck LD, Gregory KE, Echternkamp SE. Ovulation rate and twinning rate in cattle: heritabilities and genetic correlation. *J. Anim. Sci.* 1991;69:3213-3219.
- Van Vleck LD, Gregory K.E. Genetic trend and environmental effects in a population of cattle selected for twinning. *Journal of Animal Science.* 1996;74, 522–528.
- Verardo LL, Silva FF, Lopes MS, Madsen O, Bastiaansen JWM, Knol EF, Kelly M, Varona L, Lopes PS, Guimarães SEF. Revealing new candidate genes for reproductive traits in pigs: combining Bayesian GWAS and functional pathways. *Genet. Sel. Evol.* 2016;Feb 1:48:9.
- Vinet A, Touze´ JL, Bichot R, Hestault O, Bellayer C, Boussaha M, Fritz S, Guillaume F, Sapa J, Bodin L, Phocas F. Genomewide scan for bovine ovulation rate using dense SNP map. 9th World Congress on Genetics Applied Livestock Production, 1–6 August 2010; Leipzig, Germany: 2010.
- Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymorphism chain reaction. *Amer. J. Human Genetics.* 1989;44:388-396.
- Widmer S, Seefried FR, von Rohr P, Hafliger IM, Spengler M, Drogemuller C. A major QTL at the LHCGR/FSHR locus for multiple birth in Holstein cattle. *Genet Sel Evol.* 2021 53:57.
- Wilson T, Wu XY, Juengel JL, Ross IK, Lumsden JM, Lord EA, Dodds KG, Walling GA, McEwan JC, O’Connell AR, McNatty KP, Montgomery GW. Highly prolific Booroola Sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that

is expressed in both oocytes and granulosa cells¹.
Biology of Reprod. 2001;64:1225–1235.

Zhang H, Zhipeng Wang Z, Wang S, Li H. Progress of genome wide association study in domestic animals. Journal of Animal Science and Biotechnology. 2012;3(1):26.

ANATOMY OF THE ARTICULATIO GENUS IN ANIMALS¹

Semine DALGA¹

1. INTRODUCTION

Articulatio genu; It is a joint formed between the distal os femur, the proximal os tibia and the patella. It covers two joints. Articulatio femorotibialis joints occur between the femur and tibia, and articulatio femoropatellaris joints occur between the femur and patella (Dursun 2006, Bahadır and Yıldız 2012). Incongruent ginglymus style is a type of joint joint. The basic movements of the condylar joint are flexion, extention and, to a lesser extent, rotation (König-Liebich 2018).

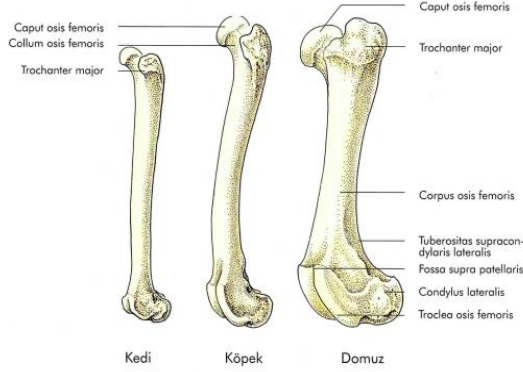
2. BONE STRUCTURE OF THE ART. GENUS

Femur is the thickest and longest bone of the skeletal bones. It is examined in three parts, just like long bones. These parts are the upper end, the body and the lower end (Dursun 2006). The os femur is the strong and strong one among the long bones. It has four sesame bones. The largest sesame bone is the patella (König-Liebich 2018). The femur is central to posture and kinetic function. Its surface has various prominent protrusions and grooves for strong tendons and muscles to attach to. It generally consists of three main parts (Reece 2012). The extremitas proximalis (upper end) is generally flat and has a sphere-shaped caput ossis femoris (femoral head) covered with

¹ Assoc. Prof., Kafkas University, Faculty of Veterinary, Anatomy, seminedalga@kafkas.edu.tr, ORCID: 0000-0001-7227-2513.

articular cartilage. The caput ossis femoris articulates with the acetabulum and its direction is directed medially and upward (Dursun 2006).

Figure 1. Femur Of Cat, Dog and Pig (Cranio-Lateral View)



Source: (König- Liebich 2018).

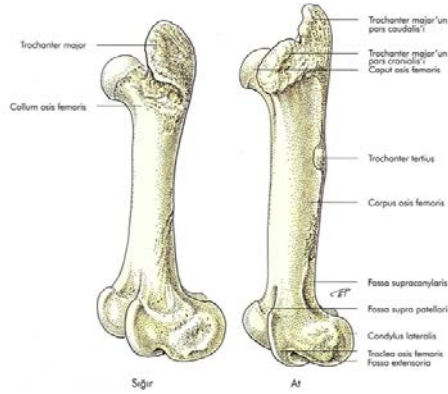
Corpus ossis femoris (femoral body); Caudal to the middle part is the 'facies aspera', a rough surface whose borders are determined from the sides by the labium laterale et mediale (Reece 2012). The musculus pectineus attaches to the medial labium, and the musculus adductor attaches to the lateral labium. These labia expand distally, forming the facies poplitea (König-Liebich 2018). Facies poplitea is a flat, wide and triangular area (Dursun 2006).

Caudal to the extremitas distalis (lower end), it is divided into two parts: condylus lateralis and condylus medialis. In its cranial part, there is trochlea ossis femoris (Reece 2012). Condylus are connected to the proximal part of the tibia and the menisci in the articulatio femurotibialis. There is fossa intercondylaris between the condylus medialis and lateralis and is separated from the facies poplitea by the linea interconylaris. The abaxial joint surfaces of the condylus have attachment surfaces for the collateral ligaments of the knee joint (König-Liebich 2018).

Each condylus has distinct bulges called epicondylus on the proximal side of its outer surface, which are used for ligament adhesion. These are called epicondylus medialis and epicondylus lateralis. Each condylus has a specific articular surface on its upper surface where a special sesame bone fits, found only in carnivores. These joint surfaces are called facies articularis sesamoidea medialis and facies articularis sesamoidea lateralis (Singh, 2018).

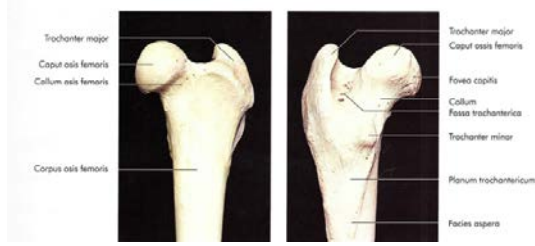
Especially in Equide, two depressions are seen more clearly in the condylus lateralis. The musculus extensor digitorum longus and musculus fibularis (musculus peroneus tertius) originate from the cranial depression fossa extensoria. The popliteal muscles originate from the caudal fossa musculi poplitei. There are articular surfaces for the fabella (ossa sesamoidea musculi gastrocnemii) on the caudal surfaces of both condylus. Both sesame bones are embedded in the tendon of the gastrocnemius musculus (König-Liebich 2018).

Figure 2. Femur of Cattle and Horse (Craniolateral View)



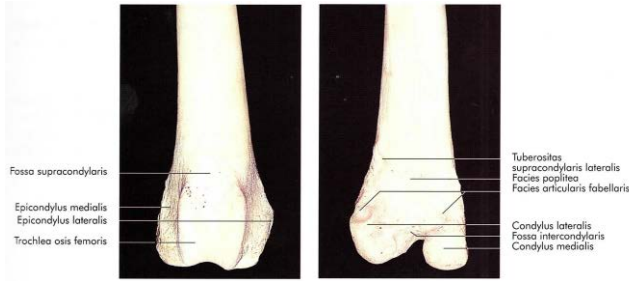
Source: (König-Liebich 2018)

Figure 3. Extremitas Proximalis of the Left Femur in s Dog (Cranial and Caudal View)



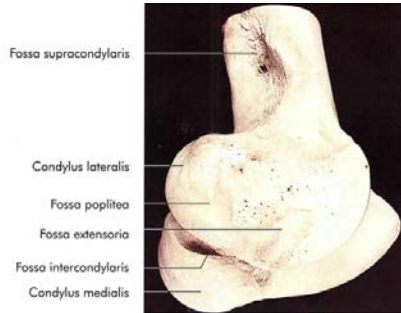
Source: (König-Liebich,2018)

Figure 4. Extremitas Distalis of the Left Femur in a Dog (Cranial and Caudal View)



Source: (König-Liebich,2018)

Figure 5. Extremitas Distalis of The Horse's Right Femur (Disto Lateral View)



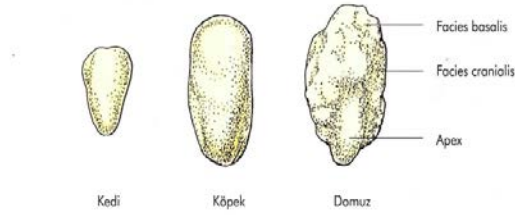
Source: (König-Liebich 2018)

In the horse femur, the trochanter major is divided into incisura trochanterica and into two parts: pars cranialis and pars caudalis. Trochanter minor has a long and sharp crista. There is the trochanter tertius on the lateral side in the middle 1/3 of the length of the femur. Fossa supracondylaris is very deep (Dursun 2006, Demiraslan and Dayan 2021). In the bovine femur, the trochanter major is in one piece. The fovea capitis is very small and shallow. Fossa supracondylaris is shallow. Trochanter minor is a round swelling (Dursun 2006, Demiraslan and Dayan 2021). The pig femur is a very thick bone. Trochanter minor is a flattened, wide swelling. The corpus appears as a four-cornered structure in its transverse section. In place of the fossa supracondylaris, there is tuberositas supracondylaris (Bahadır and Yıldız 2012). In the femur of sheep and goats, the trochanter major slightly exceeds the level of the caput ossis femoris. Fossa supracondylaris is present. In the dog's femur, the trochanter major is at the level of the caput ossis femoris. There is a tuberositas supracondylaris in place of the fossa supracondylaris. Each condylus has a special articular surface on its upper surface for the articulation of sesame bones, that is, ossa sesamoidea musculus gastrocnemii. The articular surfaces of sesame bones are facies articularis sesamoidea lateralis and facies articularis sesamoidea medialis (Dursun 2006, Bahadır and Yıldız 2012).

Patella is the largest sesame bone. It is embedded within the musculus quadriceps femoris. Facies articularis faces the femur. Its front side (facies cranialis) faces cranially and is palpated under the skin (König-Liebich 2018). Patella is a flat bone located in front of the trochlea ossis femoris and connected to it with a joint (Dursun,2006). Patella has two parts: basis patellae and apex patellae (Dursun 2006, Bahadır and Yıldız 2012). The base of the patella is proximal and is rough for the adhesion of the muscles. Apex patella is located distally. In horses

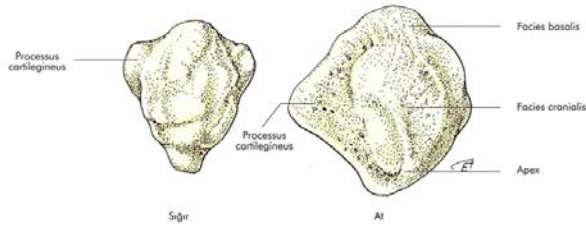
and cattle, it has a protrusion (fibrocartilago patellaris medialis) that extends medially (König-Liebich 2018).

Figure 6. Cat, Dog and Pig Patella



Source: (König-Liebich,2018)

Figure 7. Cattle and Horse Patella



Source: (König-Liebich,2018)

Figure 8. Radiograph of the Articulatio Genu in the Dog (Cranio-Caudal View)



Figure 9. Radiograph of the Right Articulatio Genus in a Young Dog (Medio-Lateral View)



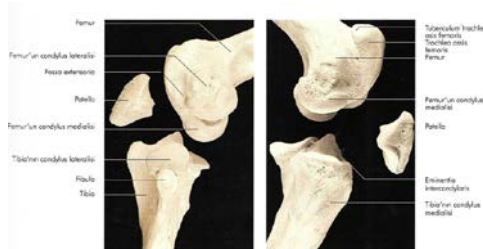
Source: (König-Liebich,2018)

Figure 10. Dog's Right Articulatio Genus (Cranial and Caudolateral View)



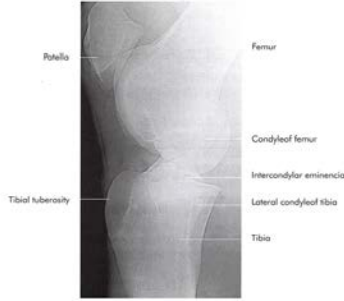
Source: (König-Liebich,2018)

Figure 11. Extremitas Distalis of the Horse's Left Femur, Extremitas Proximalis of the Patella and Tibia (Medial and Lateral View)



Source: (König-Liebich,2018)

Figure 12. Radiography Of The Horse's Knee Joint (Medio-Lateral View)



Source: (König-Liebich,2018)

The proximal part of these bones joins the knee joint (Bahadır and Yıldız 2012). Ossa cruris corresponds to the skeleton antebrachii in the front leg. There are two bones in this group. The medial bone is the tibia, and the lateral bone is the fibula. The two bones together are called ossa cruris (Singh, 2018). These bones are not as strong as the front leg bones. The tibia bone is stronger than the fibula. The fibula is located on the outer side of the tibia and does not articulate with the femur proximally. For this reason, the tibia carries the entire body weight. The fibula is more shortened than the ulna in the front leg. In ruminants, the fibula is completely connected to the tibia at the distal end, although the proximal part is a separate bone in the equid. In Carnivore, the fibula and tibia are the same length (König-Liebich 2018, Bahadır and Yıldız 2012).

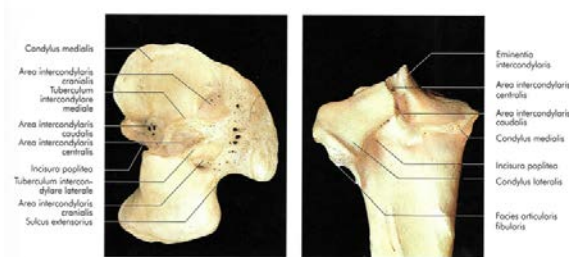
The proximal part of the tibia bone largely participates in the structure of the knee joint. In the extremitas proximalis, there are surfaces for the attachment of the femur's condylus, meniscus and ligaments. It is divided into three parts. Extremitas proximalis, extremitas distalis and corpus tibiae (König-Liebich 2018, Dyce 2018). The os is the longest bone in the body after the femur. It is located on the medial side of the hind leg. It articulates

with the femur proximally and with the ossa tarsi distally (Singh, 2018).

Extremitas proximalis is three-sided and has two condylus. Caudally, it is interrupted by the incisura poplitea, where the popliteal muscle is located. On the surface of each condylus, there are surfaces that articulate with the distal fibrocartilaginous surfaces of the condylus femoralis and menisci. The eminentia intercondylaris, located between the articular surfaces of the condylus, is divided into the tuberculum intercondylare mediale, which is higher in the medial, and the tuberculum intercondylare laterale, which is higher in the lateral, through the area intercondylaris centralis in the middle. There are pits (area intercondylares cranialis et caudales) for the adhesion of ligaments in the cranial and caudal parts of Eminentia intercondylaris. On the outer surface of the tuberculum intercondylare laterale, there is the articular surface for the proximal part of the fibula (Bahadır and Yıldız 2012, Dyce 2018, Demiraslan and Dayan 2021).

In ruminants, fibula remains fuse with this joint surface. The deep cleft (sulcus extensorius) in the cranio-lateral is where the musculus extensor digitorum longus passes (König-Liebich 2018).

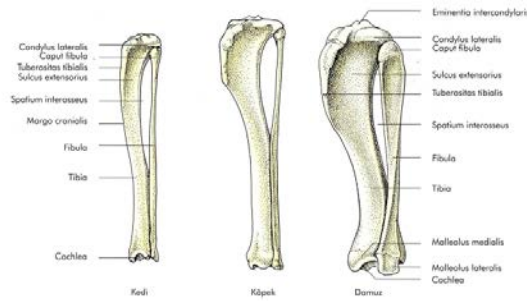
Figure 13. Extremitas Proximalis (Medial And Caudal) of the Horse's Right Tibia



Source: (König-Liebich 2018).

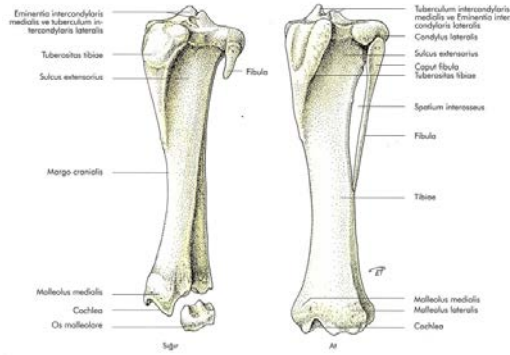
It is a thin, long bone located lateral to the tibia. Although it is fully present in some species, it has atrophied in others. It is literally found only in pigs and carnivores (Dursun 2006, Bahadır and Yıldız 2012). It consists of fibula, caput fibula, collum fibulae, corpus fibulae and distal malleolulus lateralis. The fibula undergoes reduction during development at varying rates depending on species. In pigs and carnivores, its length does not change, but its durability and function decrease (Bahadır and Yıldız 2012). The fibula is separated from the tibia by the spatium interosseum cruris. This gap, which is closed by soft tissue, varies according to species. It is limited throughout in pigs and proximally in carnivores. It courses lateral to the fibula and tibia. It is separated from each other by cranial and caudal muscle groups (Singh 2018). Caput fibula articulates with the condylus lateralis of the tibia (König-Liebich 2018). In ruminants, the corpus fibula is completely reduced. Extremitas proximalis fuses with the tibia. It consists of a separate bone called extremitas distalis os malleolare. In the horse, only the proximal part of the fibula remains separate. The caput fibula articulates with the tibia and disappears towards the middle of the leg. Extremitas distalis is completely united with the tibia (Dursun 2006, Demiraslan and Dayan 2021).

Figure 14. Left Fibula of Cat, Dog and Pig (Cranio-lateral View)



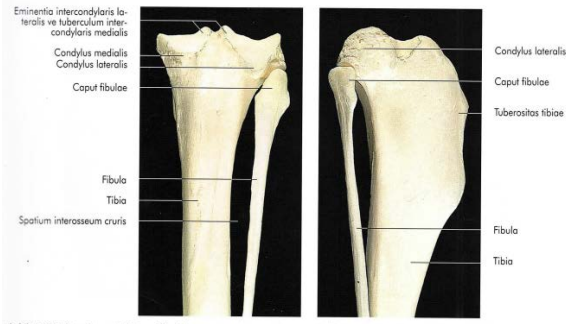
Source: (König-Liebich 2018)

Figure 15. Left Tibia and Fibula of Cattle and Horse (Cranio-Lateral View)



Source: (König-Liebich 2018)

Figure 16. Extremitas Proximalis (Caudal And Cranio-Lateral View) of the Dog's Right Tibia And Fibula



Source: (König-Liebich 2018).

3. CARTILAGE STRUCTURE IN THE KNEE JOINT (ARTICULATIO GENUS)

It is a type of joint formed by the participation of femur, tibia and patella. Incongruent ginglymus style is a joint formed by several bones. It consists of two joints. It is articulatio femorotibialis between the femur and tibia, and articulatio

femoropatellaris between the femur and patella (Dursun 2006, König-Liebich 2018).

3.1.Ariculatio Femorotibialis

It is the joint formed between the proximal of the Tibia and the condylus structures of the Femur. Meniscus articularis are placed between the tibia and femur condyles to form a complete joint between the bones. Menisci are in the form of a fibrocartilaginous formation with a semilunar structure, with thin concave edges and thick convex edges. The menisci have a concave proximal face that adapts to the condyles of the femur bone and a flattened distal face facing the tibia (König-Liebich 2018). The meniscus lateralis is more rounded than the medial meniscus. The medial meniscus is crescent-shaped and wider than the lateral meniscus (Dursun 2006, Bahadır and Yıldız 2012). The anterior ends of both meniscus are connected to each other by a ligament called ligamentum transversum genus. The joint capsule has a large volume. It attaches proximally to the edges of the articular surfaces of the femur, distally to the articular surfaces of the tibia, and also to the convex edges of the menisci. Membrana synovialis forms two lateral and medial sacs belonging to the femoral and tibia condyles. Both sacs are divided into two by the meniscus. However, these two parts are as a whole in the central part of the meniscus. The posterior part of the joint capsule is strengthened by a fibrous ligament extending between the posterior surface of the lower end of the femur and the medial condyle of the tibia. This ligament, consisting of crossed threads, is pierced by many small veins. On the back side of the joint capsule, vertical arteria and venae poplitea course (Singh 2018, Bahadır and Yıldız 2012). The basic movement of the articulatio femorotibialis joint is the flexion and extension movement around a transverse axis passing through the condyles of the femur. It also rotates to a limited extent (Dursun 2006).

3.1.1. Joint Ligaments

It consists of two groups: meniscus ligaments and joint ligaments.

3.1.1.1 Meniscus ligamentum: It consists of ligamentum tibiale craniale menisci lateralis et medialis, ligamentum tibiale caudale menisci lateralis et medialis, ligamentum meniscofemorale, ligamentum transversum genus ligaments.

3.1.1.2 Femorotibial joint ligamentum: It consists of ligamentum collaterale laterale et mediale, ligamentum collaterale mediale (tibiale), ligamenta cruciata genus, ligamentum cruciatum craniale ligaments.

3.1.1.1.Meniscus Ligaments

Each meniscus is connected to the proximal part of the tibia by cranial and caudal ligaments. It is also connected to the distal femur with the lateral meniscus ligamentum meniscofemorale (Arıcan 2012).

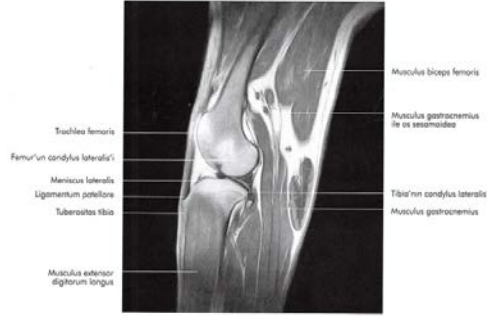
3.1.1.1.1 Ligamentum tibiale craniale menisci lateralis et medialis: Lateral and medial ligaments extend from the cranial part of each meniscus to the area intercondylaris cranial lateralis and medialis of the tibia (König-Liebich 2018).

3.1.1.1.2 Ligamentum tibiale caudale menisci lateralis et medialis: The lateral ligament extends from the caudal angle of the meniscus lateralis to the incisura poplitea of the tibia, and the medial ligament extends from the caudal angle of the meniscus medialis to the area intercondylaris caudalis of the tibia (König-Liebich 2018).

3.1.1.1.3 Ligamentum meniscofemorale: It attaches to the inner part of the condylus medialis of the femur from the caudal angle of the meniscus lateralis (König-Liebich 2018).

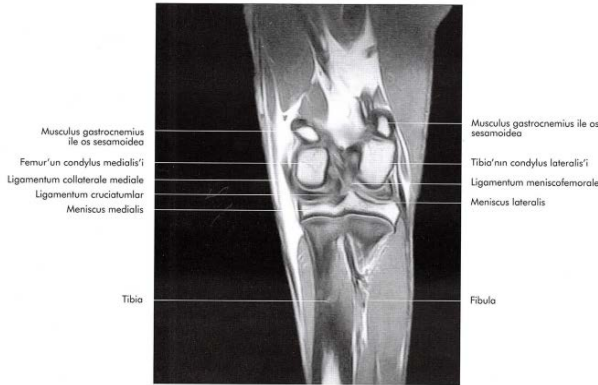
3.1.1.1.4 Ligamentum transversum genus: It connects the cranial angles of both meniscus in some cattle species and carnivores (König-Liebich 2018).

Figure 17. Articulatio Genus of the Dog (Magnetic Resonance Imaging T1 Weighting, Sagittal Section)



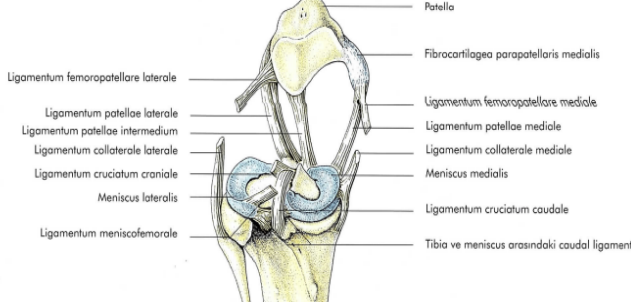
Source: (König-Liebich 2018)

Figure 18. Articulatio Genus of the Dog (Magnetic Resonance Imaging T1 Weighting, Coronal Cutting)



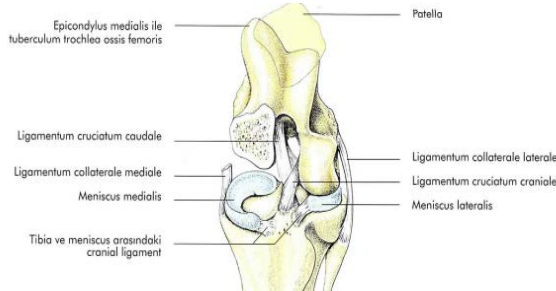
Source: (König-Liebich 2018).

Figure 19. Left Articulatio Genus Ligaments of the Horse After Removal of the Distal Part of the Femur (Schematic, Caudal View)



Source: (König-Liebich 2018).

Figure 20. Left Articulatio Genus Ligaments of the Horse After Removal of the Condylus Medialis in the Distal Femur (Schematic, Cranial View)



Source: (König-Liebich, 2018).

3.1.1.2.Femorotibial Joint Ligaments

3.1.1.2.1 Ligamentum collaterale laterale et mediale:

Ligamentum collaterale laterale (fibulare): The short branch originates from the epicondylus lateralis of the femur and connects to the condylus lateralis of the tibula, and the long branch connects to the caput fibulae (Arıcan 2012).

Ligamentum collaterale mediale (tibiale): It extends between the epicondylus medialis of the femur and the rough distal edge of the condylus medialis of the tibia. This ligament connects the meniscus medialis and the joint capsule (König-Liebich 2018).

3.1.1.2.2 Ligamenta cruciata genus: These are the cross ligaments located in the fossa intercondylaris of the femur, between the two synovial sacs of the articulatio femorotibialis (König-Liebich 2018).

Ligamentum cruciatum craniale: It originates from the inner part of the condylus lateralis of the femur and courses craniodistally, ending in the area intercondylaris centralis of the tibia (König-Liebich 2018).

Ligamentum cruciatum caudale: It originates from the inner part of the condylus medialis of the femur and courses caudodistally, ending in the incisura poplitea of the tibia (König-Liebich 2018).

3.1.1.2.3 Ligamentum popliteum obliquum: It consists of fibrous strands running from lateroproximal to medio-distal within the capsule articularis (König-Liebich 2018).

3.2.Articulatio Femoropatellaris

It is the joint formed between the femur and patella. It is a simple (simplex) joint according to the number of bones participating in the formation of the joint, and a delabens (sled) joint in terms of function. The joint capsule is wide. It surrounds the condyles of the femur and the borders of the patella. The joint cavity, especially in horses and cattle, participates in an inconstant manner with the medial and lateral sacs shaped by the joint capsule of the articulatio femorotibialis (König-Liebich, 2018).

3.2.1. Joint Ligaments

3.2.1.1 Ligamenta patellae: It is the ligament extending between the tibia and patella. It plays an important role in transmitting the movement from the femoral region to the tibia and therefore takes part in locomotion. Especially the equide plays a very important role in the statics of the leg. It is unique in humans, pigs, small ruminants and carnivores. In equides and ruminants it corresponds to the ligamentum patellae intermedium, it is simply called ligamentum patellae. In equid and large ruminants, there are three ligamentum patellae mediale, ligamentum patellae intermedium and ligamentum patellae laterale (König-Liebich 2018).

3.2.1.1.1 Ligamentum patellae mediale: It is located between the medial part of the patella and the medial part of the tuberosity tibiae. It is an oblique and long ligament (König-Liebich 2018).

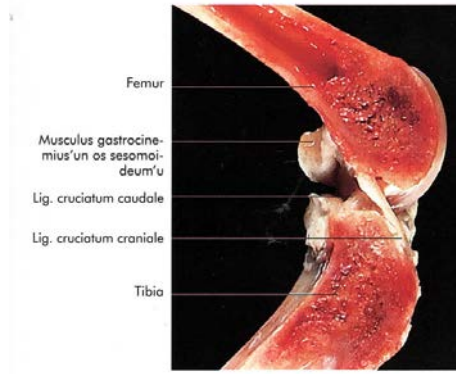
3.2.1.1.2 Ligamentum patellae intermedium: It is a ligament extending between the apex and sides of the patella and the tuberosity tibiae. Particularly the middle part fibers of the musculus quadriceps femoris also participate in the structure of this ligament (König-Liebich 2018). Under the liggametum patellae intermedium, there is the bursa infrapatellaris proximalis and bursa infrapatellaris distalis. There is also a fat layer called corpus adiposum infrapatellare between this ligament and the pattela (König-Liebich 2018).

3.2.1.1.3 Ligamentum patellae laterale: It is a short ligament that extends between the lateral part of the patella and the tuberosity tibiae.

3.2.1.2 Ligamentum femoropatellare laterale: It is the ligament that connects the os patella to the os femur. It originates near the beginning of the ligamentum collaterale laterale. It attaches to the lateral angle of the patella (König-Liebich 2018).

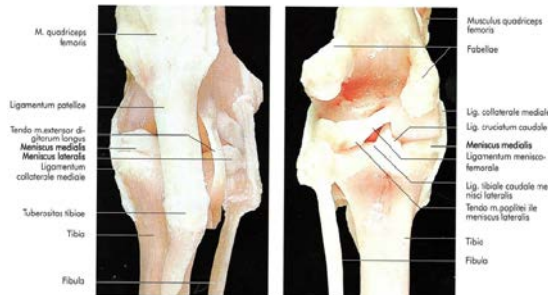
3.2.1.3 Ligamentum femoropatellare mediale: It is the ligament that connects the os patella to the os femur. The os lies between the medial ligament protrusion of the femur and the medial part of the patella (Arıcan 2012). The lateral ligaments that connect the patella and the femur bone are wide and thin in ruminants. In pigs, they extend to the collateral ligaments and are very strong. In the dog, they are thin and long ligaments (König-Liebich 2018).

Figure 21. Ligamentum Cruciata Of The Cat (Para Median Section)



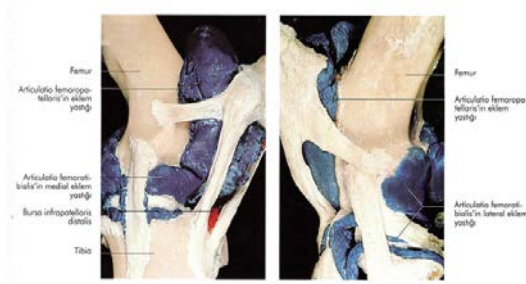
Source: (König- Liebich, 2018).

Figure 22. Left Articulatio Genus Ligaments Of The Dog (Cranial And Caudal View)



Source: (König-Liebich 2018).

**Figure 23. Caste Of The Left Articulatio Genus Of The Horse
(Median And Lateral View)**



Source: (König-Liebich, 2018).

3.3.Articulatio Tibiofibularis

Articulatio tibiofibularis may differ between species depending on the reduction of the fibula (Singh 2018). In carnivores, there are articulatio tibiofibularis distalis and proximalis between the fibula and tibia. There is a syndesmosis-style joint between the tibia and fibula. The membrane between the two bones is filled by the interossea cruris (König-Liebich 2018). The articulatio tibio fibularis proximalis space is connected to the articulatio femorotibialis lateralis in all domestic mammals. The articulatio tibiofibularis distalis is connected to the articulatio tarsocruralis, except for the horse. In ruminants, there is no articulatio tibiofibularis proximalis because the caput of the fibula meets the lateral condylus of the tibia. Articulatio tibiofibularis distalis is formed with the participation of malleus lateralis and the distal part of the fibula (Singh 2018). Horses have only articulatio tibio fibularis. Because the distal part of the fibula is fused to the tibia to form the malleolus lateralis (König-Liebich 2018).

The fact that the articulatio genus, which is the largest joint of the body, is extremely exposed to trauma and is unprotected at this rate, very strong tendons pass through the region, the presence of bursae under these beams, and the

presence of menisci between the joint surfaces to ensure harmony of the joint surfaces, reveals make the clinical importance of the region clear (Dursun 2008).

REFERENCES

- Arıcan M: Veteriner Genel Radyoloji ve Kedi Köpek için Tanısal Radyografi Atlası. Cilt II. Bahçivanlar Basım, Konya. 2012.
- Bahadır A, Yıldız H: (2012). Veteriner Anatomi, Hareket Sistemi ve İç organlar, Genişletilmiş 4. Baskı, Ezgi kitapevi, 2012.
- Çaptuğ Ö: Köpeklerde Ön Çapraz Bağ Kopuklarının Sağaltımında Tuberositas Tibiae'yi Öne Taşıma Tekniğinin Klinik ve Radyolojik Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009
- Demiraslan Y, Orhun Dayan, M: (2021). Veteriner Sistematik Anatomi, Atlas Kitabevi, 1. Basım Mayıs, Ankara.
- Dursun N: (2008). Veteriner Topografik Anatomi, Medisan yayınevi, Ankara, pp: 163.
- Dursun N: Veteriner Anatomi I. Arka Ekstremit Eklemleri. 12. Baskı, Medisan Yayıncılık, Ankara 2006.
- Dyce K.M, Sack W.O., Wensing, C.J.G: (2018). Textbook of Veterinary Anatomy, 4th edition, Elsevier, 811-812.
- König H.E, Liebich H.G: Systema Digestorium. In: König H.E, Liebich H.G(Eds): Veterinary Anatomy of Domestic Mammals, 6th ed. Medipres, Malatya. p. 307-376, 2021.
- Reece WO: Evcil Hayvanların Fonksiyonel Anatomisi ve Fizyolojisi. 4th ed. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara. p. 378, 2012.

Singh B: Dyce, Sack and Wensing's Textbook of Veterinary Anatomy. 5th ed. Saunders, Philadelphia. p. 680-696, 2018.

TEORİ VE UYGULAMADA VETERİNERLİK KONULARI



YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com

ISBN: 978-625-6524-79-8

