

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**HOLSTEİN IRKI SIĞIRLARDA BAZI GENETİK BELİRTEÇLERİN SÜT VERİMİ
ve BÜYÜME PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Proje No: FCD-2013-4640

Proje Türü

Çok Disiplinli Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Jale METİN KIYICI

Ziraat Fakültesi/Zootekni Bölümü

Araştırmacının Adı Soyadı

Bilal AKYÜZ-Veteriner Fakültesi/Genetik ABD

Mehmet Ulaş ÇINAR-Ziraat Fakültesi/Zootekni Bölümü

Korhan ARSLAN-Veteriner Fakültesi/ Genetik ABD

Mahmut KALİBER-Ziraat Fakültesi/Zootekni Bölümü

Esma Gamze İLGAR-Veteriner Fakültesi/ Genetik ABD

Mart 2017

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Araştırma projesi olarak yürütülen bu çalışmada araştırma konusunun belirlenmesinde ve konunun planlanıp yürütülmesinde emek veren çok değerli proje ekibine,

Araştırmanın saha aşamasında çiftliğin her türlü imkanlarından faydalanmamızı sağlayan Develi Saray Tarım ve Hayvancılık İşletmesi yönetici ve çalışanlarına,

Araştırmayı FCD-2013-4640 nolu proje olarak kabul ederek 79.446,95 TL'lik maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne ve birim çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Yrd. Doç. Dr. Jale METİN KIYICI

Mart 2017

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	6
ABSTRACT	7
1. GİRİŞ	8
1.1. Büyüme Hormonu (<i>GH</i>)	9
1.2. Leptin (<i>LEP</i>)	10
1.3. Yağ Asidi Bağlayıcı Protein 4 (<i>FABP4</i>)	10
1.4. Myogenin Faktör 5 (<i>MYF5</i>)	11
1.5. Toll-Like Reseptör 4 (<i>TLR4</i>)	11
1.6. Nuclear Receptor Subfamily 1, Group H, Member 3 (<i>NR1H3</i>)	12
1.7. Stearoyl-CoA Desaturase (<i>SCD</i>)	12
1.8. Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü Geni (<i>STAT5A</i>)	13
1.9. İnterlökin-10 (<i>IL-10</i>) ve İnterlökin-10 Reseptör (<i>IL-10R</i>)	13
1.10. Yağ Asid Senteaz (<i>FASN</i>)	14
1.11. Myostatin (<i>MSTN</i>)	14
2. MATERYAL ve YÖNTEM	16
2.1. Hayvan Materyali	16
2.2. Yem Materyali, Barındırma ve Yemleme	16
2.3. Sağım Uygulamaları, Süt Örneklerinin Alınması ve Süt Analizleri	16
2.4. Buzağılarda Büyüme Performansına Ait Ölçümlerin Alınması	17
2.5. İstatistik Analizler	18
2.6. Kan Örneklerinin Alınması, DNA İzolasyonu, PCR-RFLP ve Sekans Analizi Bireylerin Genotiplerinin Belirlenmesi	18
3. BULGULAR	22
3.1. Genotip ve Allel Frekansları	22
3.1.1. <i>GH</i> geni	22
3.1.2. <i>MYF5</i> geni	22
3.1.3. <i>FABP4</i> geni	23
3.1.4. <i>STAT5A</i> geni	24
3.1.5. <i>NR1H3</i> geni	25

3.1.6. <i>LEP</i> geni	26
3.1.7. <i>SCD</i> geni	27
3.1.8. <i>FASN</i> geni	28
3.1.9. <i>TLR4</i> geni.	29
3.2. Buzağlarda Büyüme Performansına Ait Bulgular	31
3.3. Süt Verimi ve Kompozisyonuna Ait Bulgular	34
3.4. Sekans Analizlerine Ait Bulgular	36
3.4.1. GH Geni Sekans Analizi	36
3.4.2. MYF5 Geni Sekans Analizi	37
3.4.3. FABP4 Geni için Sekans Analizi	38
3.4.4. LEPTİN Geni Sekans Analizi	38
3.4.5. STAT5A Geni Sekans Analizi	40
3.5. Süt Kalitesine (Süt Somatik Hücre Sayısı-SSHS) Ait Bulgular	41
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	45
4.1. Genotip ve Allel Frekansları	45
4.1.1. <i>GH</i> Geni	45
4.1.2. <i>MYF5</i> geni	46
4.1.3. <i>FABP4</i> geni	47
4.1.4. <i>STAT5A</i> geni	48
4.1.5. <i>N1RH3</i> geni	49
4.1.6. <i>LEP</i> geni	49
4.1.7. <i>SCD</i> geni	50
4.1.8. <i>FASN</i> geni	50
4.1.9. <i>TLR4</i> geni	50
4.2. Sekans Analizleri	50
4.3. Süt Kalitesi (Süt Somatik Hücre Sayısı-SSHS)	51
5. KAYNAKLAR	53

ÖZET

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde genetik ve çevresel faktörlerin özellikle kantitatif karakterler üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde yetiştirilmesi planlanan ırka ait eldeki sürünün süt ve et verimi yönünden genetik karakterizasyonunun yapılması yetiştiricilik açısından önemlidir.

Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen en önemli sütçü sığır ırkı olan Holstein ırkı sığırlarda, Büyüme Hormonu (*GH*), Myogenik Faktör 5 (*MYF5*), Myostatin (*MSTN*), İnterlökin-10 (*IL-10*), İnterlökin-10 Reseptör (*IL-10R*), Toll-like Reseptör 4 (*TLR4*), Fatty Acid-Binding Protein 4 (*FABP4*), Fatty Acid Synthase (*FASN*), Nuclear Receptor Subfamily 1, Group H, Member 3 (*NR1H3*), Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD*) ve Leptin (*LEP*) genlerinin allel yapılarının restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile belirlenmesi ve bu genlerin genotip frekansları ile süt verimi ve kalitesi ile büyüme performansı arasındaki ilişkiler araştırılması amaçlanmıştır. Projenin hayvan materyalinin 166 baş sağlam Holstein inek ve bunlardan doğan 60 baş erkek buzağı oluşturmuştur. Çalışma sonunda *GH*-LL genotipi ile erkek buzağılarda süttan kesim ağırlığı, mamadan kesimdeki göğüs çevresi; *GH*-LV genotipi ile sağılan Holstein ineklerde 305 günlük süt verimi arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *STAT5A*-CC genotipi ile mamadan kesimdeki canlı ağırlık; *FABP4*-AA genotipi ile süt yoğunluğu; *LEP*-BB genotipi ile süt somatik hücre sayısı (SSHS) ve gebelik başına tohumlama sayısı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir.

Çalışma sonunda özellikle *GH* geni ile süt ve et verimi arasındaki ilişkinin ve *LEP* geni ile de özellikle döl veriminin araştırıldığı daha çok örnekle yapılacak çalışmaların planlanması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Moleküler DNA markörler, Holstein, Genotip Frekansı, Verim özellikleri

ABSTRACT

It is known that genetic and environmental factors in livestock breeding have significant effects on quantitative characters in particular. For this reason, it is important to make genetic characterization in terms of milk and meat yield of the animals which is planned to be cultivated in livestock farming in terms of breeding.

Aims of the present study were to identify allelic and genotypic structure of Growth Hormone (*GH*), Myogenic Factor 5 (*MYF5*), Myostatin (*MSTN*), Interleukin-10 (*IL-10*), Interleukin-10 Receptor (*IL-10R*), Toll-Like Receptor 4 (*TLR4*), Fatty Acid-Binding Protein 4 (*FABP4*), Fatty Acid synthase (*FASN*), Nuclear Receptor Subfamily 1, Group H, Member 3, (*NR1H3*), Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD*) and Leptin (*LEP*) genes by using restriction fragment length polymorphism (RFLP) method and to investigate their association with milk yield and quality and growth in Holstein young bulls. In total 166 Holstein cows and their 60 male calves were used for the study. The associations between *GH*-LV genotype and 305-day milk yield and *GH*-LL genotype and hearth girth at milk replacer weaning were found. *STAT5A*-CC genotype and the live weight at milk replacer age was found. *FABP4*-AA genotype was found associated with milk density and *LEP*-BB genotype was found with somatic cell score (SCC) and insemination number per pregnancy.

Taken together, our study showed that larger study could be planned with more animals that deals association of *GH* gene with milk and growth traits and *LEP* gene with fertility traits.

Key words: Molecular DNA markers, Holstein cattle, Genotype frequency, Economically important traits.

1. GİRİŞ

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde genetik ve çevresel faktörlerin özellikle kantitatif karakterler üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde yetiştirilmesi planlanan ırka ait eldeki sürünün süt ve et verimi yönünden genetik karakterizasyonunun yapılması yetiştiricilik açısından önemlidir. Sürülerin genetik karakterizasyonu, yetiştiricilerin yetiştirme stratejilerini belirlemede, bilimsel açıdan ise kullanılacak ırka ait yüksek verimli bireylerin seçimine ve ırk içindeki genetik çeşitliliğin değerlendirilmesine yardımcı olur. Bu nedenle çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde kullanılacak hayvanların genetik yapıları ve verim arasındaki ilişkinin belirlenmesi çok önemli hale gelmiştir. Son yıllarda çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde verim özellikleri ile arasında ilişki olduğu düşünülen bazı markır genler bildirilmiştir. Ancak bu mekanizmada rol oynayan genler, bu genler yönünden çiftlik hayvanlarının genotipleri ve genotipik yapı ile et, süt ve döl verimi arasındaki ilişkiler hakkında yeterli veri literatürde bulunmamaktadır.

Türkiye’de ilk olarak 1958 yılında düve boğa ithalatı ile Holstein yetiştiriciliğine başlanmıştır. Bir süre sonra bu ırkın ithalatından vazgeçilmiş, ancak 1970 yılından itibaren tekrar başlanmıştır (Alpan, 1993). Bu tarihten itibaren günümüze kadar değişik zamanlarda gerek devlet gerekse özel teşebbüs eliyle Avrupa’dan ve Amerika’dan damızlık Holstein (dişi ve erkek) ile sperm ithal edilmiş ve edilmektedir. Türkiye’de saf ve melez olarak yetiştirilen Holstein ırkı, bugün Türkiye’de ki en önemli sütçü sığır ırkıdır.

Verimle ilgili özellikleri ile ilişkili olduğu düşünülen genler kullanılarak yapılacak seleksiyon çalışmaları ile hızlı bir genetik ilerleme elde edilebileceği düşünülmektedir. Büyüme hormonu (*GH*), Myogenik Faktör 5 (*MYF5*), Myostatin (*MSTN*), İnterlökin-10 (*IL-10*), İnterlökin-10 Reseptör (*IL-10R*), Toll-like Reseptör 4 (*TLR4*), Fatty Acid-Binding Protein 4 (*FABP4*), Fatty Acid Synthase (*FASN*), Nuclear Receptor Subfamily 1, Group H, Member 3, (*NR1H3*), Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD*), Leptin (*LEP*) gibi bazı genlerin seleksiyonda kullanılabileceği düşünülmüştür (Dybus, 2002; Yardibi, 2008). Dolayısıyla, bu genlerdeki bilinen polimorfizmler ve olası yeni polimorfizmler ile bireylerin et ve süt verimleri arasındaki ilişkilerin araştırılmasının hem bilimsel literatüre hem de yetiştiricilere önemli katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

Süt protein polimorfizmi ile süt verimini etkileyen fizyolojik ve biyokimyasal özellikler arasındaki ilişkide rolü olduğu bilinen bazı genler belirlenmiştir. Bu genlerde bulunan allelik

varyasyonların sütün kompozisyonunu, kalitesini ve elde edilen sütteki bireysel farklılıkları etkileyebildiği bildirilmiştir (Alipanah, 2007).

Bir genin polimorfizmi sırasıyla; RNA modifikasyon mekanizmalarını, genin regülasyonunu, genin ekspresyonunu ve bu etkilerin sonucu olarak da genin ürünü olan aminoasit dizisini değiştirerek ortaya çıkan son ürün olan sütün bileşenlerini etkileyerek ekonomik kayıplara sebep olabileceği bildirilmiştir (Bonakdar, 2010). Tek nükleotid değişimleri (SNP) genetik varyasyonun en önemli kaynaklarından birini oluşturarak fenotipik değişikliklere yol açar. Ayrıca farklı genlerde belirlenen SNP'ler ile hastalıklara yatkınlık ve ilaçlara direnç gelişimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. SNP'ler genlerin hastalıklarla ilişkilendirilmesi çalışmalarında sıklıkla kullanılan değişimlerdir (Lee W, 2009).

Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ışığında süt verimine etki eden genlerin bazı allellerinin verimle ilgili genler için genetik belirteç (markör) olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir (Dybus, 2002). Bu nedenle damızlık hayvanların seçiminde ve üretiminde genetik markörlerin kullanımı süt sığırları yetiştiriciliğinde hızlı bir genetik iyileşmeye imkân sağlayabileceği bildirilmektedir (Javanmard, 2008).

1.1. Büyüme Hormonu (GH)

Hipofiz bezinin ön kısmından salgılanan büyüme hormonu (GH) yaklaşık 22-kDa molekül ağırlığında tek bir polipeptittir (Kovács ve ark., 2006). Büyüme ve gelişme, sütün üretilmesi ve döl verimi gibi bir çok fizyolojik olayda görev alan GH 190 veya 191 aminoasitten oluşur (Sodhi ve ark., 2007). Sığır büyüme hormonu geni, sığır karyotipinin 19. (Hediger ve ark., 1990; Tatsuda ve ark., 2008) kromozomunda lokalize olmuştur. Sığırlarda *GH* geninde belirlenen birkaç SNP ile süt verimi ve süt kalitesi (Dybus, 2002), büyüme (Unanian ve ark., 2002), karkas kalitesi (Grochowska ve ark., 2001) arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle *GH* geninde belirlenen SNP'lerin sığırlarda yapılacak süt ve et veriminin iyileştirilmesi çalışmalarında aday gen olabileceği bildirilmiştir (Reis ve ark., 2001).

Sığır büyüme hormonu geninin 2141. pozisyonunda meydana gelen bir C→G yer değişiminin Lösin (Leu)→Valin (Val) değişimine neden olduğu bildirilmiştir (Curi ve ark., 2006). Holstein ırkı sığırlarda Leu/Val polimorfizminin verim üzerine etkilerini belirlemek için yapılan çalışmalarda homozigot Leu/Leu (LL) genotipli hayvanların heterozigot olanlardan daha yüksek süt verimine sahip oldukları bildirilmiştir (Dybus, 2005; Zhou, 2005).

1.2. Leptin (*LEP*)

Adipoz doku tarafından üretilen leptin (*LEP*), 16-kDa ağırlığında bir proteindir (Nobari, 2011; Almeida, 2003; Liefers, 2002). Leptin yem tüketimi, enerji dengesi, döl verimi ve immunité ile ilişkilidir (Fruhbeck ve ark., 1998). Sığırlarda hayvanın vücut yağ kitlesinin artması durumunda kan plazma leptin seviyesinde arttığı bildirilmiştir (Pannier ve ark., 2009). Adipoz doku, plasenta, meme bezi, iskelet kası, beyin ve hipofiz bezinde eksprese olan leptin geni (Houseknecht ve ark., 1998), sığır karyotipinin 4. kromozomunda bulunur ve iki intron ile iki ekzondan oluşur (Almeida ve ark., 2003; Javanmard ve ark., 2008). Sığır *LEP* geninde bulunan polimorfizmler ile süt verimi (Liefers ve ark., 2002; Heravi ve ark., 2006), perinatal buzağı ölümleri (Brickell ve ark., 2010), sütçü ve etçi sığır ırklarında buzağı doğum ağırlığı ve süten kesim ağırlığı (Almeida ve ark., 2003; Nkrumah ve ark., 2005; DeVuyst ve ark., 2008) ve gebelik süresi (Komisarek ve Antkowiak, 2007) arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle *LEP* geninin sığır yetiştiriciliğinde ekonomik önemi olan bazı özellikler için bir aday gen olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sığır *LEP* geninin ikinci ekzonunun 2059 pozisyonunda bulunan sitozin-timin değişimine neden olarak bir *Sau3IA* enzim kesim noktası oluşturan SNP noktası bulunmuştur. Bu SNP ile özellikle sığırlarda süt verim özellikleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Javanmard ve ark., 2008)

1.3. Yağ Asidi Bağlayıcı Protein 4 (Fatty Acid-Binding Protein 4, *FABP4*)

Kas içi yağ ve deri altı yağ, çiftlik hayvanlarında iki önemli yağ deposudur. Belirtilen bölgelerdeki yağın artışı ve azalışı üzerinde yağ asidi bağlayıcı protein 4'ün (*FABP4*) dolayısıyla bu proteini kodlayan *FABP4* geninin etkisi olduğu bildirilmiştir. Yağın depolanmasını ile birlikte kolesterol metabolizmasını ve buna bağlı olarak da et kalitesini etkilemesindeki rolü nedeniyle, çiftlik hayvanlarının *FABP4* geni yönünden genomik profillerinin çıkarılmasının önemi olduğu bildirilmiştir (Shin ve ark., 2011). *FABP4* geni farklı dokularda, lipidlerin hidrolizi ve intracellüler yağ taşınması üzerinde önemli rolü bulunmaktadır (Damcoot ve ark., 2004; Chmurzynska ve ark., 2006).

FABP4 geni ile yağ depolanması arasında ki ilişki ilk olarak farelerde ortaya konmuş ve obesiteyi etkileyen gen olarak rapor edilmiştir (Hotamisligil ve ark., 1996). Daha sonra bu genin domuzlarda intra musküler yağlanma üzerine etkisi olduğu belirlenmiştir (Gerbens ve ark., 1998). Sığırlarda bu gen ile mermerleşme ve subkutan yağ depolanması üzerine bu genin

etkisi Michal ve ark. (2006) tarafından belirlenmiştir. Ancak gerek domuzlarda, gerekse sığırlarda *FABP4* geni ile intra musküler ve deri altı yağ depolanması arasındaki ilişki kesin olarak ortaya konulamamıştır (Gerbens ve ark., 2001; Chmurzynska ve ark., 2004; Hoashi ve ark., 2008). Ancak sığırlarda 14. kromozom üzerinde bulunan *FABP4* genin, yağ oluşumu mekanizmasında ve dolayısı ile de et kalitesi üzerinde önemli etkisi olduğu bildirilmiştir (Michal, 2006; Brandse, 2009). Bu nedenle bu gen ile ilgili daha çok çalışma yapılmalıdır.

1.4. Myogenin Faktör 5 (MYF5)

Büyüme ve gelişme zigotun uterusu bağlanması ile başlayan hücresel artış ve hücresel özelleşmeyi de kapsayan kompleks bir süreçtir (Ujan ve ark., 2011). Bu süreçte miyojenik belirleme (myogenic determinasyon-*MyoD*) gen ailesinin çok önemli rolü vardır. *MyoD* gen ailesi miyojenik faktör 3 (*MYF3*), miyojenik faktör 4 (*MYF4* veya Myogenin, *MyoG*), miyojenik faktör 5 (*MYF5*) ve miyojenik faktör 6 (*MYF6*) olarak adlandırılan dört üyeden oluşmaktadır. Bunlardan *MYF5* ve *MYF6* genlerinin kas liflerinin uzaması ve büyümesi ile ilgili fizyolojik süreçle özellikle ilişkilidirler. Bu nedenle sığırlarda büyüme ve et kalite karakterleri için *MYF5*'in potansiye bir aday gen olduğuna düşünülmektedir (Li ve ark., 2004). Sığırlarda bunlardan *MYF5* geni ile doğum ağırlığı, sütten kesime kadar günlük ortalama canlı ağırlık artışı ve günlük canlı ağırlık artışı ile karkas ve et kalitesi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Sığırlarda miyojenik faktör 5 proteini kodlayan *MYF5* geni, sığır karyotipinin 5. kromozomunda (BTA-5) bulunmaktadır (Li ve ark., 2002; Maak ve ark., 2006). *MYF5* geni 5219 bp uzunluğunda üç ekzon ve iki introndan oluşmaktadır (Braun, 1989) ve genin ikinci intronunun 1948 bp pozisyonundaki bir A/G değişimi ile ortaya çıkan SNP'nin sığırlarda kas gelişimi ve büyüme üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (Drogemuller, 2000).

1.5. Toll-Like Reseptör 4 (TLR4)

Toll-like reseptörler (TLRs) özel patojenlere bağlanan moleküler kalıplara (PAMPs) bağlanan patojenleri tanıyarak immün sistemin aktive olmasında çok önemli rol oynayan bir hücre zarı sinyal moleküllerinin bir ailesidir (Takeda ve ark., 2003). Mikroorganizmalarda bulunan özel korunmuş parçaları tanıyan TLR ailesinin sığırlarda 10 üyesi bulunur ve bunların kromozomal haritaları çıkarılmıştır (Takeda ve Akira, 2005). Bunlardan en iyi karakterizasyonu yapılan TLR4 gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan bakteriyel lipopolisakkaritleri (LPS) tanıyarak hücresel yanıtın uyarılmasına aracılık eder (McGuire ve ark., 2005). İnflamatuar faktörlerinin aşırı ifadesini indükleyerek doğal immün yanıtlarla

hastalıklara karşı direnci sağlar. Sığır karyotipinin 8. kromozomunda bulunan (White ve ark., 2003) TLR4'ü kodlayan gen ile mastitisin ve paratüberküloz hastalığı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Goldmar, 2004; Shizio, 2011; Pinedo ve ark., 2009).

1.6. Nuclear Receptor Subfamily 1, Group H, Member 3 (NR1H3)

Nükleer reseptör alt-ailesi, 1 H grubu (NR1H3), nükleer hormon reseptör süper ailesinin bir üyesidir ve memelilerde hepatik lipogeneze yöneten ana transkripsiyon faktörü olarak bilinir. NR1H3 direk olarak hem diğer lipogenik transkripsiyon faktörleri ve lipogenik enzimlerin ekspresyonunu düzenler. NR1H3 kolesterol ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesi, yağ asidi ve trigliserid düzenlenmesi ve adiposit biyolojisini düzenler (Calkin ve Tontono, 2012; Maharani ve ark., 2012). Görev aldığı bu biyolojik süreçlerden dolayı, NR1H3 geninin karaciğerde, yağ dokuda ve iskelet kasındaki kolesterol homeostasis, yağ asidi sentezi ve karbonhidrat metabolizmasında çok önemli bir düzenleyici hormondur (Mitro ve ark., 2006; Caton ve ark., 2011). Bu nedenle NR1H3 geninin çok önemli bir aday gen olarak çiftlik hayvanlarında büyüme ve gelişme için kritik bir aday gen olabileceği düşünülmektedir (Ma ve ark., 2014). NR1H3'i kodlayan 7.1 kb uzunluğundaki gen sığır karyotipinin 15. kromozomunda bulunmakta ve 10 ekzondan oluşmaktadır (Ma ve ark., 2014). Bu gende bulunan bazı SNP'ler ile et verimi ve et kalitesi arasında ilişki olduğu bildiren çalışmalar vardır. Bunlardan birinde gende bulunan g. 1891 T>C polimorfizmi ile etçi sığırlarda bel gözü kasının genişliği arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Gan ve ark., 2008). Bir başka çalışmada bu gende bulunan bir başka polimorfizm ile Japon Siyah sığırlarında intra musküler yağ dokudaki linoleik asit kompozisyonu arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Hoashi, 2008).

1.7. Stearoyl-CoA Desaturase (SCD)

Stearoyl-CoA desaturase (SCD) memelilerde doymuş yağ asitlerinin, tekli doymuş yağ asitlerine dönüşümünü katalize eden multifonksiyonel bir enzimdir (Taniguchi ve ark., 2004). Bu sebeple süt kompozisyonu ile ilgili mekanistik çalışmalarda SCD gen polimorfizmlerinin araştırılmasının önemli olduğu düşünülmektedir (Khatib, 2008). Farklı canlı türlerinde korunmuş bir gen olan SCD fare, sığır ve insanda belirlenmiştir. Altı ekzon ve beş introndan oluşan SCD geni farklı türlerde 15-24 kb uzunluğundadır. SCD geninin insan sağlığı açısından ruminat kaynaklı hayvansal ürünlerin yağ kalitesinin iyileştirilmesinde özellikle önemli olduğu düşünülmektedir (Milanesi ve ark., 2008). Japon Siyah sığırlarının SCD geninde sekiz, bu genin 5. ekzonunda ise üç SNP bölgesi belirlenmiştir (Taniguchi ve

ark., 2004). İtalyan Holstein'lerinde yapılan bir çalışmada, *SCD* gen polimorfizmi ile yağ asiti kompozisyonu arasında ilişki olduğu (Conte ve ark., 2006), Japon Siyah sığırlarında yapılan bir çalışmada ise aynı polimorfizm ile düşük erime derecesindeki yağlar ve mermerleşme arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Taniguchi ve ark., 2004). Yapılan çalışmalarda, *SCD* geninin 3, 4 ve 5 numaralı ekzonları üzerinde bulunan toplam beş farklı SNP nin özellikle süt yağ kompozisyonu üzerine etkili olabileceği bildirilmiştir (Moioli, 2007).

1.8. Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü (Signal Transducers and Activators of Transcription 5A, *STAT5A*)

STAT5A proteini hücre çoğalması ve farklılaşması ile apoptosis mekanizmalarında, hücre sitoplazmasında sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü olarak görev alan *STAT* protein ailesini bir üyesidir (Kisseleva ve ark., 2002; He, 2012). *STAT* protein ailesi *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT4*, *STAT5*, *STAT5A*, *STAT5B* ve *STAT6* olarak isimlendirilen yedi üyeden oluşmaktadır (Bao ve ark. 2010; Dario ve ark., 20011). *STAT5* geninin carboxylic sonunda görülen birkaç amino asit değişikliğine neden olan ve her ikisi de ayrı genler tarafından kodlanan fare, insan, rat ve sığırdaki belirlenen A ve B olarak adlandırılan iki isoformu bulunmaktadır (Flisikowski ve ark., 2004; Selvaggi ve ark., 2009; Dario ve ark., 2011). *STAT5A* proteininin, meme bezinde laktasyonun oluşmasında ve devam etmesinde önemli rolü bulunmaktadır (Flisikowski ve ark., 2003). *STAT5A* proteini bu görevini ise meme bezi hücrelerinde süt proteinlerinin sentezlenmesinde sürecinde görev alan prolaktin hormonu ve büyüme hormonlarının etkilerini kontrol ederek yerine getirir. Sığırlarda *STAT5A* proteinini kodlayan gen, sığır karyotipinin 19. kromozomuna bulunmakta ve 19 ekzon bölgesinden oluşan 15947 bp uzunluğunda bir gendir (Seyfert ve ark., 2000). Prolaktin ve büyüme hormonlarının görevlerini fonksiyonlarını yerine getirmesindeki aracılık rolü nedeniyle çiftlik hayvanlarında *STAT5A* geninin süt ve et verimi ile süt kompozisyonu gibi önemli verim özellikleri için bir markör olabileceği düşünülmektedir (Flisikowski ve ark., 2004; Bao ve ark. 2010).

1.9. İnterlökin-10 (*IL-10*) ve İnterlökin-10 Reseptör (*IL-10R*)

İnterlökin-10 (*IL-10*) bir makrofaj baskılayıcı sitokin olarak tanımlanır (Taylor ve ark., 1998). Anti inflamatuvar sistemin kontrolünde rol alan İnterlökin-10 (*IL-10*) ve İnterlökin-10 Reseptör (*IL-10R*) kodlayan genlerde bulunan SNP'ler ile mastitise karşı direnç ve somatik hücre skorunu arasında ilişki olduğu, dolaylı olarak bu genler ile süt kalitesi arasında da ilişki olduğu bildirilmiştir (Verschoor, 2009).

1.10. Yağ Asid Senteaz (Fatty Acid Synthase, *FASN*)

Yağ asidi hayvansal ürünlerin kalitesini belirleyen önemli bir parametredir. Et ve süt gibi hayvansal ürünlerin yağ kompozisyonu bu ürünlerin kalite değerlendirilmesinde önemli bir kalite kriteridir (Diana, 1998). Yağ asid senteaz (Fatty Acid Synthase, *FASN*), uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezinin düzenlenmesinde rolü olan bir enzimdir (Roy ve ark., 2006). Bu nedenle *FASN*'nın ruminant dokularında yağ asidi profilini belirlemede önemli rolü vardır (Li ve ark., 2011). Ancak *FASN* enziminin embriyonal dönemde vücut dokularında ki yağ asitlerinin sentezlenmesinde görev alırken, memelilerin yetişkinlik dönemlerinde vücut dokularında önemli bir görevi yoktur (Chirala et al. 2003). Fakat bu enzimim memeli sütlerinden ki yağ oluşumunda görevi bulmakta ve enzimi kodlayan *FASN* geninin sütteki yağ miktarı için aday gen olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Roy ve ark., 2006). Sığır karyotipinde 19. kromozom üzerinde lokalize olan *FASN* genin ruminat sütlerinde süt yağı verimi ve yağ bileşimi üzerine etkisi üzerine bilgi yetersiz olmasına (Roy ve ark., 2006) rağmen *FASN* geninde bulunan olası polymorfizimlerin hayvansal ürünlerdeki yağ bileşimini ve süt yağı verimini etkileyebileceği bildirilmektedir (Zhang, 2008),

1.11. Myostatin (*MSTN*)

Çift kaslılık, kas kitlesinde büyük bir artışla karakterize olan kalıtsal bir durumdur. Sığırlarda bu özellik ilk olarak 1807 yılında bildirilmiştir (O'Rourke ve ark., 2012). Başlangıçta etçi ırklarda çift kaslılığa neden olan bir mutasyon olduğu düşünülmüştür (O'Rourke ve ark., 2012). Ancak, daha sonra çift kaslılık özelliğiyle ilişkili sığır miyostatin geninde (*MSTN*) altı farklı mutasyon belirlenmiştir (Grobet ve ark., 1998). Myostatin (Growth Differentiation Factor-8, GDF-8) olarak bilinen, dönüştürücü büyüme faktörü B (Transforming Growth Factor-B, TGF-B) ailesinin üyesi olan bir proteindir. Myostatin geni (*MSTN*) sığır karyotipinin 2. kromozomunda yer almakta, 3 ekzon ile 2 intron'dan meydana gelmektedir. Bu gen 26 kDa büyüklüğünde ve 375 amino asitten oluşan myostatin proteinini kodlar (Kambadur ve ark., 2004). Bu protein kas büyümesi, miyobilast artışı ve gllükolizis gibi isteket kası gelişiminin düzenlenmesinde rol aynar (Elliott ve ark., 2012). Bun proteini kodlayan gen embritronik ve erişkin hücrelerindeki miyogenesisde hücre siklusundaki artış ve farklılaşmayı inhibe ederek durdurur (Miyake ve ark., 2010). Bu proteinin olmayışı, kas hücresi sayısında ve hacminin artırarak, iskelet kas kitlesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Kambadur ve ark., 2004). *MSTN* geni üzerinde bulunan polymorfizmler özellikle etçi sığır ırklarında et verimi ve kalitesi üzerine önemli etki yapmaktadır (Bellinge

ve ark., 2005). *MSTN* geninde bulunan ve et verimi ile ilişkili olduğu bildirilen polimorfizmler daha önce Avrupa orijinli etçi ırklar ile bunların melezlerinde (O'Rourke ve ark., 2012), yerli bir Kore sığır ırkı olan Hanwoo sığır ırkında (Han ve ark., 2012), yerli bir Çin sığır ırkı olan Qinchuan cattle (Zhang ve arkl., 2007), Brezilya'da yetiştirilen bir zebu ırkı olan Nellore sığır (Grisolia ve ark., 2009), (Gill et al., 2009) ve Bali sığırlarında (Khasanah ve ark., 2016) bulunduğu bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışma ile Türkiye'de yetiştirilen ve süt sığırcılığında yaygın olarak kullanılan Holstein sığır ırkına ait örneklerde, sığır yetiştiriciliğinde önemli verim yönleri olan et ve süt verimi ile ilgili, sığır popülasyonlarında en sık rastlanan belirteç genler taranarak bu genlerin allel ve genotip frekanslarından elde edilen sonuçlar verim kayıtları ile ilişkilendirilecek ve bireysel farklılıklar araştırılmıştır.

Süt sığır işletmelerinde karlı bir üretim için hedef bir inekten yılda bir buzağı elde etmektir. Buzağılar işletmeler için gelecekte oluşturulacak sürünün damızlık elemanlarıdır ve buzağı kayıpları işletmelerin sürülerini devam ettirmelerini riske sokan başlıca faktörlerdendir (Yüceer 2008). Buzağının ırklarına uygun büyüme ve gelişmelerini takip etmek için belirli dönemlerde buzağılarda canlı ağırlık ve vücut ölçüm takipleri yapılmaktadır. Bu ölçümler buzağının belirli aralıklarda büyüme performans özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, Türkiye'de yetiştirilen Holstein ırkı sığırlarda daha önce belirlenen moleküler belirteçlerin allel ve genotip frekansının araştırılması, süt verimi ve büyüme performansı ile ilişkilendirilmesi, genomda bu belirteçler ile bağlantı halinde olan yeni genetik belirteçlerin saptanması, mevcut ve yeni belirlenecek belirteçlerin Türkiye yerli sığır popülasyonlarında allelik segregasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca yapılan sekans analizi ile var olan belirteç genlerin frekanslarının ortaya konmasının yanında bu genlerde bulunan yeni SNP'leri araştırılması hedeflenmiştir.

2. MATERİYAL ve YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyali

Çalışma için ERÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmış ve çalışma etik kurul yönergesine uygun bir şekilde yapılmıştır (Etik Kurul Tarih-Karar No: 10.04.2013-13/72). Çalışmada hayvan materyali olarak Kayseri ili, Develi ilçesinde özel bir işletmede (Saray Tarım Hayvancılık A.Ş.) yetiştirilen ve tamamı ikinci laktasyon döneminde bulunan toplam 166 baş Holstein ırkı süt ineği ve bu ineklerden doğan 59 baş erkek buzağı kullanılmıştır.

Holstein ineklerde doğumlar 2013 Kasım-Aralık ayında başlamış 2014 Şubat-Mart ayına kadar devam etmiştir. Çalışmada kullanılan her bir ineğin doğumla beraber laktasyon evresi boyunca laktasyon süt verimi, süt kalitesi ve kompozisyon özelliklerinin takibi aylık kontrollerle yapılmıştır. Saray Tarım ve Hayvancılık A.Ş.' de süren çalışmanın saha aşaması yaklaşık 15 ay sürdürülmüştür.

Genetik çalışmalarda genetiğin etkisini daha sağlıklı belirlemek için çevre faktörleri ve bireysel farklılıklardan kaynaklanan etkileri minimize etmek ve homojen bir sürü oluşturmak önemlidir. Bu kapsamda her bir ineğin geçmişe yönelik süt verim özellikleri kayıtlarından her laktasyon dönemi için; laktasyon süt verimi, 305 günlük süt verimi, laktasyon süresi, ortalama günlük süt verimi, servis periyodu (gün), ilk östrus aralığı (gün), kuruda kalma süresi (gün), gebelik başına tohumlama sayısı bilgileri kaydedilmiştir. İlaveten kan örnekleri alınan dönemde hayvanların genel sağlık durumları ve mastitis varlığı tespiti yapılmıştır.

2.2.Yem Materyali, Barındırma ve Yemleme

Araştırmada kullanılan hayvanlara özel bir besleme ya da yemleme uygulanmamış kaba yem olarak işletmede yetiştirilen mısırdan yapılan mısır silajı ve kesif yem olarak yine işletmede üretilen kesif yem karması kullanılmıştır. İnekler bulundukları padoklarda gruplar halinde barındırılmışlar ad libitum yemleme yapılmış ve istedikleri zaman suya ulaşabilmişlerdir.

2.3.Sağım Uygulamaları, Süt Örneklerinin Alınması ve Süt Analizleri

İşletmede inekler rutin olarak günde üç defa (07:00, 15:00, 23:00) 80 baş hayvanı aynı anda sağabilen sürü yönetim sistemine sahip bilgisayarlı sağım ünitesinde sağılmışlardır. İneklerde 305 günlük laktasyon süt verimini belirlemek için her bir sağımdaki süt verimleri kayıt altına alınmıştır. Süt kompozisyon ve kalite analizleri için her ay bir kontrol günü belirlenmiş ve bu kontrol gününde her hayvandan sabah saat 07:00 sağımı esnasında 50 ml süt numunesi

alınmıştır. Alınan numuneler +4 derecede muhafaza edilmiş ve süt kompozisyon ve süt kalite analizlerinde kullanılmıştır. Süt kompozisyonu analizleri Milkana Multi-Test cihazında yapılmış ve numunelerde % yağ, % yağsız kuru madde, % yoğunluk, % protein, % laktoz, donma noktası, eklenen su miktarı, pH, iletkenlik, sıcaklık, ölçüm zamanı belirlenmiştir. Süt kalitesinin belirteçlerinden en önemlisi gösteregesi olan Süt Somatik Hücre Sayısı (SSHS), herbir numuneye için De-Laval somatik hücre sayımı cihazı ile ölçülerek belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar düzenli olarak bilgisayara kaydedilmiş ve bir veri kütüğü oluşturulmuştur. Çalışmada çiğ sütte somatik hücre sayısı $SHS \leq 200.000$ hücre/ml ve $SHS > 200.000$ hücre/ml şeklinde kategorilendirilerek analizler yapılmıştır. Normal durumlarda sağlıklı bir inekten elde edilen SSHS çiğ sütte 200×10^3 hücre mL^{-1} nin altında olmalıdır. Verilerin istatistik analizleri IBM Statistics 22.0 programında ve GLM prosedüründe yapılmıştır.

2.4. Buzağılarda Büyüme Performansına Ait Ölçümlerin Alınması

Yapılan bu çalışmada buzağılar doğumdan sonra ilk üç gün annelerinin yanında kolostrum emmiş ve dördüncü gün annelerinden ayrılarak bireysel buzağı bölmelerine alınmışlardır. Burada 30 gün doğum ağırlıklarının %10' u kadar sütle, süttten kesim sonrasında bireysel iglolarda 40 gün mama (hayvan başına 6 kg) ile beslenmişlerdir. Doğumdan bir hafta sonra önlerinde buzağı başlangıç yemi, buzağı büyütme yemi ve kaliteli kaba yem (yonca+mısır silajı) devamlı bulundurulmuştur.

Buzağılarda doğumda, süttten kesimde (30. gün), mamadan kesimde (70. gün) ve 6. aylık yaşlarda canlı ağırlık, vücut uzunluğu, cidago yüksekliği ve göğüs çevresinden oluşan vücut ölçümleri alınmıştır.

-Canlı ağırlık ölçümünde (kg) mobil buzağı terazisi kullanılmıştır.

-Vücut uzunluğu (cm); omuz ucundan (atriculus huneri) oturak yumrusu ucuna (tuber ichii) kadar meyilli hattır ve ölçü bastonu ile belirlenmiştir.

-Cidagonun en yüksek noktasından yere kadar olan dikey mesafe ölçü bastonu kullanılarak cidago yüksekliği (cm) olarak alınmış ve kaydedilmiştir.

-Göğüs çevresi (cm); ölçü şeridi ile kürekler arasından gövde etrafında dolaştırmak suretiyle alınmıştır.

Bu ölçüler alınırken buzağılarda düz bir zeminde, normal pozisyonda olmalarına dikkat edilmiştir (Bıykoğlu 1973).

2.5. İstatistik Analizler

Büyüme performansı ve süt verim özelliklerine ait verilerin istatistik analizleri IBM SPSS Statistics 22.0 programında yapılmıştır. İstatistik analizde analize katılan genler yönünden bireylerin genotipleri ve ilgili özellikğe ait fenotipik özellikler arasındaki ilişkinin testinde çok değişkenli varyans analiz tekniği (GLM) kullanılarak DUNCAN çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Sonuçlar $\text{ort} \pm \text{standart hata}$ şeklinde verilmiştir. Baba etkisi randomly faktör olarak modele dahil edilmiştir.

2.6.Kan Örneklerinin Alınması, DNA İzolasyonu, PCR-RFLP ve Sekans Analizi Bireylerin Genotiplerinin Belirlenmesi

Hayvanların kuyruk venalarından vakumlu K₃EDTA'li tüplere alınan kan örneklerinden fenol:kloroform:izoamil alkol yöntemi ile izole edilmiştir. Tüm genler için yapılan PCR işlemi; 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 5 pmol ileri (forward) ve geri (reverse) primer, 1×PCR tampon solüsyonu, 1U Taq polimeraz ve 100 ng DNA eklenerek hazırlanan toplam hacmi 25 µl olacak şekilde hazırlanan karışımlarla yapılmıştır.

GH geni için yapılan PCR protokolü, 94°C'de 4 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C'de 40 sn, 60°C 'de 40 sn, 72°C 'de 40 sn olacak şekilde 40 döngü yapıldıktan sonra 72°C'de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *GH* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 223 bp'lik ürünler 5 U of *AluI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

MYF5 geni için yapılan PCR protokolü, 94°C'de 4 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C'de 1 dakika, 64°C 'de 30 sn, 72°C'de 1 dakika olacak şekilde 38 döngü yapıldıktan sonra 72°C'de 4 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *MYF5* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 512 bp'lik ürünler 5 U of *TaqI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

FABP4 geni için yapılan PCR protokolü, 95°C'de 4 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C'de 1 dakika, 62°C 'de 1 dakika, 72°C'de 1 dakika olacak şekilde 32 döngü yapıldıktan sonra 72°C'de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *FABP4* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 399 bp'lik ürünler 5 U of *HinII* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

Yapılan PCR-RFLP analizi sonunda Myostatin geni yönünden incelenen örneklerin monomorfik olmaları nedeniyle bu genin yerine *STAT5A* geni kullanılmıştır. *STAT5A* için

yapılan PCR protokolü, 95°C’de 4 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C’de 1 dakika, 64°C ‘de 1 dakika, 72°C’de 1 dakika olacak şekilde 34 döngü yapıldıktan sonra 72°C’de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *STAT5A* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 399 bp’lik ürünler 5 U of *AvaI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

TLR4-+10 SNP’si için yapılan PCR protokolü, 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C’de 30 sn, 54°C ‘de 30 sn, 72°C’de 30 sn olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C’de 1 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *TLR4-+10* için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 405 bp’lik ürünler 5 U of *BstUI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

FASN geni için yapılan PCR protokolü, 94°C’de 10 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C’de 30 sn, 60°C ‘de 30 sn, 72°C’de 30 sn olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C’de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *FASN* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 624 bp’lik ürünler 5 U of *MscI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

NR1H3 geni için yapılan PCR protokolü, 94°C’de 10 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C’de 30 sn, 65°C ‘de 30 sn, 72°C’de 30 sn olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C’de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *NR1H3* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 436 bp’lik ürünler 5 U of *HpyCH4IV* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

SCD geni için yapılan PCR protokolü, 94°C’de 10 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C’de 30 sn, 62°C ‘de 30 sn, 72°C’de 30 sn olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C’de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *SCD* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 256 bp’lik ürünler 5 U of *Fnu4HI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

LEP geni için yapılan PCR protokolü, 95°C’de 2 dakika ilk denatürasyondan sonra her bir döngüsü, 94°C’de 1 dakika, 55°C ‘de 1 dakika, 72°C’de 15 dakika olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra 72°C’de 10 dakika final uzaması ile tamamlanmıştır. *LEP* geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 422 bp’lik ürünler 5 U of *Sau3AI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) enzimi ile kesilmiştir.

İnterlökin-10 (IL-10) ve İnterlökin-10 Reseptör (IL-10R) yönünden bireylerin genotipleri, primerlerin çalışmaması nedeniyle yapılamamıştır. Yapılan PCR işlemleri sonunda elde edilen ürünleri ve kesim enzimleri Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo 1. Yapılan PCR işlemlerinde kullanılan primer dizileri ve elde edilen PCR ürünlerinin büyüklükleri

Gen	Primer Dizini	PCR Ürünü	Kesim Enzimi	Literatür
<i>GH</i>	F:5’-GCTGCTCCTGAGGGCCCTTCG-3’ R:5’-GCGGCGGCACTTCATGACCCT-3’	223 bp	<i>AluI</i>	Schlee ve ark., 1994
<i>MYF5</i>	F:5’-AGAGCAGCAGTTTTGACAGC-3’ R:5’-GCAATCCAAGCTGGATAAGG-3’	445 bp	<i>TaqI</i>	Şahin ve Akyüz, 2015
<i>FABP4</i>	F:5’-ATTATCCCCACAGAGCATCG-3’ R:5’-ACAAGACTTGGCCTCAAGGA-3’	399 bp	<i>HinII</i>	Maharani ve ark., 2012
<i>STAT5A</i>	F:5’-CTGCAGGGCTGTTCTGAGAG-3’ R:5’-TGGTACCAGGACTGTAGCACAT-3’	215 bp	<i>AvaI</i>	Flisikowski ve ark., 2003
<i>FASN</i>	F:5’-TCTTCACAGAGCTGACGGAC-3’ R:5’-GGAGGAAGAGCTGTTGCAGT-3’	624 bp	<i>MscI</i>	Maharani ve ark., 2012
<i>SCD</i>	F:5’-CCCGGTGTCCTGTTGTTGTG-3’ R:5’-TAGACGTGGTCTTGCTGTGG-3’	256 bp	<i>Fnu4HI</i>	Maharani ve ark., 2012
<i>NR1H3</i>	F:5’-GCGTGGCGTATGAGAGCTAC-3’ R:5’-CGGTGTCCAGACACTCACAC-3’	436 bp	<i>HpyCH4IV</i>	Maharani ve ark., 2012
<i>LEP</i>	F:5’-TGGAGTGGCTTGTTATTTTCTTCT-3’ R:5’-GTCCCCGCTTCTGGCTACCTAACT-3’	422 bp	<i>Sau3AI</i>	Liefers ve Veerkamp, 2002
<i>TLR4</i>	5’-CGTAACCCAGCACTGCTTTG-3’ R:5’-GCCTGTTAATGCCCTGTAACC-3	405 bp	<i>BstUI</i>	Prakash ve ark., 2014

Kesim sonrasında incelenen genler yönünden bireylerin genotiplerinin belirlenmesi için yapılan elektroforez işleminde % 3’lük agaroz jel (Prona, Madrid, Spain) kullanılmıştır.

Süt ve et verimi ile ilişkili farklı verim özellikleri yönünden en yüksek ve en düşük değerlere sahip örnekler 8’er li olarak gruplandırılmış ve sekans analizi uygulanmıştır. Sekans analizi için *GH*, *MYF5*, *FABP4*, *LEPTİN* ve *STAT5A* genleri üzerinde Tablo 2’de belirtilen primerler, Primer3web version 4.0.0 programı ile dizayn edilerek kullanılmıştır.

Tablo 2. Sekans analizinde kullanılan primer dizileri, elde edilen sekans ürün büyüklükleri ve erişim numaraları

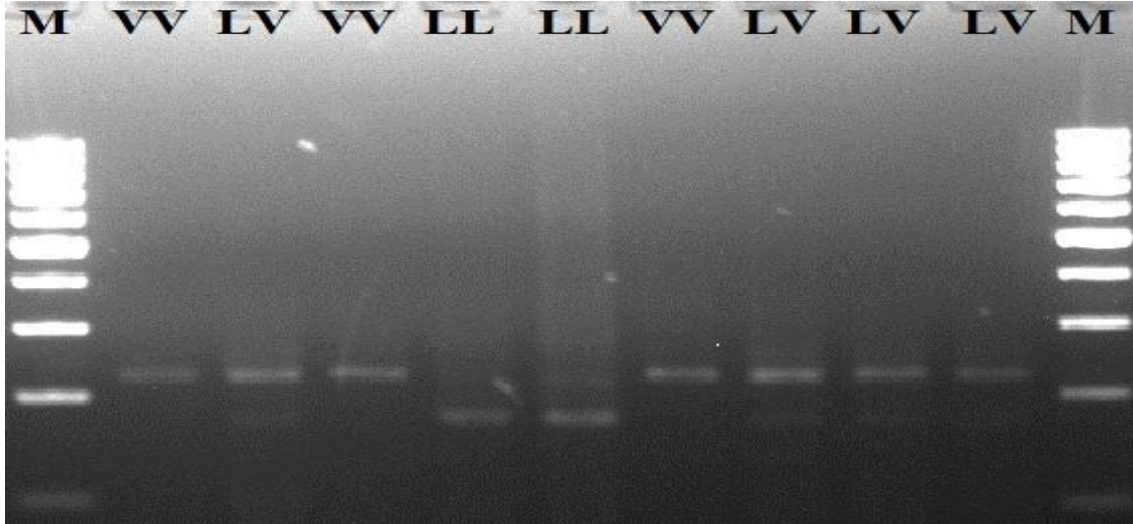
Gen	Primer Dizisi	Sekans Boyutu	Bulunduğu Bölge	Accession Number
GH	F: 5'- CCAGGAGCGCACCTACAT-3' R: 5'- CCTCAGGAGCAGCTCCCT-3'	747 bp	Exon 3 – Intron 4	JQ711182.1
MYF5	F: 5'- CAGATGCCAGCACACAGACA -3' R: 5'- CAGGACAGTAGACGCTGTCAA -3'	740 bp	Intron 2 – Exon 3	ENSBTAT00000038612.1
FABP4	F: 5'- GACTGCTGCCTATAGCAAACCA -3' R: 5'- CCAGAGCACCTTCATCTAAGTTT -3'	576 bp	Intron 3 – Exon 4	ENSBTAG00000037526
LEPTİN	F: 5'- GAGACGAGGTAGAACCGT-3' R: 5'- CTGGTGGCTCAGACGGTAA -3'	779 bp	Intron 3	ENSBTAT00000019853
STAT5A	F: 5'- GAGAGGCTGCCAAGCCT-3' R: 5'- CCCTTCTGGGCTCTCAGA -3'	949 bp	Intron 6 – Intron 7	AC_000176.1

3. BULGULAR

3.1. Genotip ve Allel Frekansları

3.1.1. *GH* geni

GH gnin için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 223 bp uzunluğundaki PCR ürünleri *AluI* enzimi ile kesilmiştir. Kesim sonucunda L ve V olarak adlandırılan iki allel ve iki genotip (LL, ve LV) belirlenmiştir. VV genotipli bireylerde 223 bp'lik tek bant, LV genotipli bireylerde 223, 171 ve 52 bp'lik üç bant, LL genotipli bireylerde ise 171 ve 52 bp'lik iki bandın görülmesi beklenmiştir. Ancak 52 bp'lik bant çok küçük olduğu için agaroz jel elektroforezinde görülememesine rağmen 223 ve 171 bp'lik bantların birlikte veya ayrı ayrı görülmeleri bireylerin genotiplerinin belirlenmesi için yeterli olmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. *GH* geni için yapılan *AluI* enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

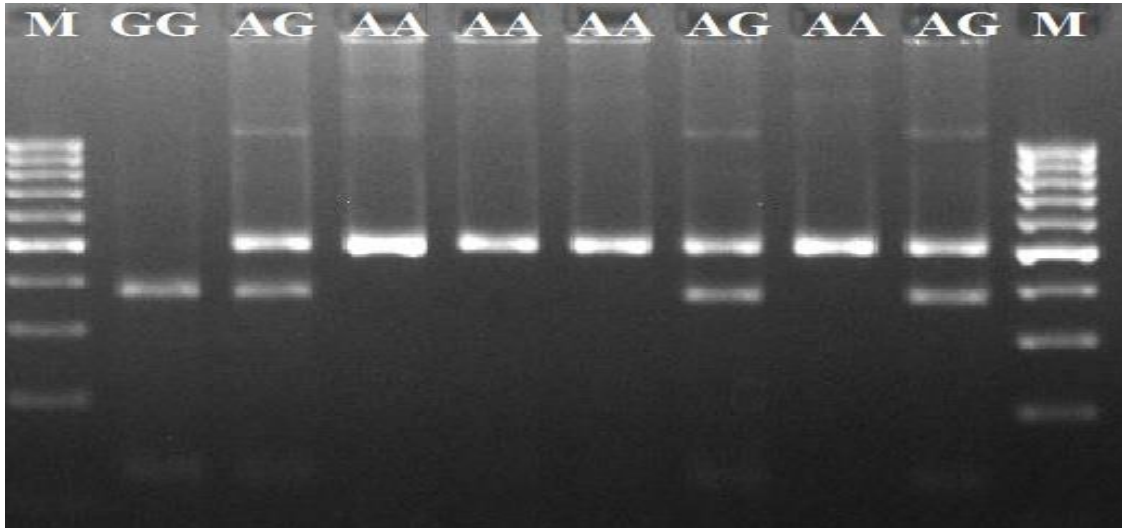
Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde LL genotipi en yaygın genotip olduğu belirlenmişken, VV genotipine rastlanılmamıştır, L allel frekansının ise en yaygın (0.93) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). İncelenen erkek buzağılarda da LL (54 birey) genotipinin en yaygın yaygın genotip olduğu ve yine erkek bireylerde de VV genotipinin bulunmadığı belirlenmemiştir (Tablo 3).

3.1.2. *MYF5* geni

MYF5 geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 490 bp'lik PCR ürünlerinin *TaqI* enzimi ile kesilmesi sonucunda A ve G olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (AA, AG ve GG) belirlenmiştir. AA genotipli bireylerde 490 bp'lik tek bant, AG genotipli bireylerde 490,

367 ve 123 bp'lik üç bant, GG genotipli bireylerde ise 367 ve 123 bp'lik iki bant görülmüştür (Şekil 2).

Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde AG genotipinin (103 birey) en yaygın genotip ve AA genotipinin ise en az görülen genotip (17 birey) olduğu, G allel frekansının ise en yaygın (0.59) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). İncelen erkek buzağılarda da en yaygın genotipin AG (32 birey) ve en az görülen genotipin ise GG (8 birey) genotipi olduğu, A allel frekansının (0.61) G allel frekansından yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo3).

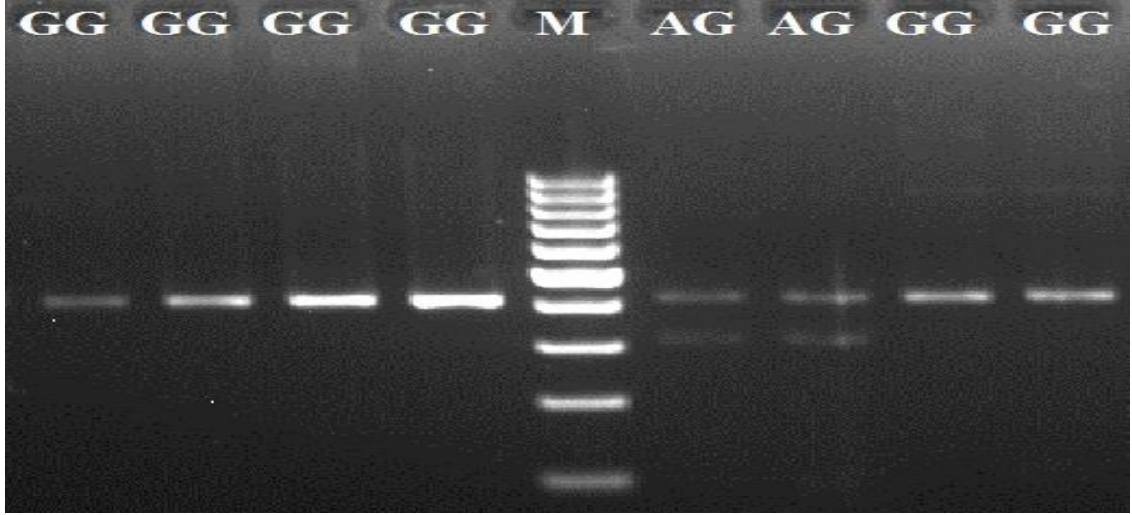


Şekil 2. MYF5 geni için yapılan *TaqI* enzim kesim görüntüsü. M: moleküler marker (100 bp).

3.1.3. *FABP4* geni

FABP4 geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 399 bp'lik PCR ürünlerinin *HinII* enzimi ile kesilmesi sonucunda A ve G olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (AA, AG ve GG) belirlenmiştir. GG genotipli bireylerde 399 bp'lik tek bant, AG genotipli bireylerde 399, 302 ve 97 bp'lik üç bant, AA genotipli bireylerde ise 302 ve 97 bp'lik iki bant görülmüştür (Şekil 3).

Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde GG genotipi en yaygın genotip (116 birey) ve AA genotipinin ise en az görülen genotip (8 birey) olduğu, G allel frekansının ise en yaygın (0.82) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). İncelen erkek buzağılarda da en yaygın genotipin GG (34 birey) genotipi olduğu ve erkek buzağılarda AA genotipli bireylere rastlanılmamıştır (Tablo 3).

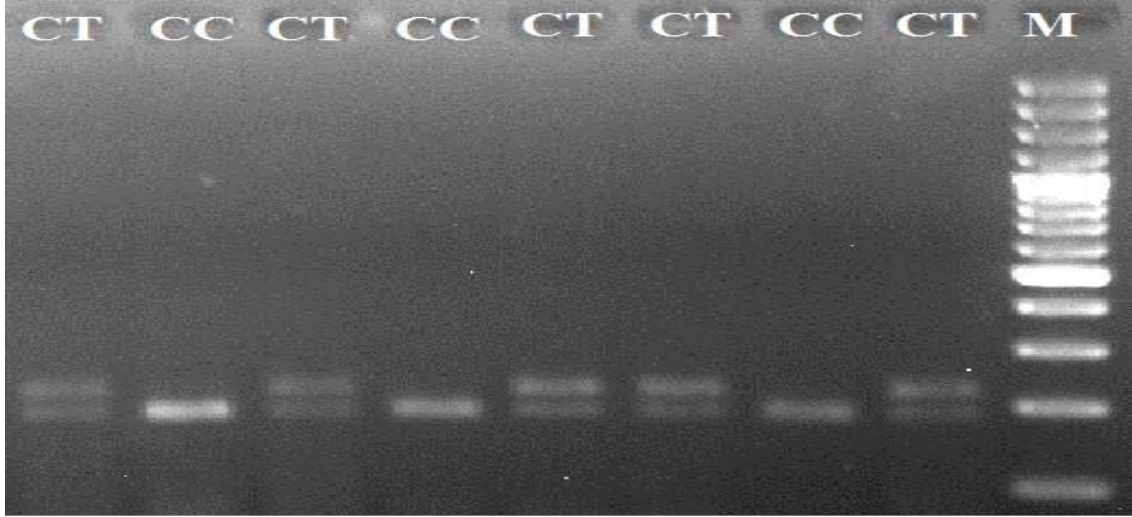


Şekil 3. FABP4 geni için yapılan *HinII* enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

3.1.4. *STAT5A* geni

STAT5A geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 215 bp'lik PCR ürünlerinin *AvaI* enzimi ile kesilmesi sonucunda C ve T olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (CC, CT ve TT) belirlenmiştir. TT genotipli bireylerde 215 bp'lik tek bant, CT genotipli bireylerde 215, 181 ve 34 bp'lik üç bant, AA genotipli bireylerde ise 181 ve 34 bp'lik iki bantın görülmesi beklenmiştir. Ancak 34 bp'lik bant çok küçük olduğu için agaroz jel elektroforezinde görülememiştir. Buna rağmen 215 ve 181 bp'lik bantların bir arada veya ayrı ayrı görülmeleri bireylerin genotiplendirilmeleri için yeterli olduğu görülmüştür (Şekil 4).

Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde CC genotipi en yaygın genotip (123 birey) ve TT genotipinin ise en az görülen genotip (3 birey) olduğu, C allel frekansının ise en yaygın (0.86) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). İncelen erkek buzağılarda da en yaygın genotipin CT (31 birey) genotipi olduğu, TT genotipinin erkek buzağılarda görülmediği, C allel frekansının (0.86), T allel frekansından (0.14) yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

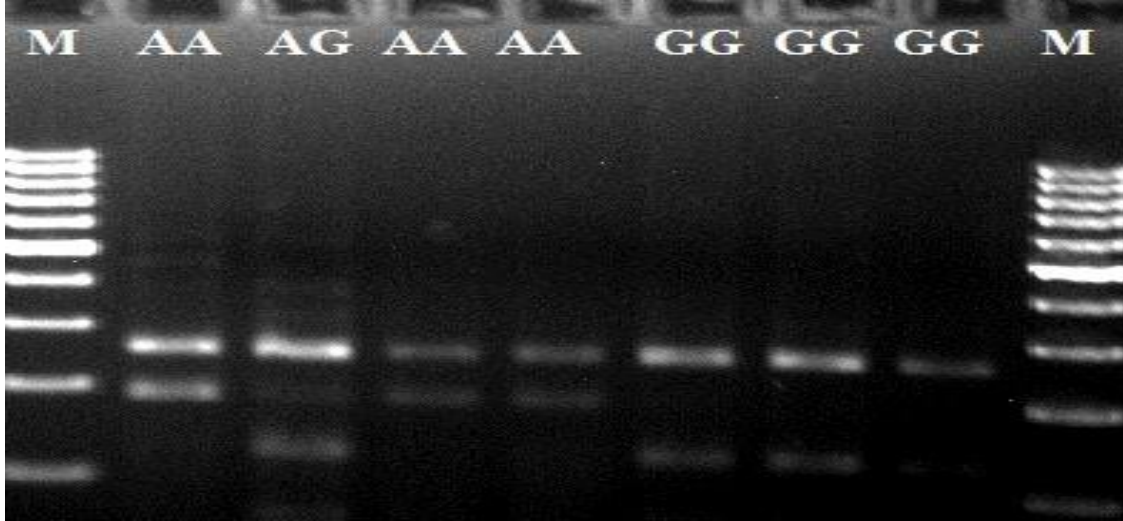


Şekil 4. STAT5A geni için yapılan *Ava*I enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

3.1.5. *N1RH3* geni

N1RH3 geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 416 bp'lik PCR ürünlerinin *HpyCH4IV* enzimi ile kesilmesi sonucunda A ve G olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (AA, AG ve GG) belirlenmiştir. AA genotipli bireylerde 251 ve 185 bp'lik iki bant, GA genotipli bireylerde 251, 185, 95 ve 90 bp'lik dört bant, GG genotipli bireylerde ise 251, 95 ve 90 bp'lik üç bandın görülmesi beklenmiştir. Ancak 95 ve 90 bp'lik bantlar birbirlerine çok yakın oldukları için agaroz jel elektroforezinde ayıramamışlardır. Buna rağmen 251, 185, 95 bp'lik bantların bir arada veya ayrı ayrı görülmeleri bireylerin genotiplendirilmeleri için yeterlidir (Şekil 5).

Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde GG genotipi en yaygın genotip (160 birey) ve AA genotipinin ise en az görülen genotip (6 birey) olduğu görülmüşken AG genotipli bireylere rastlanılamamıştır. İncelenen örneklerde G allel frekansının ise en yaygın (0.96) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

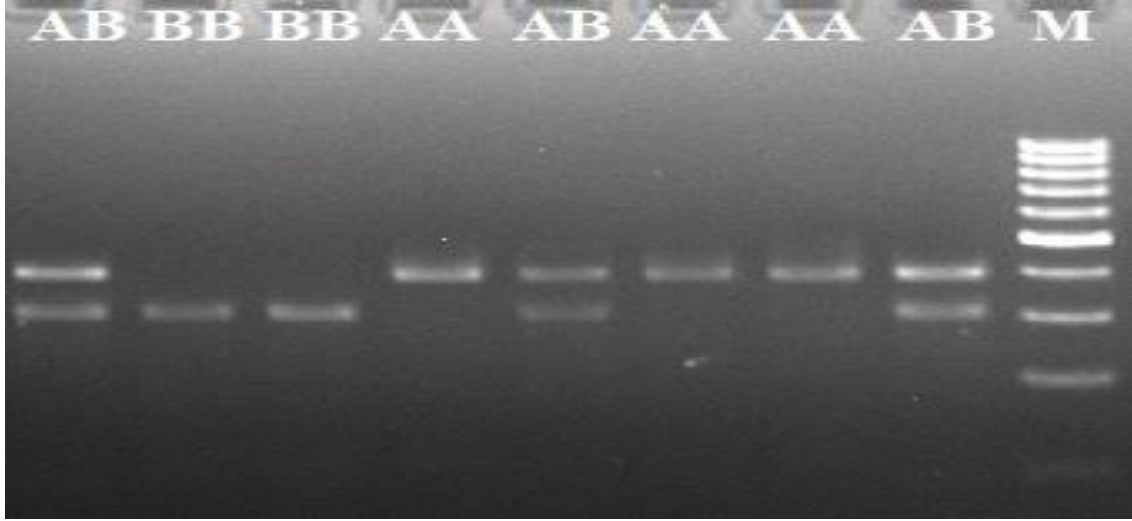


Şekil 5. NR1H3 geni için yapılan *HpyCH4IV* enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

3.1.6. *LEP* geni

LEP geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 422 bp'lik PCR ürünlerinin *Sau3AI* enzimi ile kesilmesi sonucunda A ve B olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (AA, AB ve BB) belirlenmiştir. AA genotipli bireylerde 390 ve 32 bp'lik iki bant, AB genotipli bireylerde 390, 303, 87 ve 32 bp'lik dört bant, BB genotipli bireylerde ise 303, 87 ve 32 bp'lik üç bandın görülmesi beklenmiştir. Ancak 87 ve 32 bp'lik bantlar birbirlerine küçük olduğu için için agaroz jel elektroforezinde görülememiştir. Buna rağmen 390 ve 303 bp'lik bantların bir arada veya ayrı ayrı görülmeleri bireylerin genotiplendirilmeleri için yeterli olduğu görülmüştür (Şekil 6).

Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde AA genotipi en yaygın genotip (93 birey) ve BB genotipinin ise en az görülen genotip (4 birey) olduğu görülmüştür. İncelenen örneklerde A allel frekansının ise en yüksek (0.77) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

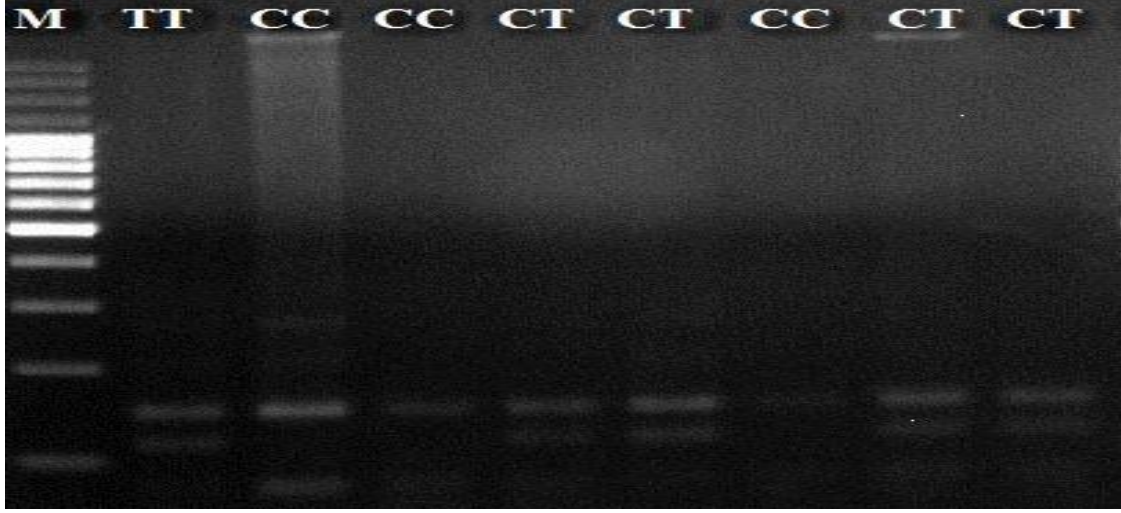


Şekil 6. LEP geni için yapılan *Sau3AI* enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

3.1.7. *SCD* geni

SCD geni yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 256 bp'lik PCR ürünlerinin *Fnu4HI* enzimi ile kesilmesi sonucunda C ve T olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (CC, CT ve TT) belirlenmiştir. CC genotipli bireylerde 143 ve 75 bp'lik iki bant, CT genotipli bireylerde 143, 113 ve 75 bp'lik dört bant, TT genotipli bireylerde ise 143 ve 113 bp'lik üç bandın görülmesi beklenmiştir (Şekil 7).

Süt verimi yönünden incelenen 166 dişi hayvan örnekler içerisinde CC genotipi en yaygın genotip (94 birey) ve TT genotipinin ise en az görülen genotip (16 birey) olduğu görülmüştür. İncelenen örneklerde C allel frekansının ise en yüksek (0.73) allel olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

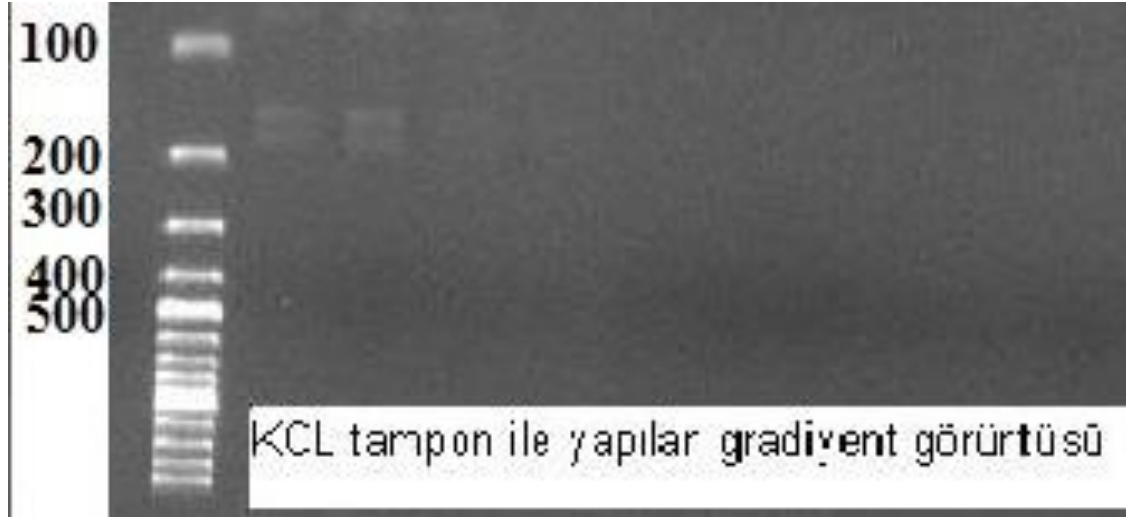


Şekil 7. SCD geni için yapılan *Fnu4HI* enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

3.1.8. *FASN* geni

FASN geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 624 bp'lik PCR ürünlerinin *MscI* enzimi ile kesilmesi sonucunda A ve G olarak adlandırılan iki allel ve üç genotip (AA, AG ve GG) belirlenmiştir. AA genotipli bireylerde 262, 195 ve 167 bp'lik üç bant, AG genotipli bireylerde 362, 262, 195 ve 167 bp'lik dört bant, GG genotipli bireylerde ise 362 ve 262 bp'lik üç bandın görülmesi beklenmiştir.

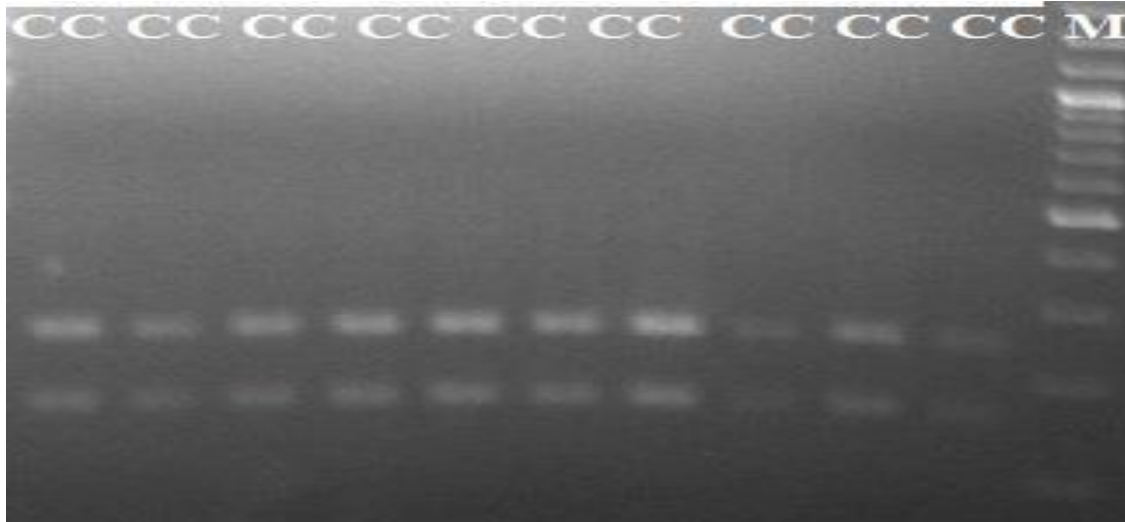
Ancak yapılan önerilen primer kullanılarak yapılan PCR işlemi sonunda elde edilmesi beklenen 625 bp'lik PCR ürünleri elde edilememiş, yapılan PCR işlemi sonunda 100-200 bp arasında iki bant elde edilmiştir (Şekil 8). Bu nedenle kesim işlemi de yapılamamış ve incelenen örneklerin genotiplendirilmeleri yapılamamıştır.



Şekil 8. FASN geni için yapılan gradient PCR sonuçlarının görüntüsü. M: moleküler markır (100, 200, 300, 400 ve 500 bp'lik markır bantları).

3.1.9. *TLR4* geni

TLR4 geni için yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen 405 bp'lik PCR ürünlerinin *Bst*UI enzimi ile kesilmesi sonucunda C ve T olarak adlandırılan iki allel ve üç genotipin (CC, CT ve TT) görülmesi beklenmiştir. Ancak incelenen sağmal ineklerin hepsinin CC genotipinde oldukları belirlenmiştir (Tablo 3). CC genotipli bireylerde 248 ve 157 bp'lik iki bant görülmüştür (Şekil 9).



Şekil 9. *TLR4* geni için yapılan *Bst*UI enzim kesim görüntüsü. M: moleküler markır (100 bp).

Proje başlangıcında yapılması planlanan İnterlökin-10 (IL-10) ve İnterlökin-10 Reseptör (IL-10R) için genotipleme çalışması, seçilen primerlerin istenen bölgeleri çoğaltılamaması nedeniyle çalışılamamış ve bu genler yönünden bireylerin genotipleri belirlenememiştir.

Tablo 3. İncelenen dişi hayvanların *GH*, *N1RH35*, *FABP4*, *STAT5A*, *LEP*, *SCD*, *MYF5*, *FASN* ve *TLR4* genotip ve allel frekansları

Gen		Genotip Frekansı			Allel Frekansı		Ki-kare analizi (HWE)
<i>GH</i>	Gözlenen	LL	LV	VV	L	V	$X^2 = 0.92^{NS}$ P= 0.9375 (df=1)
	Beklenen	143 (%85.7)	23 (%14.3)	0	0.93	0.07	
<i>N1RH35</i>	Gözlenen	AA	AG	GG	A	G	$X^2 = 166^{***}$ P= 0 (df=1)
	Beklenen	6 (%3.6)	0	160 (%96.4)	0.04	0.96	
<i>FABP4</i>	Gözlenen	AA	AG	GG	A	G	$X^2 = 1.83^{NS}$ P= 0.1645 (df=1)
	Beklenen	8 (4.8)	44 (%26.2)	114 (%69)	0.18	0.82	
<i>STAT5A</i>	Gözlenen	CC	CT	TT	C	T	$X^2 = 0.01^{NS}$ P= 0.9226 (df=1)
	Beklenen	123 (%74.4)	40 (%23.8)	3 (%1.8)	0.86	0.14	
<i>LEP</i>	Gözlenen	AA	AB	BB	A	B	$X^2 = 4.61^{NS}$ P= 0.0188 (df=1)
	Beklenen	93 (%54.8)	69 (%42.9)	4 (%2.3)	0.77	0.23	
<i>SCD</i>	Gözlenen	CC	CT	TT	C	T	$X^2 = 2.99^{NS}$ P= 0.1205(df=1)
	Beklenen	94 (%56)	56 (%34.5)	16 (%9.5)	0.73	0.275	
<i>MYF5</i>	Gözlenen	AA	AG	GG	A	G	$X^2 = 11.29^{NS}$ P= 0.005(df=1)
	Beklenen	17(%10.1)	101 (%61.3)	48 (%28.6)	0.41	0.59	
<i>TLR4</i>	Gözlenen	CC	CT	TT	C	T	-
	Beklenen	166	0	0	1	0	

HWE: Hardy-Weinberg Dengesi; df: serbestlik derecesi; ^{NS}: İstatistiksel olarak önemsiz; ***: İstatistiksel olarak 0.001 düzeyinde önemli

Tablo 4. İncelenen erkek buzağılarda *GH*, *MYF5*, *FABP4* ve *STAT5A* genotip ve allel frekansları

Gene	Genotip Frekansı			Allel Frekansı		Ki-kare analizi (HWE)
<i>GH</i>	LL	LV	VV	L allele	V allele	$X^2 = 0.12$

	Gözlenen	54 (%91.5)	5 (%8.5)	0	0.96	0.04	P=0.734 (df=1)
	Beklenen	54.11	4.79	0.11			
		AA	AG	GG	A	G	$\chi^2 = 1.16$
MYF5	Gözlenen	20 (%33.9)	32 (%54.2)	7 (%11.9)	0.61	0.39	P=0.2819 (df=1)
	Beklenen	21.97	28.07	8.97			
		AA	AG	GG	A	G	$\chi^2 = 4.26$
FABP4	Gözlenen	0	25 (%42.4)	34 (%57.6)	0.21	0.79	P=0.0389 (df=1)
	Beklenen	2.65	19.7	36.25			
		CC	CT	TT	C	T	$\chi^2 = 7.49^{**}$
STAT5A	Gözlenen	28 (%47.5)	31 (%52.5)	0	0.74	0.26	P=0.0062 (df=1)
	Beklenen	32.07	22.86	4.07			

HWE: Hardy-Weinberg Dengesi; df: serbestlik derecesi; ** 0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemli

3.2. Buzağlarda Büyüme Performansına Ait Bulgular

Yapılan çalışmada daha önce literatürde bildirilen, farklı tür ve ırklarda büyüme özellikleriyle ilişkili olduğu bildirilen *GH*, *MYF5*, *FABP4* ve *STAT5A* gen polimorfizmleri ile erkek buzağlarda büyüme özellikleri arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışma sonunda, *GH*-*AluI* polimorfizmi ile sütten kesim ağırlığı; *STAT5A*-*AvaI* polimorfizmi ile mamadan kesim ağırlığı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). Diğer taraftan *MYF5*-*TaqI* polimorfizmi ile doğumdaki vücut uzunluğu arasında (Tablo 6); *GH*-*AluI* polimorfizmi ile mamadan kesimdeki göğüs çevresi (Tablo 7) arasında istatistiksel olarak $P<0.05$ düzeyinde ilişki olduğu; cidago yüksekliğiyle hiçbir gen arasında ilişki bulunmadığı görülmüştür (Tablo 8). Diğer taraftan *GH*-*AluI* polimorfizmi ile 6. ay ağırlığı ($P=0.065$), 6. aydaki vücut uzunluğu ($P=0.063$), doğumdaki ($P=0.081$), sütten kesimdeki ($P=0.065$) ve 6. aydaki ($P=0.072$) göğüs çevresi; *STAT5A*-*AvaI* polimorfizmi ile 6. aydaki vücut uzunluğu ($P=0.095$) ve cidago yüksekliği ($P=0.094$) arasında $P<0.1$ düzeyinde ilişki olduğu görülmüştür.

Tablo 5. *GH*, *MYF5*, *FABP4* ve *STAT5A* genlerine ait genotiplere göre canlı ağırlıklara ait (CA) en küçük kareler ortalaması ve standart hataları

Gen	Genotip	N	Farklı Dönemlerdeki Canlı Ağırlıklar (kg)			
			Doğumda	Sütten Kesimde	Mamadan Kesimde	6. Ayda
<i>GH</i>	LL	54	42.38±1.13	53.37±1.25 ^a	73.21±1.71	188.57±4.78 ^a
	LV	5	39.80±2.70	46.89±2.98 ^b	72.43±4.09	166.30±11.41 ^b

P			0.360	0.041	0.856	0.065
	AA	20	45.13±6.57 ^a	55.61±6.47	72.88±8.21	185.05±24.63
MYF5	AG	32	41.88±4.17 ^{ab}	53.55±6.13	76.71±8.87	180.22±19.07
	GG	7	40.71±2.30 ^b	54.20±4.54	76.34±5.72	185.14±28.44
P			0.078	0.719	0.303	0.930
	AG	2	42.47±1.31	52.72±1.51	72.87±1.98	185.25±5.71
FABP4		5				
	GG	34	41.69±1.33	52.54±1.53	73.38±2.00	186.83±5.78
P			0.603	0.918	0.819	0.807
	CC	28	42.23±1.33	52.68±1.53	75.59±1.90 ^a	184.38±5.78
STAT5A	CT	31	41.95±1.34	52.59±1.54	70.61±1.91 ^b	187.69±5.81
P			0.858	0.959	0.028	0.622

Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar ^a ve ^b şeklinde gösterilmiştir. $P < 0.05$; $P < 0.1$

Tablo 6. GH, MYF5, FABP4 ve STAT5A genlerine ait genotiplere göre vücut uzunluğuna (VU) ait en küçük kareler ortalaması ve standart hataları

Farklı Dönemlerdeki Vücut Uzunlukları (cm)						
Gen	Genotip	N	Doğumda	Sütten Kesimde	Mamadan Kesimde	6. Ayda
	LL	54	67.39±0.797	74.35±0.68	78.91±0.67	106.74±1.46
GH	LV	5	69.43±1.903	71.76±1.62	76.56±1.60	99.90±3.48
P			0.306	0.128	0.161	0.063
	AA	20	68.70±4.13 ^a	74.15±4.11	78.35±3.36	106.65±6.72
MYF5	AG	32	67.03±2.82 ^{ab}	74.31±2.40	78.59±3.36	106.34±6.37
	GG	7	65.29±3.45 ^b	74.86±3.08	79.57±3.36	108.86±6.41
P			0.035	0.744	0.623	0.531
	AG	25	67.37±0.93	74.11±0.80	78.44±0.79	106.14±1.74
FABP4	GG	34	67.89±0.94	74.01±0.81	78.86±0.80	105.77±1.77
P			0.620	0.914	0.641	0.850
	CC	28	67.98±0.94	73.97±0.81	78.62±0.80	104.28±1.72
STAT5A	CT	31	67.25±0.94	74.15±0.82	78.66±0.80	107.66±1.73
P			0.505	0.850	0.966	0.095

Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar: ^a ve ^b $P < 0.05$; $P < 0.1$

Tablo 7. GH, MYF5, FABP4 ve STAT5A genlerine ait genotiplere göre göğüs çevresi (GÇ) en küçük kareler ortalaması ve standart hataları

Farklı Dönemlerdeki Göğüs Çevresi Uzunlukları (cm)						
Gen	Genotip	N	Doğumda	Sütten Kesimde	Mamadan Kesimde	6. Ayda
	LL	54	80.56±0.71	87.22±1.04	92.01±1.11 ^a	131.81±1.29
GH	LV	5	77.43±1.70	82.38±2.48	86.53±2.64 ^b	125.98±3.07

P			0.081	0.065	0.050	0.072
	AA	20	81.70±4.40	88.60±4.74	92.30±4.54	131.65±8.280
MYF5	AG	32	80.63±2.85	87.00±4.72	90.78±5.01	130.84±5.036
	GG	7	80.14±2.73	88.00±5.57	93.43±6.99	131.86±7.105
P			0.541	0.613	0.483	0.935
	AG	25	80.74±0.84	86.82±1.24	91.53±1.33	131.16±1.54
FABP4	GG	34	79.65±0.85	86.51±1.26	91.24±1.35	131.13±1.55
P			0.253	0.826	0.847	0.988
	CC	28	80.12±0.86	85.77±1.24	90.32±1.32	130.39±1.55
STAT5A	CT	31	80.29±0.86	87.57±1.24	92.47±1.33	131.91±1.55
P			0.863	0.213	0.165	0.396

Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar: ^a ve ^b $P < 0.05$; $P < 0.1$

Tablo 8. GH, MYF5, FABP4 ve STAT5A genlerine ait genotiplere göre cidago yüksekliğinde (CY) en küçük kareler ortalaması ve standart hataları

Farklı Dönemlerdeki Cidago Yüksekliği (cm)						
Gen	Genotip	N	Doğumda	Sütten Kesimde	Mamadan Kesimde	6. Ayda
	LL	54	77.85±0.80	82.98±0.90	86.43±0.89	108.02±1.52
GH	LV	5	76.03±1.90	80.19±2.16	83.66±2.13	104.50±3.63
P			0.359	0.218	0.216	0.353
	AA	20	78.50±4.15	82.80±4.01	85.90±4.30	107.20±5.87
MYF5	AG	32	77.25±3.12	84.38±4.51	88.03±4.29	109.41±7.34
	GG	7	76.43±3.16	84.14±2.97	86.71±3.55	111.29±7.02
P			0.410	0.398	0.161	0.614
	AG	25	77.57±0.93	82.75±1.06	86.62±1.04	106.69±1.75
FABP4	GG	34	77.72±0.94	82.56±1.07	85.57±1.05	108.58±1.78
P			0.893	0.879	0.377	0.346
	CC	28	77.30±0.94	83.02±1.07	86.85±1.05	109.33±1.74
STAT5A	CT	31	77.99±0.94	82.29±1.08	85.36±1.05	105.89±1.75
P			0.519	0.558	0.221	0.094

3.3. Süt Verimi ve Kompozisyonuna Ait Bulgular

Yapılan çalışmada daha önce literatürde bildirilen, farklı tür ve ırklarda süt verim özellikleriyle ilişkili olduğu bildirilen FABP4, GH, STAT5A, LEP, N1RH3, SCD ve MYF5 gen polimorfizmleri ile sağmal dişi Holstein'lerden elde edilen süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışma sonunda, FABP4-HinII polimorfizmi ile süt yoğunluğu

($P<0.05$) (Tablo 8), *LEP-Sau3AI* polimorfizmi ile gebelik başına tohumlama sayısı ve somatik hücre sayısı (SHS) ($P<0.01$) (Tablo 10), *GH-AluI* polimorfizmi ile 305 günlük süt verimi arasında ilişki olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$) (Tablo 10). Ayrıca *LEP-Sau3AI* ve *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ile sütteki fiziksel özelliklerden iletkenli arasında ilişki ($P<0.1$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 9). Diğer genler yönünden incelenen özellikler ile polimorfizmler arasında ilişki olmadığı görülmüştür

Tablo 9. *FABP4*, *GH*, *STAT5A*, *LEP*, *N1RH3*, *SCD* ve *MYF5* genlerine ait genotipler sütte % yağ, % yağsız kuru madde, % yoğunluk ve % protein arasındaki ilişki

Gen	Genotip	N	Süt Kompozisyon Özellikleri			
			Yağ	Yağsız Kuru Madde	Yoğunluk	Protein
<i>FABP4</i>	AA	8	3.05±0.20	9.10±0.10	32.09±0.47 ^b	3.41±0.10
	AG	44	3.33±0.09	9.09±0.04	30.81±0.22 ^a	3.42±0.05
	GG	114	3.19±0.06	9.09±0.03	30.97±0.15 ^a	3.44±0.03
	P		0.274	0.991	0.045	0.813
<i>GH</i>	LL	143	3.22±0.06	9.09±0.02	31.02±0.14	3.44±0.03
	LV	23	3.19±0.12	9.04±0.05	30.80±0.28	3.39±0.06
	P		0.793	0.367	0.439	0.360
<i>STAT5A</i>	CC	124	3.24±0.06	9.10±0.03	31.01±0.15	3.45±0.03
	CT	40	3.16±0.10	9.06±0.04	30.96±0.23	3.40±0.05
	TT	3	3.21±0.32	8.98±0.04	30.56±0.76	3.40±0.16
	P		0.772	0.588	0.822	0.609
<i>LEP</i>	AA	93	3.20±0.07	9.12±0.04	31.11±0.17	3.46±0.04
	AB	70	3.24±0.08	9.06±0.04	30.91±0.18	3.42±0.04
	BB	4	3.20±0.29	9.04±0.14	30.05±0.68	3.35±0.14
	P		0.925	0.382	0.232	0.502
<i>N1RH3</i>	AA	6	2.88±0.23	9.10±0.11	31.35±0.55	3.44±0.11
	GG	161	3.23±0.05	9.09±0.03	30.98±0.14	3.44±0.03
	P		0.136	0.913	0.500	0.961
<i>SCD</i>	CC	93	3.19±0.06	9.12±0.03	31.10±0.16	3.46±0.03
	CT	57	3.26±0.08	9.06±0.04	30.82±0.16	3.41±0.04
	TT	16	3.22±0.14	8.99±0.07	30.89±0.16	3.40±0.07
	P		0.727	0.134	0.404	0.424
<i>MYF5</i>	AA	16	3.31±0.15	8.99±0.07	31.24±0.34	3.40±0.07
	AG	101	3.22±0.07	9.10±0.03	30.92±0.16	3.42±0.03
	GG	49	3.17±0.09	9.11±0.04	31.03±0.21	3.48±0.04
	P		0.704	0.290	0.656	0.329

Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar: ^a ve ^b $P < 0.05$

Tablo 10. *FABP4*, *GH*, *STAT5A*, *LEP*, *N1RH3*, *SCD* ve *MYF5* genlerine ait genotipler sütte donma noktası (°C), % laktoz, iletkenlik, pH arasındaki ilişki

Gen	Genotip	N	Sütteki Fiziksel Özellikler			
			Donma Noktası	Laktoz	İletkenlik	pH
<i>FABP4</i>	AA	8	60.00±0.59	5.00±0.05	5.16±0.14	6.90±0.02
	AG	44	59.55±0.27	4.98±0.02	5.16±0.07	6.89±0.01
	GG	114	59.81±0.19	4.99±0.02	5.09±0.05	6.89±0.01
P			0.612	0.797	0.549	0.929
<i>GH</i>	LL	143	59.81±0.17	4.99±0.02	5.10±0.04	6.89±0.01
	LV	23	59.41±0.35	4.96±0.03	5.21±0.08	6.88±0.02
P			0.256	0.313	0.185	0.538
<i>STAT5A</i>	CC	124	59.86±0.19	5.00±0.02	5.07±0.04 ^a	6.89±0.01
	CT	40	59.49±0.28	4.97±0.02	5.23±0.07 ^a	6.89±0.01
	TT	3	59.16±0.92	4.93±0.08	5.19±0.22 ^a	6.90±0.04
P			0.365	0.465	0.069	0.860
<i>LEP</i>	AA	93	59.98±0.21	5.01±0.01	5.09±0.05 ^a	6.89±0.01
	AB	70	59.55±0.22	4.97±0.02	5.11±0.05 ^a	6.89±0.01
	BB	4	58.80±0.83	4.93±0.07	5.53±0.20 ^b	6.95±0.04
P			0.125	0.148	0.097	0.247
<i>N1RH3</i>	AA	6	59.94±0.67	5.01±0.06	5.13±0.16	6.86±0.03
	GG	161	59.75±0.17	4.99±0.02	5.11±0.04	6.89±0.01
P			0.775	0.745	0.918	0.200
<i>SCD</i>	CC	93	59.92±0.20	5.00±0.02	5.07±0.05	6.88±0.01
	CT	57	59.55±0.24	4.98±0.02	5.20±0.06	6.90±0.01
	TT	16	59.47±0.42	4.97±0.04	5.05±0.10	6.91±0.02
P			0.279	0.422	0.117	0.248
<i>MYF5</i>	AA	16	59.54±0.42	4.97±0.04	5.14±0.10	6.91±0.02
	AG	101	59.79±0.19	4.99±0.02	5.08±0.05	6.89±0.01
	GG	49	59.76±0.25	5.00±0.02	5.15±0.06	6.89±0.01
P			0.854	0.862	0.587	0.489

Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar: ^a ve ^b $P < 0.1$

Tablo 11. *FABP4*, *GH*, *STAT5A*, *LEP*, *N1RH3*, *SCD* ve *MYF5* genlerine ait genotipler ile süt verimi süt kalitesi ve tohumlama sayısı arasındaki ilişki

Gen	Genotip	N	Özellikler		
			305 GünlükSV	SHS	GBTS
<i>FABP4</i>	AA	8	8258.71±893.87	351.88±143.23	2.51±0.52
	AG	44	7759.48±408.41	368.61±65.44	2.33±0.23
	GG	114	7794.38±281.67	435.81±45.13	2.39±0.16

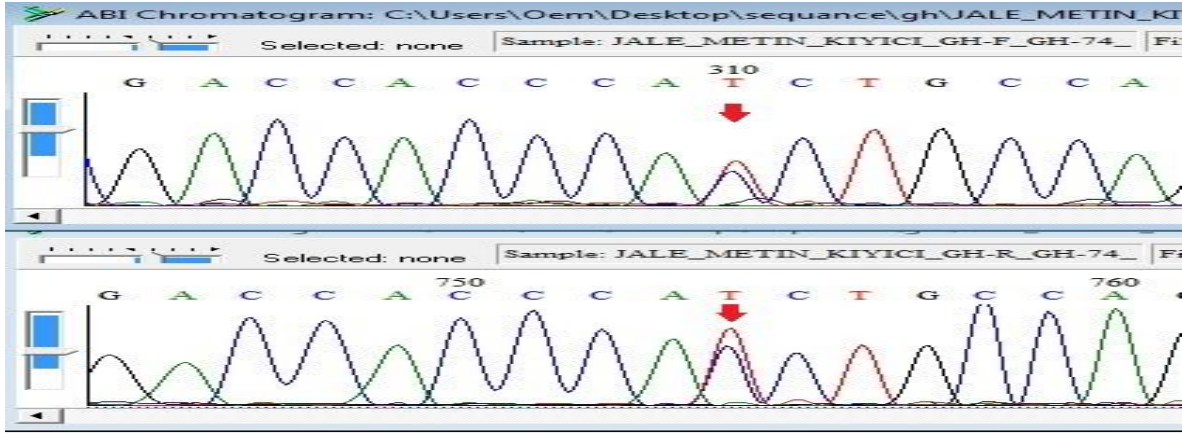
P			0.870	0.548	0.934
GH	LL	143	7637.64±257.42 ^a	428.39±42.13	2.34±0.15
	LV	23	8989.52±511.13 ^b	323.39±83.65	2.67±0.30
P			0.009	0.213	0.278
STAT5A	CC	123	7833.09±280.77	399.16±45.03	2.39±0.16
	CT	40	7739.53±420.82	457.02±67.49	2.33±0.24
	TT	3	7998.43±1399.27	480.37±224.40	2.73±0.81
P			0.970	0.692	0.876
LEP	AA	93	7749.34±317.81	386.92±48.81 ^a	2.20±0.18 ^a
	AB	69	7958.02±329.34	409.02±50.59 ^a	2.66±0.19 ^a
	BB	4	6196.34±1253.20	1162.37±192.50 ^b	0.67±0.71 ^b
P			0.376	0.001	0.007
N1RH3	AA	6	8202.38±1013.33	233.55±162.24	2.00±0.59
	GG	160	7796.94±257.21	421.69±41.18	2.40±0.15
P			0.691	0.250	0.504
SCD	CC	93	7759.03±300.9	373.42±47.94	2.43±0.17
	CT	57	7856.20±368.93	460.63±58.78	2.34±0.21
	TT	16	7960.13±644.31	500.34±102.66	2.28±0.37
P			0.940	0.260	0.886
MYF5	AA	16	7707.01±632.93	481.29±101.85	2.11±0.37
	AG	101	7640.86±298.91	428.04±48.10	2.38±0.17
	GG	49	8212.21±388.02	359.62±62.44	2.50±0.23
P			0.390	0.462	0.639

GBT:S Gebelik Başına Tohumlama Sayısı; SV: Süt Verim; SHS:Somatik Hücre Sayısı; Genotipler arasındaki istatistiksel farklılıklar: ^a ve ^b $P < 0.01$

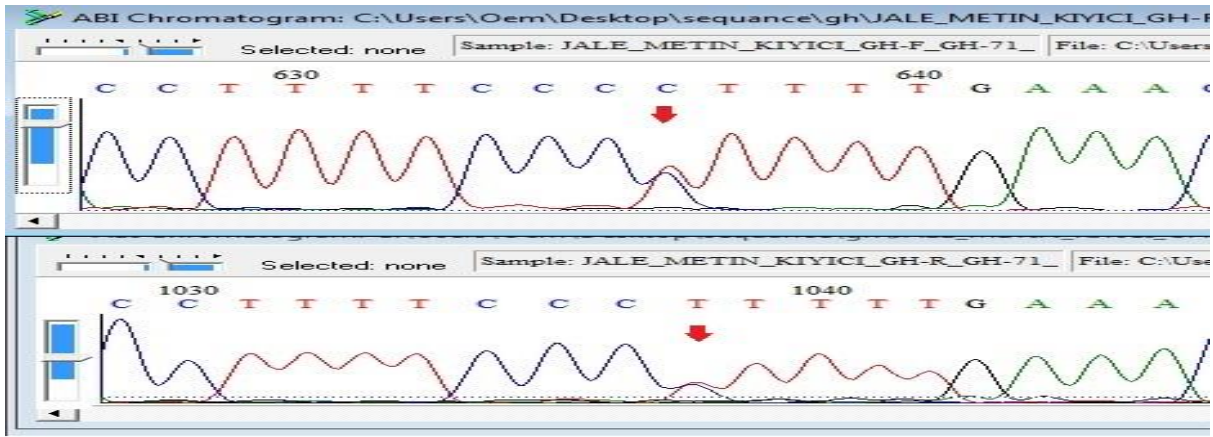
3.4.Sekans Analizlerine Ait Bulgular

3.4.1. GH Geni Sekans Analizi

JQ711182.1 ID numarasına uygun olarak dizayn edilen primerler ile yapılan sekans analizinde intron 3 bölgesindeki 1601 numaralı (Şekil 10) ve intron 4 bölgesindeki 1926 numaralı (Şekil 11) numaralı bazlarda C>T değişimleri tespit edilmiştir.



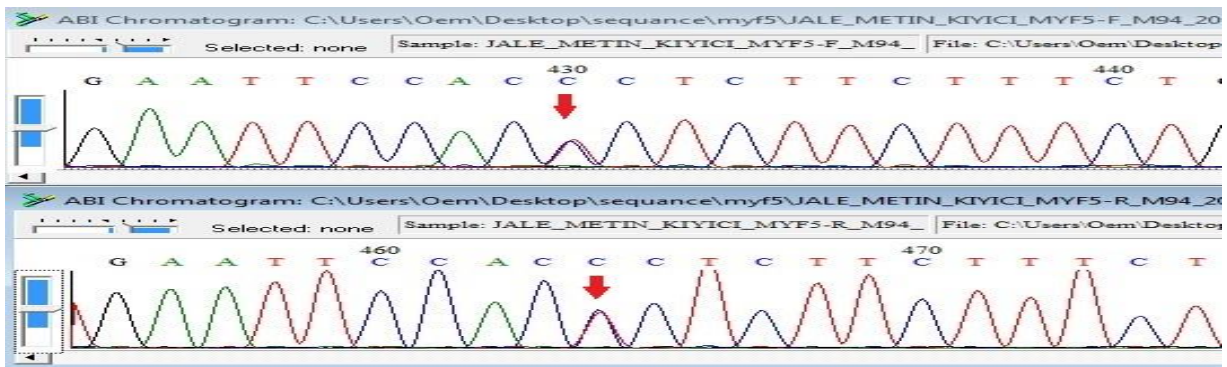
Şekil 10. İntron 3 bölgesindeki 1601 numaralı bazda C>T değişimi.



Şekil 11. İntron 4 bölgesindeki 1926 numaralı bazda C>T değişimi.

3.4.2. MYF5 Geni Sekans Analizi

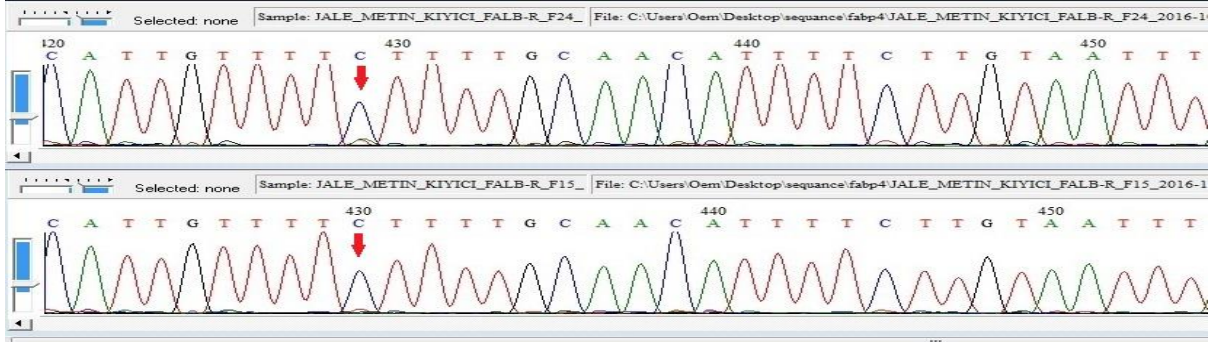
ENSBTAT00000038612 ID numarasına uygun olarak dizayn edilen primerler ile yapılan sekans analizinde intron 2 bölgesindeki 2493 numaralı bazda (Şekil 12) T>C değişimi tespit edilmiştir.



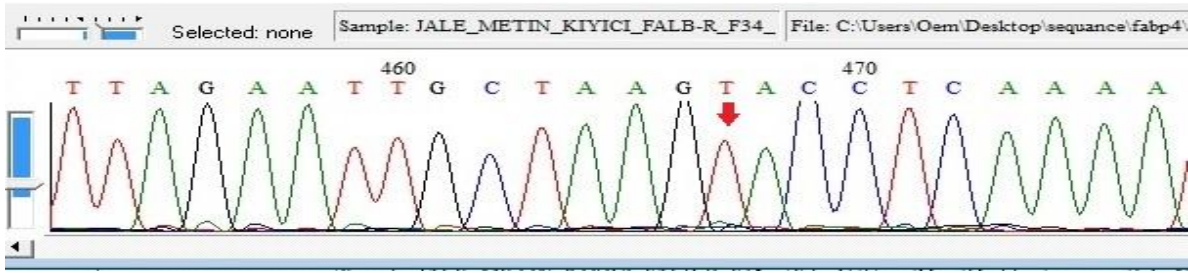
Şekil 12. İntron 2 bölgesindeki 2493 numaralı bazda T>C değişimi.

3.4.3. FABP4 Geni için Sekans Analizi

ENSBTAT0000000079 ID numarasına göre dizayn edilen primerler ile yapılan sekans analizinde intron 3 bölgesindeki 4694 numaralı bazda (Şekil 13) A>C ve ekzon 4 bölgesindeki 4731 numaralı bazda (Şekil 14) A>T değişimi tespit edilmiştir.



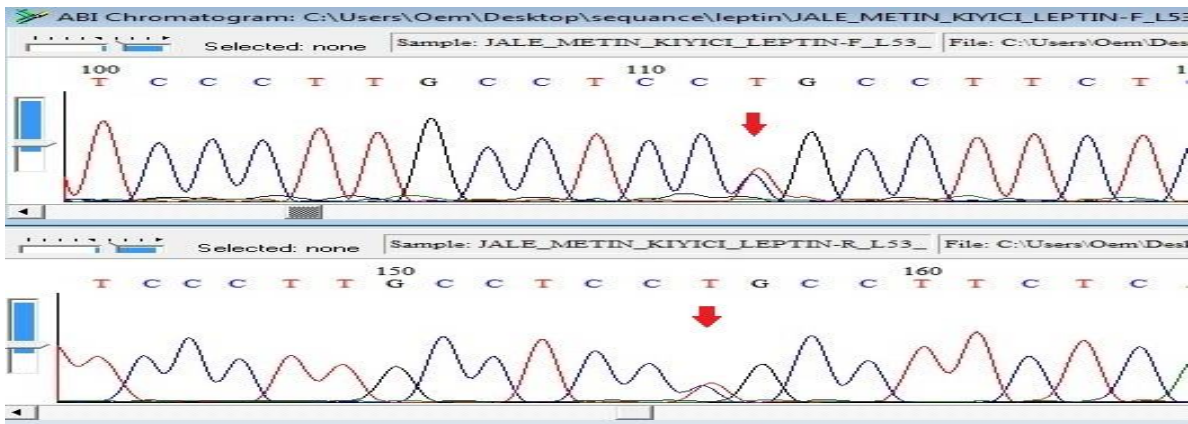
Şekil 13. İntron 3 bölgesindeki 4694 numaralı bazda A>C değişimi.



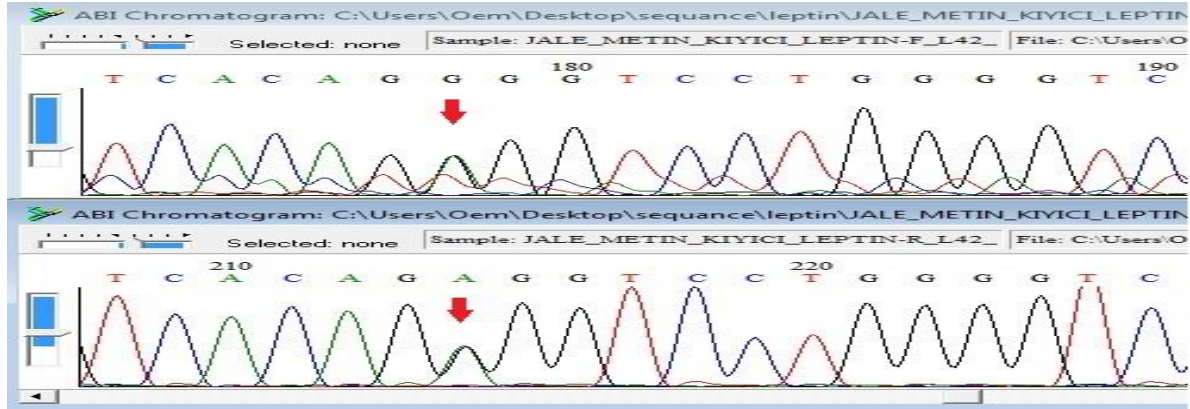
Şekil 14. Ekzon 4 bölgesindeki 4731 numaralı bazda A>T değişimi.

3.4.4. LEP Geni Sekans Analizi

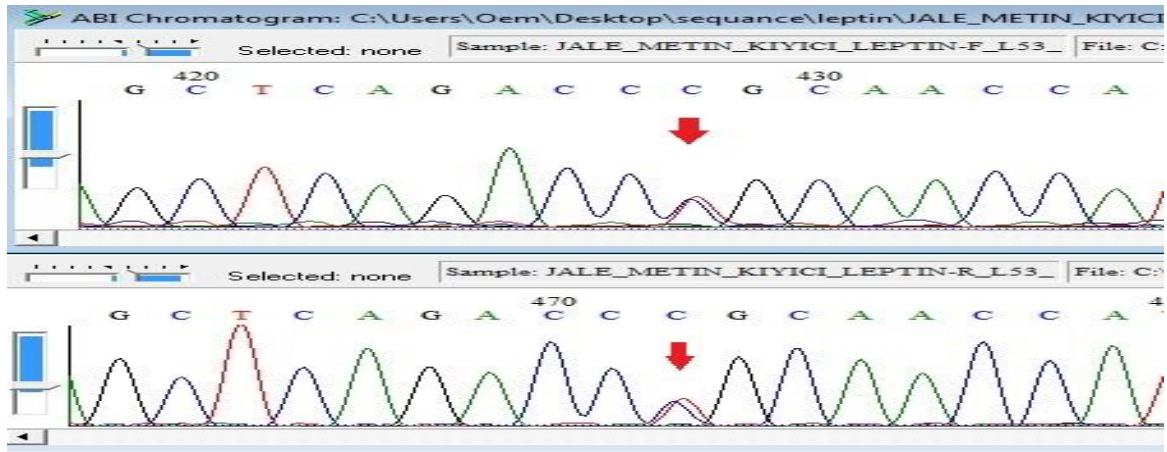
ENSBTAT00000019853 ID numarasına göre dizayn edilen primerler ile yapılan sekans analizinde intron 3 bölgesindeki 13614 numaralı bazda (Şekil 15) C>T, 13678 numaralı bazda (Şekil 16) A>G, 13930 numaralı bazda (Şekil 17) T>C, 13938 numaralı bazda (Şekil 18) C>T değişimleri tespit edilmiştir.



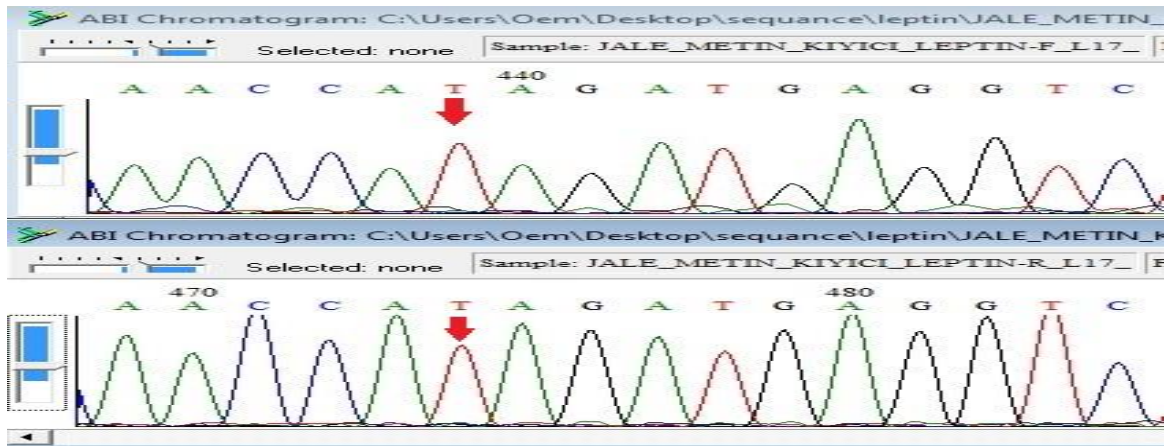
Şekil 15. İntron 3 bölgesindeki 13614 numaralı bazda C>T değişimi.



Şekil 16. İntron 3 bölgesindeki 13678 numaralı bazda A>G değişimi.



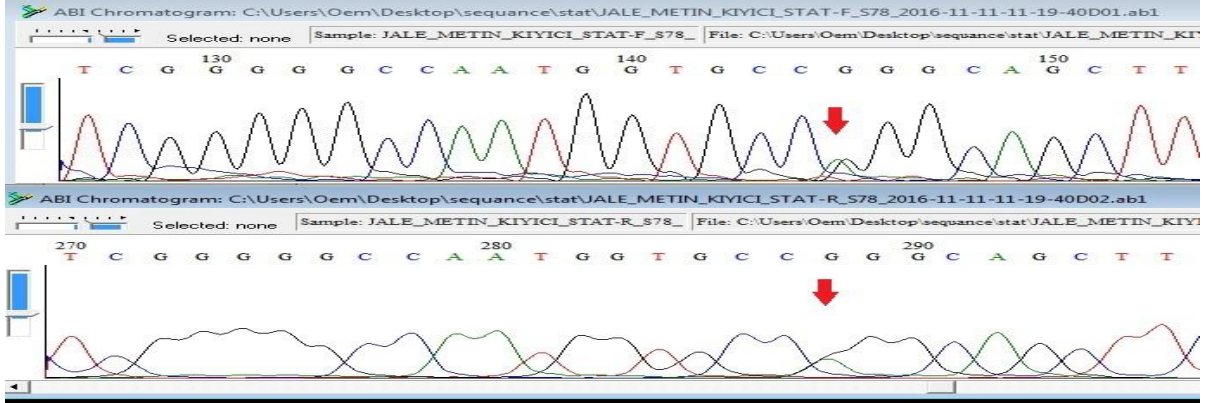
Şekil 17. İntron 3 bölgesindeki 13930 numaralı bazda T>C değişimi.



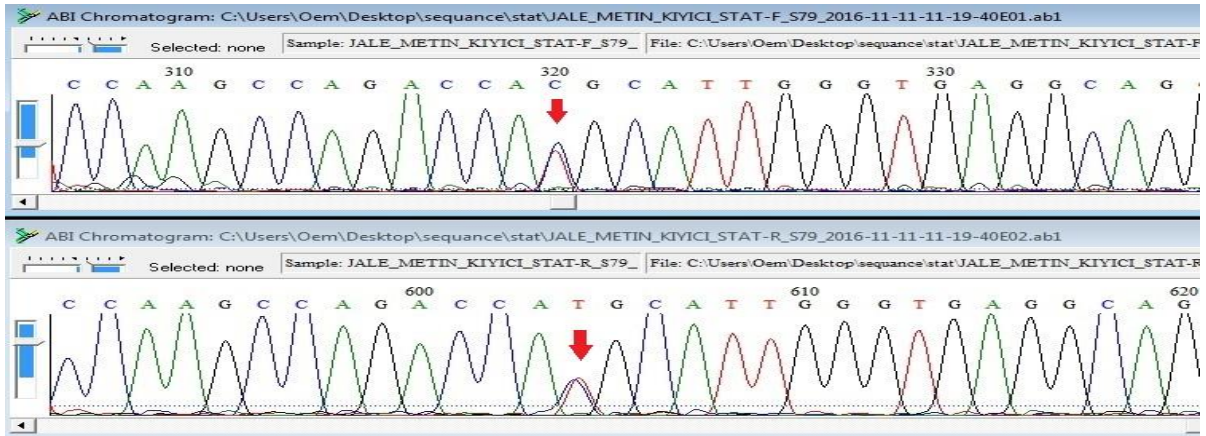
Şekil 18. İntron 3 bölgesindeki 13938 numaralı bazda C>T değişimi.

3.4.5. STAT5A Geni Sekans Analizi

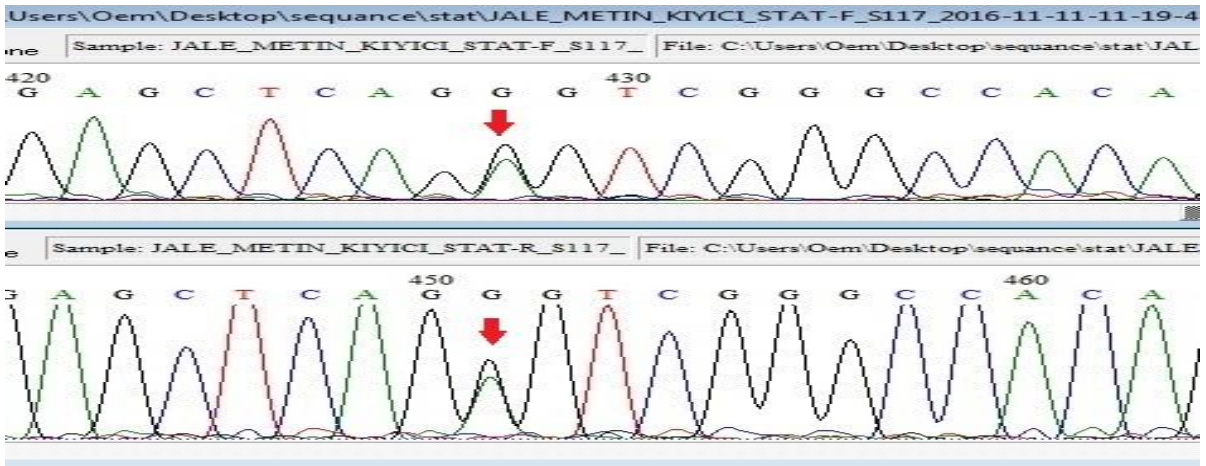
AC_000176.1 ID numarasına göre dizayn edilen primerler ile yapılan sekans analizinde intron 6 bölgesindeki 11845 numaralı bazda (Şekil 19) A>G, 12033 numaralı bazda (Şekil 20) T>C, 12133 numaralı bazda (Şekil 21) A>G, 12167 numaralı bazda (Şekil 22) C>T değişimleri tespit edilmiştir.



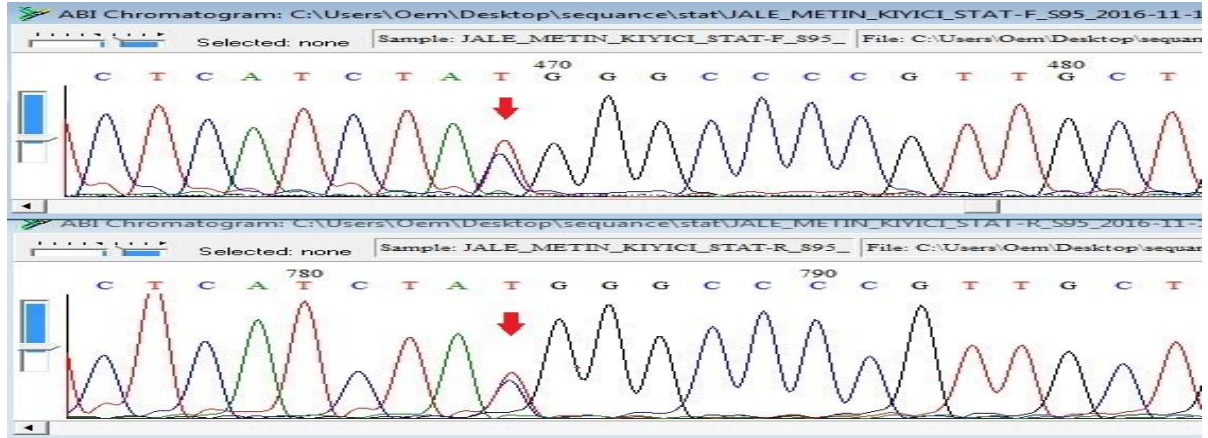
Şekil 19. İntron 6 bölgesindeki 11845 numaralı bazda A>G değişimi.



Şekil 20. İntron 6 bölgesindeki 12033 numaralı bazda T>C değişimi.



Şekil 21. İntron 6 bölgesindeki 12133 numaralı bazda A>G değişimi.



Şekil 22. İntron 6 bölgesindeki 12167 numaralı bazda C>T değişimi.

3.5. Süt Kalitesine (Süt Somatik Hücre Sayısı-SSHS) Ait Bulgular

Süt Somatik Hücre Sayısı (SSHS) analiz sonuçlarına göre farklı SSHS gruplarının süt kompozisyon özelliklerinden yağ, yoğunluk, donma noktası, laktoz ve iletkenlik özellikleri üzerinde $P<0.01$ 'de ve yağsız kuru madde de $P<0.05$ 'te önemli etkisinin olduğunu göstermiştir. SSHS ile süt kompozisyonu ve süt verimi arasındaki ilişki Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Süt Somatik Hücre Sayısı ile süt kompozisyonu ve süt verimi arasındaki ilişki

Değişken	Sütteki Somatik Hücre Sayısı (SSHS)			P
	≤ 200.000 hücre/ml	> 200.000 hücre/ml	Toplam	
Süt Kompozisyonu	(n=1043)	(n=582)	(n=1625)	
Yağ (%)	3.01 $\pm$ 1.23	3.46 $\pm$ 1.21	3.17 $\pm$ 1.24	0.01
Yağsız Kuru Madde (%)	9.11 $\pm$ 0.54	9.04 $\pm$ 0.68	9.08 $\pm$ 0.59	0.02
Yoğunluk (%)	31.22 $\pm$ 2.74	30.52 $\pm$ 3.80	30.97 $\pm$ 3.18	0.01
Protein (%)	3.46 $\pm$ 0.95	3.40 $\pm$ 0.18	3.44 $\pm$ 0.76	0.11
Donma Noktası (%)	60.02 $\pm$ 3.41	59.14 $\pm$ 3.21	59.70 $\pm$ 3.36	0.01
Laktoz (%)	5.00 $\pm$ 0.26	4.93 $\pm$ 0.34	4.98 $\pm$ 0.30	0.01
İletkenlik (%)	4.95 $\pm$ 0.42	5.11 $\pm$ 0.55	5.01 $\pm$ 0.48	0.01
pH	6.87 $\pm$ 0.27	6.88 $\pm$ 0.42	6.88 $\pm$ 0.33	0.65
Verim	(n=70)	(n=97)	(n=167)	
305 Gün Süt Verimi	8221.50 $\pm$ 2373.45	7831.71 $\pm$ 2202.11	7995.10 $\pm$ 2276.65	0.276

Süt verimi bakımından $SHS \leq 200\ 000$ hücre mL^{-1} ve $SHS > 200\ 000$ hücre mL^{-1} karşılaştırıldığında sırasıyla 8221.50 $\pm$ 2373.45 kg (26.956 kg/gün) ve 7831.71 $\pm$ 2202.11 kg

(25.678 kg/gün) olarak elde edilmiştir. Süt verimi $SHS \leq 200000$ hücre mL^{-1} grubunda daha yüksek olmasına karşın sonuç istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Çalışmada belirlenen bu sonuç GUO Jia-zhong et al., (2010) tarafından yapılan çalışmada günlük süt verimini $SHS \leq 200\ 000$, $200\ 000-500\ 000$, $500\ 000-1\ 000\ 000$ ve $>1\ 000\ 000$ olan gruplarda süt verimini sırasıyla 26.750 kg, 26.365 kg, 25.791 kg ve 24.401 kg olarak belirledikleri çalışmayla uyumludur. % yağ $SHS \leq 200\ 000$ hücre mL^{-1} 3.01 ± 1.23 ve $SHS > 200\ 000$ hücre mL^{-1} de 3.46 ± 1.21 olarak elde edilmiş ve istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) olmuştur. Elde edilen bu sonuç GUO Jia-zhong et al., (2010) tarafından bildirilen sonuçla örtüşmektedir. % yağsız kuru madde, yoğunluk, donma noktası, laktoz ve iletkenlik özelliklerinde iki grup arasındaki fark istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuş bu değerler sırasıyla $SHS \leq 200\ 000$ hücre mL^{-1} ve $SHS > 200\ 000$ hücre mL^{-1} gruplarda 9.11 ± 0.54 ve 9.04 ± 0.68 , 31.22 ± 2.74 ve 30.52 ± 3.80 , 60.02 ± 3.41 ve 59.14 ± 3.21 , 5.00 ± 0.26 ve 4.93 ± 0.34 , 4.95 ± 0.42 ve 5.11 ± 0.55 olarak elde edilmiştir. % protein $SHS \leq 200\ 000$ hücre mL^{-1} grubunda 3.46 ± 0.95 ve $SHS > 200\ 000$ hücre mL^{-1} grubunda 3.40 ± 0.18 ve pH $SHS \leq 200\ 000$ hücre mL^{-1} grubunda ve $SHS > 200\ 000$ hücre mL^{-1} grubunda 6.87 ± 0.27 6.88 ± 0.42 olmuş ve gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. SHS ile süt kompozisyonu ve süt verimi arasındaki korelasyon değerleri Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12. SHS ile süt kompozisyonu ve süt verimi arasındaki korelasyon değerleri

	SHS	Süt Verimi	Yağ	Yağsız K.M.	Yoğunluk	Protein	Donma Noktası	Laktoz	İletkenlik	pH
SHS	1									
Süt Verimi	-0.081	1								
Yağ	0.075	0.023	1							
Yağsız K.M.	-0.092	-0.095	-0.033	1						
Yoğunluk	-0.164*	-0.099	-0.414**	0.731**	1					
Protein	-0.081	-0.099	0.037	0.323**	0.253**	1				
Donma Noktası	-0.101	-0.114	-0.156*	0.909**	0.811**	0.332**	1			
Laktoz	-0.109	-0.130	-0.099	0.928**	0.809**	0.344**	0.976**	1		
İletkenlik	0.251**	0.025	-0.080	-0.172*	-0.108	-0.092	-0.278**	-0.172*	1	
pH	0.290**	0.050	0.100	-0.016	-0.064	0.067	-0.054	-0.057	0.016	1

SHS: Somatik hücre sayısı; K.M: Kuru madde

Çalışma sonunda, SSHS ve süt verimi arasında (-0.081) negatif korelasyon ($P<0.05$) ve SSHS ve protein arasında negatif korelasyon (-0.081) elde edilmiştir. Guo *et al.*, (2010) yaptıkları çalışmada bu değeri -0.084 olarak bildirmişlerdir. SSHS ve yağsız kuru madde, SSHS ve donma noktası, SSHS ve laktoz arasında sırasıyla -0.092, -0.101, -0.09 negatif korelasyon ve SSHS ve yoğunluk arasında -0.164 önemli negatif korelasyon ($P<0.05$) elde edilmiştir. SSHS ve yağ arasında pozitif 0.075 ve SSHS ve iletkenlik, SSHS ve pH arasında sırasıyla 0.251, 0.290 yüksek önemli pozitif korelasyon ($P<0.01$) belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

4.1. Genotip ve Allel Frekansları

4.1.1. GH Geni

Büyüme hormonunun, postnatal büyüme ve gelişme ile meme bezinin gelişmesi ve süt üretiminde dahil olduğu birçok fizyolojik süreçte rol oynamaktadır. Bu nedenle *GH* geninin çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde önemli verim özelliklerinden süt ve et verimi ile süt ve karkas kompozisyonu özellikleri için genetik belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Dybus, 2002; Ge ve ark., 2003).

Sığır *GH* geni ile verim özellikleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda en çok gen üzerinde *AluI* ve *MspI* enzim kesim noktalarının oluşmasına neden olan tek nükleotid polimorfizmleri kullanılmıştır (Reis ve ark., 2001; Zhou ve ark., 2005). Türkiye’de yetiştirilen sağmal Holştayn ineklerde süt verimi ve süt verim özellikleri ile besi için kullanılan erkek Holsteinlerde *AluI* enzim kesim noktasının oluşmasına neden olan SNP kullanılmıştır. Elde edilen genotipik özellikler ile Holstein ırkı sığırlarda büyüme ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Çalışmada incelenen hem dişi hemde erkek Holsteinlerde LL genotip frekansı (%85.7; %91.5) diğer genotiplerden yüksek bulunmuştur. Bu durum literatürle uyumludur. Farklı ülkelerde yetiştirilen Polonya’da (Dybus, 2002; Lechniak ve ark., 2002), Macaristan’da (Kovács ve ark., 2006), Rusya’da (Khatami ve ark., 2005), Almanya’da (Schlee ve ark., 1994), Kanada’da (Sabour ve Lin, 1996), Avustralya’da (Shariflou ve ark., 2000) yetiştirilen Holstein ırkı sığırlarda *GH-AluI* polimorfizminin araştırıldığı çalışmalarda LL genotip frekansının en yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmada incelenen Holstein’lerde VV genotipli bireylere ratlanılmamıştır. Benzer şekilde Holsteinlerde yapılan çalışmalarda VV genotip frekansının çok düşük olduğu bildirilmiştir (Dybus, 2002; Khatami ve ark., 2005; Kovács ve ark., 2006). Bu durumun Holstein’lerde süt verim özelliği için yapılan seleksiyon çalışmalarının sonu olarak geliştiği düşünülmüştür.

Polonya’da yetiştirilen 1086 baş Holştayn sığırında birinci, ikinci ve üçüncü laktasyon süt verimleri ile *GH-AluI* polimorfizmi arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, birinci laktasyonda LL genotipli bireylerin süt verimi bakımından en iyi genotip olduğu ancak ikinci ve üçüncü laktasyonda süt verimi açısından genotipler arasında fark bulunmadığı bildirilmiştir (Dybus, 2002). Macaristan’da yetiştirilen 363 baş Holştayn sığırında *GH-AluI* polimorfizmi ile süt verim özelliklerinden incelendiği bir çalışmada; LV genotipli bireylerin süt kompozisyon

özellikleri yönünden diğer genotiplere tercih edilebileceği bildirilmiştir (Kovács ve ark., 2006). Benzer şekilde Holştayn ve Simental ırkı sığırlarda, *GH-AluI*-LV genotipi bireylerin diğer genotiplilere göre daha iyi süt ve süt protein verim özelliklerine sahip olduğu, LL genotiplilerin ise yağ veriminde diğer genotiplilerden üstün olduğu bildirilmiştir (Grochowska ve ark., 2001). Türkiyede yetiştirilen Holstein ırkı sığırlarda süt verim özelliklerinin incelendiği bu çalışmada da diğer çalışmalarla uyumlu olarak LL genotipli bireylerin daha yüksek süt verimine sahip oldukları görülmüştür.

Simmental ırkı sığırlarda *GH-AluI* polimorfizm ve canlı ağırlık artışı arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, LV genotipli bireylerin diğer genotiplilere göre daha yüksek canlı ağırlık artışına sahip oldukları bildirilmiştir (Sabour ve Lin, 1996). Ancak, Holştaynlarda yapılan bir çalışmada ise VV genotipli bireylerde günlük canlı ağırlık artışlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zwierzchowski ve ark., 2001).

Erkek Holstein’lerde büyüme özellikleri ile *GH-AluI* polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bu çalışmada, LL genotipli bireylerin sütten kesim ve 6. aydaki canlı ağırlık ve vücut uzunluğu ile ölçümlerin yapıldığı tüm dönemlerdeki göğüs çevresi yönünden diğer genotiplerden daha iyi olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışma sonunda *GH-AluI* polimorfizmi yönünden LV genotipli hayvanların süt verim açısından tercih edilebileceği sonucuna varılmıştır.

4.1.2. MYF5 geni

Yapılan literatür taramasında sığırlarda *MYF5* gen polimorfizminin araştırılma sayısının az olduğu görülmüştür. Bu çalışmaların birinde *Bos taurus* kökeni üç farklı yerli Çin (Jiaxian red, Nanyang ve Qinchuan) sığır ırkında *MYF5* gen polimorfizmi araştırılmış ve A allel frekansının G’den yüksek olduğu, GG genotipinin bulunmadığı ve AA genotipinin en yaygın genotip olduğu bildirilmiştir (Ujan ve ark., 2011). Bir yerli Kore sığır ırkının olan Hanwoo sığır ırkında da GG (0.55) genotip frekansının en yüksek olduğu buna karşılık AA genotip frekansının (0.08) en düşük olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan Avrupa kökenli etçi bir sığır ırkı olan Angus ırkında A allel frekansı (0.51) ile G allel frekansının (0.49) birbirine yakın olduğu; AG’nin en yaygın genotip olduğu, GG ve AA genotiplerinin görülme sıklığının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir (Chung ve ark., 2005). Bir başka Avrupa kökenli etçi sığır ırkı olan Charolais ırkında yapılan bir çalışmada AG genotip frekansının (0.48), Angus ırkındaki gibi en yaygın genotip olduğu ancak AA genotip frekansının (0,36), GG genotip frekansından (0.16) daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Kišacová ve ark., 2009). Benzer

şekilde Avrupa kökenli bir sığır ırkı olan Holstein ırkının incelendiği bu çalışmada da AG genotip en yüksek frekansa (0.61) sahip olduğu belirlenmiştir.

Farklı verim özellikleri için yetiştirilen sığır ırklarında *MYF5* geninde bulunan farklı polimorfizmler ile et verimi ve et kalite özellikler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmaların birinde *MYF5* geni ile bazı et verim özellikleri arasındaki ilişki araştırılmış ve Holstein ırkında *MYF5* geni ile musculus longissimus dorsi ağırlığı ve bu kasta bulunan yağ miktarı arasında ilişkili olduğu bildirilmiştir (Robakowska-Hyzorek ve ark., 2010). Bir başka çalışmada *Bos taurus* kökenli dört Çin yerli sığır ırkında, *MYF5* geni ile kesim ağırlığı, bel gözü kası ağırlığı, bel gözü kası genişliği, su tutma kapasitesi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Ujan ve ark., 2011).

Yine Çin yerli sığır ırklarından Nanyang, Qinchuan ve Jiaxian ırkı sığırlarda *MYF5* geni ile buzağı doğum ağırlıkları, ortalama günlük canlı ağırlık artışı, cidago ve kalça yüksekliği arasındaki ilişki araştırılmış ve incelenen ırklardan sadece Qinchuan ırkında *MYF5* geni ile a cidago ve kalça yüksekliği arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir (Ujan ve ark., 2011).

Bir Kore yerli sığır ırkı olan Hanwoo ırkında yapılan bir çalışmada, *MYF5* geni ile 12. ay canlı ağırlığı ve günlük canlı ağırlık artışı arasında ilişkili olduğu, buna karşılık doğum ağırlığı ve altıncı ay canlı ağırlığı arasında ilişkili olmadığı belirlenmiştir (Bhuiyan ve ark., 2009).

Angus, Simmental, Hereford, Shorthorn, Hanwoo, Brahman and Red Chittagong ırkı sığırlarda yapılan bir çalışmada çalışmada, AA genotipli bireylerin diğer iki genotipe göre daha iyi karkas randımanına sahip oldukları ve canlı ağırlık yönünden ise GG genotiplilerden %3.52, AG genotiplilerden ise %3.70 daha iyi oldukları bildirilmiştir (Bhuiyan ve ark., 2009).

Bu çalışmalarla uyumlu olarak, Holstein ırkı erkek buzağılarda *MYF5-Taql* polimorfizmi ile buzağı doğum ağırlığı (Tablo 4) ve doğumdaki vücut uzunluğu (Tablo 5) arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Ancak süt verim özellikleri ile *MYF5-Taql* polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

4.1.3. *FABP4* geni

FABP4 proteininin yağ metabolizmasında rolü nedeniyle bu çalışmada, *FABP4* proteinini kodlayan gen polimorfizminin, dişi ve erkek Holstein sığırlarda et verimi ile süt verimi ve süt kompozisyonu arasında ilişkinin araştırılması düşünülmüştür.

Kore’de yetiştirilen yerli bir sığır ırkı olan Hanwoo ırkına ait besi hayvanlarında *FABP4* polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada GG genotip frekansının (0.50) genotiplerden yüksek olduğu AA genotip frekansının ise (0.07) çok düşük olduğu bildirilmiştir (Maharani ve ark., 2012). Benzer şekilde bu çalışmada incelenen dişi ve erkek Holsteinlerde de GG genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğu görülmüştür (0.69; 0.57 sırasıyla), ancak AA genotipi dişilerde görülmüşken (0.05), erkeklerde bulunamamıştır. Çalışmada *FABP4* geni için kullanılan SNP başka sığır ırklarında kullanıldığı çalışmaya rastlanılmaması nedeniyle, diğer sığır ırklarının bu SNP yönünden genotipleri hakkında bir bilgi elde edilememiştir. Yapılan literatür taramasında, sığırlarda büyüme özellikleri ve vücut ölçüleri ile *FABP4-HinII* polimorfizmi arasında ilişkinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Erkek Holstein buzağlarının kullanıldığı bu çalışmada *FABP4-HinII* polimorfizmi ile incelenen özellikler arasında ilişki belirlenememiştir.

4.1.4. *STAT5A* geni

Bir transkripsiyon faktörü olan *STAT5A*’ın büyüme ve meme bezinin gelişimindeki rolü nedeniyle bu çalışmada, *STAT5A* geninde bulunan *AvaI* polimorfizminin, dişi ve erkek Holstein sığırlarda et verimi ile süt verimi ve süt kompozisyonu arasında ilişkinin araştırılması düşünülmüştür.

Yapılan bu çalışmada incelenen dişi Holsteinlerde CC genotip frekansının (0.744) en yüksek olduğu ve TT genotipinin ise (0.018) en düşük genotip frekansına sahip olduğu, erkek Holsteinlerde ise CT genotip frekansının (0.52) yüksek olduğu ve TT genotipli bireylerin bulunmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak İran’da yetiştirilen Holsteinlerde CC genotip frekansının (0.739) en yüksek olduğu ve TT genotipinin bulunmadığı bildirilmiştir. Yine bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Polonya’da (Flisikowski ve ark., 2003a; Kmiec ve ark., 2010), Çin’de (He ve ark., 2012) yetiştirilen Holsteinlerde CC genotip frekansının en yüksek olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık İtalyan Holsteinlerinde CC genotipine rastlanılmamışken CT genotip frekansının (0.62) en yüksek olduğu bildirilmiştir (Dario ve ark., 2009).

Büyüme performansı ile ilgili çalışmalarda ise besiyeye alınan erkek Holsteinlerde CC genotipli hayvanların mamadan kesim ağırlığı ($P<0.05$), 6. ay vücut uzunluğu ve cidağıo yüksekliği ($P<0.1$) yönünden diğer genotipten iyi olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışma sonuçlarına uygun olarak Polonya’da ve İtalya’da Holstein ırkı da dahil farklı sığır ırklarında *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ile büyüme ve karkas özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada CC genotipli

hayvanların farklı dönemlerdeki canlı ağırlığı, bu dönemlerdeki canlı ağırlık artışı ve karkas özellikleri yönünden CT genotipinden iyi olduğu bildirilmiştir (Flisikowski ve ark., 2003b). Ayrıca CC genotipli bireylerin yemden yararlanmalarının da diğer genotipli bireylerden yüksek olduğu bildirilmiştir (Flisikowski ve ark., 2003b).

Holstein ırkında (Kmieć ve ark., 2010; Oikonomou ve ark., 2011; Sadeghi ve ark., 2009), Jersey ırkında (Dario ve ark., 2011) ve Simental ırkında (Viorica ve ark., 2010) *STAT5A* geninde bulunan farklı SNP noktaları ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki olduğu bildirilmiştir. Ancak Holstein ırkında *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ve süt verim özelliklerinin araştırıldığı bu çalışmada, farklı genotipler ile süt verim özellikleri arasında ilişki bulunamamıştır. Bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olarak Holstein ırkında *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında ilişki olmadığını (Flisikowski ve ark., 2004; He ve ark., 2012) bildiren çalışmalarda bulunmaktadır.

4.1.5. *N1RH3* geni

Yağ metabolizmasındaki rolü nedeniyle, *N1RH3* geni ile süt verim özellikleri arasında ilişki olabileceği düşünülmüştür. Türkiye’de yetiştirilen Holstein ırkı holsteinlerin incelendiği bu çalışmada GG genotip frekansının en yüksek (0.964) olduğu, AG genotipli bireylere rastlanılmamıştır. Bir yerli Kore sığır ırkı olan Hanwoo ırkı sığır ırkında da GG genotip frekansının en yüksek olduğu (0.68), AA genotipinin ise en az görülen genotip (0.02) olduğu bildirilmiştir (Maharani ve ark., 2012). Bu çalışmada kullanılan SNP’nin incelendiği başka bir çalışmaya rastlanılamadığı için diğer sığır ırklarındaki genetik durum hakkında bir bilgi bulunamamıştır.

Çin yerli sığır ırklarında yapılan bir çalışmada, *N1RH3* gen polimorfizmi ile büyüme özellikleri arasındaki ilişki olduğu bildirilmiştir (Ma ve ark., 2014). Ancak Holsteinlerin incelendiği bu çalışmada *N1RH3* gen polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

4.1.6. *LEP* geni

Polonya (46), İngiltere (24), Hindistan (41), Portekiz (5), Arjantin (29, 45), Yunanistan (51) ve İtalya’da (9) yetiştirilen Holstein ırkı sığırlarda *LEP* geninde A allel frekansını B allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir. Türkiye’de yetiştirilen Holstein ırkı sığırların incelendiği bu çalışmada da A allel frekansı (0.77), B allelinden yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada AA genotip frekansı diğer genotiplerden yüksek bulunmuşken (0.548), BB genotip frekansının en

düşük olduğu (0.023) görülmüştür. Benzer şekilde İran'da (Sharifzadeh ve ark., 2010), yetiştirilen Holsteinler'de de AA genotip frekansı en yüksek olduğu bildirilmiştir.

Yapılan çalışmada incelenen 166 baş dişi Holsteinde *LEP-Sau3AI* polimorfizmi ile somatik hücre sayısı, gebelik başına tohumlama sayısı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadaki bulgularla uyumlu olarak Komisarek ve Antkowiak, (2007) Jersey ırkında *LEP* geni ile döl verimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan *LEP* geni ile süt verim özellikleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Liefers ve arkl., 2002; Heravi ve ark., 2006). Ancak Holstein ırkının incelendiği bu çalışmada *LEP-Sau3AI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında ilişki bulunamamıştır. Bu nedenle daha çok örnek ile *LEP-Sau3AI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında ilişkinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

4.1.7. SCD geni

Stearoyl CoA desaturase (SCD) 'ın ruminantlardaki linolenik asit sentezindeki rolü nedeniyle, bu çalışmada süt verimi ile ilişkisinin araştırılması düşünülmüştür. Toplam 166 baş dişi Holsteinin incelendiği bu çalışmada, CC genotipinin (0.56) en yaygın olduğu, TT genotipi frekansının ise (0.095) en az olduğu görülmüştür. Bu çalışmada kullanılan SNP kullanılarak genotipleme yapılan bir çalışmada yerli bir Kore sığır ırkı olan Hanwoo ırkı sığırlar incelenmiş bu bu ırkta CT genotipinin en yüksek frekansta olduğu (0.41), Holsteinlerden farklı olarak CC genotip frekansının (0.19) en düşük olduğu bildirilmiştir (Maharani ve ark., 2012).

Çalışmada et kalite özellikleri araştırılmadığı için erke buzağılarda büyüme özellikleri ile *SCD-Fnu4HI* polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmamıştır. *SCD-Fnu4HI* polimorfizmi ile süt kompozisyonu arasında da istatistiksel olarak bir ilişki bulunamamıştır.

4.1.8. FASN geni

Çalışmada genotipleme yapılan Holstein ırkı dişi ve erkek bireylerde *FASN-MscI* polimorfizminin belirlenmesi için yapılan PCR işleminde literatürde bildirilen 624 bp uzunluğundaki ürün elde edilemediği için kesim işlemi yapılamamıştır.

4.1.9. TLR4 geni

TLR4 geninde bulunan +10 C/T SNP'si yönünden yapılan PCR ürünleri sonunda elde edilen 405 bp'lik ürünlerin *BstUI* enzimi ile kesim sonrasında tüm bireylerin hepsinin CC genotipinde olmaları nedeniyle, incelenen bireylerin SHS ile *TLR4-BstUI* polimorfizminin karşılaştırılması mümkün olamamıştır.

4.2. Sekans Analizleri

Yapılan dizi analizinde sonuç bölümünde bilgisi verilen SNP'ler bulunmuş fakat bu SNP'lerin sığır genomu veri tabanında bulunan SNP'ler olduğu *in silico* analizler neticesinde anlaşılmıştır. Dizi analizi sonuçları incelenen gen bölgeleri bakımından Türkiye'de yetiştirilen Holstein ırkı sığırların DNA dizilerinin sığır genomunda bulunan referans genomdan farklı olmadığını göstermiştir.

4.3. Süt Kalitesi (Süt Somatik Hücre Sayısı-SSHS)

Çalışmada incelenen bir diğer özellik Süt Somatik Hücre Sayısıdır (SSHS). Somatik hücreler süt hayvanlarının çekirdeğe sahip makrofaj, lökosit ve nötrofil hücreleri olup, SSHS meme sağlığı ve elde edilen sütün kalitesini gösteren önemli bir ölçüttür.

Ayaşan ve ark., (2011) somatik hücre sayısının süt üre nitrojen ile süt kompozisyonuna olan etkisini araştırdıkları çalışmada somatik hücre sayısının süt yağı, yağsız kuru madde ve yoğunluk üzerine etkisini önemli ($P<0.05$) ve süt protein ve asitlik üzerine olan etkisinin önemsiz olduğunu ($P>0.05$) tespit etmişlerdir. Araştırmacıların bu sonuçları çalışmada bu özelliklerde bulunan sonuçlarla örtüşmektedir.

Harmon (2001) subklinik mastitis oluşumundan hemen önce sütteki somatik hücre sayısının arttığını ve dolayısıyla meme sağlığı ile SSHS arasında korelasyon olduğunu bildirmektedir. Sütte somatik hücre sayısının yüksek olması memede enfeksiyon başlangıcının belirtisidir ve bu durum düşük, yaygın ve salgın subklinik mastitis ve ileri aşamada klinik mastitisi şeklinde seyreder. Subklinik mastitis görsel olarak belirlenememekle beraber meme sağlıklı bir görünümde ancak süt verim düşüklüğü olarak kendini göstermektedir (Harmon, 2001).

AB süt hijyeni yönetmeliğine göre çiğ ve ısıtılma tabi tutulmuş sütlerde süt somatik hücre sayısının $400\ 000$ hücre mL^{-1} ve süt ürünlerinde $500\ 000$ hücre mL^{-1} in üzerinde olmaması gerekir. Türk Gıda kodeksi çiğ süt ve ısıtılma görmüş sütler tebliğine göre ise $500\ 000$ hücre mL^{-1} den az SHS olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim, 2000; Harmon, 2001).

Yapılan çalışmalarda (Anonim, 2007) çiğ sütte $400\ 000$ hücre mL^{-1} somatik hücre olması durumunda 1.2 lt/baş, $500\ 000$ hücre mL^{-1} olması durumunda 3.3 lt/baş ve $1\ 500\ 000$ hücre mL^{-1} ve üzeri olması durumunda 14.6 lt/baş' a kadar inek başına süt verim kaybı olabildiği belirtilmektedir.

Elde edilen sonuçlar kaliteli ve yüksek miktarda süt elde etmek için süt somatik hücre sayısının dikkate alınması gerektiğini, üretilen sütün SHS' nın $200\ 000$ hücre mL^{-1} den daha

yüksek düzeyde olmasının süt verim miktarını ve kompozisyonunu olumsuz yönde etkilediğini ortaya koymuştur.

Sonuç olarak; *GH*, *MYF5* ve *STAT5A* genlerinde bulunan ve yapılan bu çalışmada kullanılan SNP'ler ile büyüme dolayısıyla et verimi arasında istatistiksel ilişki bulunmuştur. Dolayısıyla bu SNP'lerin ile büyüme özellikleri ve et verimi için markır olma potansiyelleri nedeniyle daha çok örneğin kullanıldığı kapsamlı projelerin planlanabileceği düşünülmüşür. Diğer taraftan yine *GH* geninde bulunan ve yapılan bu çalışmada kullanılan SNP 305 günlük süt verimi arasında istatistiksel ilişki bulunmuştur. Dolayısıyla *GH-AluI* polimorfizminin sığır yetiştiriciliğinde hem et verimi hemde süt verimi için markır olabilme potansiyeli vardır. Diğer taraftan *LEP* geninde bulunan *Sau3AI* polimorfizmi ile gebelik başına tohumlama sayısı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Tüm çiftlik hayvanları yetiştiriciliklerinde çok önemli bir verim özelliği olan gebelik başına tohumlama sayısı için *LEP-Sau3AI* polimorfizmi arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışma planlanmasının döl veriminin iyileştirilmesi için önemli olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada süt ve et verimi ile ilişkisi tespit edilemeyen *FABP4*, *N1RH3* ve *SCD* genlerinin et kalitesi ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmaların planlanmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Önemli verim özellikleri ile ilişkili olan genler ve bu genlerde bulunan SNP'ler yönünden gerek kültür ırklarının gerekse yerli ırklarımızın genetik yapılarının ortaya konularak, bu SNP'ler ile verim artırılması yollarının araştırılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle incelenecek gen ve SNP sayısının arttırıldığı ve bunlardan elde edilen sonuçların hayvanlara ait verim ve pedigrı kayıtları ile birleştirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5- KAYNAKLAR

- Almeida SE., Almeida MEA., Moraes JCF., Weimer TA., 2003. Molecular markers in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 120; 106–113.
- Alpan O., 1993. Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği, Medisan Yayınevi, 3. Baskı s: 48, Ankara.
- Alipanah M, Kalashnikova L, Rodionov G., 2007. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5(3); 158-161.
- Anonim 2000. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. (Tebliğ No: 2000/6) <http://www.resmigazete.gov.tr/arsiv/23964.pdf>. 01.11 2016.
- Anonim 2007. Sütçü işletmelerde buzağı süt ve döl kayıplarının önlenmesi. http://www.egevet.com.tr/kayıpların_önlenmesi.htm. 11.10 2016.
- Ayaşan T., Hızlı H., Yazgan E., Kara U. ve Gök K., 2011. Somatik Hücre Sayısının Süt Üre Nitrojen ile Süt Kompozisyonuna Olan Etkisi. *Kafkas Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, 17(4):659-662, 2011.
- Bao B., Zhang C., Fang X., 2010. Association between polymorphism in STAT5A gene and milk production traits in Chinese Holstein cattle *Anim. Sci. Pap. Rep.*, Vol. 28, no. 1, pp. 5-11.
- Bhuiyan MSA, Kim NK, Cho YM, Yoon D, Kim KS, Jeon JT and Lee JH. 2009. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. *Livest Sci.*, 126, 292–297.
- Braun T., G. Buschhausen-Denker, E. Bober, E. Tannich and Arnold. HH., 1989. A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T1/2 fibroblasts. *EMBO J.* 8:701–709.
- Brickell JS, Pollott GE, Clempson AM, Otter N and Wathes DC., 2010. Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers. *J. Dairy Sci.*, 93: 340-347.
- Bellinge RHS., Liberles D. A., Laschi, SPA., Brien O and Tay GK., 2005. Myostatin and its implications on animal breeding;a review, *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 36:1-6

- Bıyıkoglu K., 1973. Genel Zootečni. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 117, 287, Erzurum.
- Bonakdar E, Rahmani H.R., Edriss M.A and Sayed Tabatabaei B.E., 2010. IGF-I gene polymorphism, but not its blood concentration, is associated with milk fat and protein in Holstein dairy cows *Genetics and Molecular Research* 9 (3): 1726-1734
- Calkin AC., Tontonoz P., 2012. Transcriptional integration of metabolism by the nuclear sterol-activated receptors LXR and FXR. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 13(4):213–224.
- Caton PW, Holness MJ., Bishop-Bailey D., Sugden MC., 2011. PPARalpha-LXR as a novel metabolostatic signalling axis in skeletal muscle that acts to optimize substrate selection in response to nutrient status. *Biochem J.*, 437(3):521–530.
- Chirala S.S., Chang H., Matzuk M., Abu-Elheiga L., Mao J., Mahon K., Finegold M. & Wakil S.J., 2003. Fatty acid synthesis is essential in embryonic development: fatty acid synthase null mutants and most of the heterozygotes die in utero. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 6358–63.
- Chmurzynska A., Mackowski M., Szydlowski M., Melonek J., Kamyczek M., Eckert R., Rozycki M. & Switonski M., 2004. Polymorphism of intronic microsatellites in the A-FABP and LEPR genes and its association with productive traits in the pig. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13, 615–24.
- Chmurzynska A., 2006. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. *J. Appl. Genet.*, 47:39-48.
- Chung ER., Kim WT., 2005. Association of SNP marker in IGF-I and MYF5 candidate genes with growth traits in Korean cattle *Asian-Aust. J Anim Sci.*, 18; 1061-1065.
- Conte G., Mele M., Castiglioni B., Serra A., Viva M., Chessa S., Pagnacco G., Secchiari P., 2006. Relationship between bovine SCD polymorphism locus and mammary gland desaturation activity. In: *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13–18 August, pp. 22–37.
- Curi RA, Palmieri DA, Sugisawa L, de Oliveira HN, Silveira AC, Lopes CR., 2006. Growth and carcass traits associated with GH1/AluI and POU1F1/Hinf I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genet Mol Biol.*, 29: 56–61.
- Damcott C. M., S. P. Moffett, E. Feingold, M. M. Barmade, J. A. Marshall, R. F. Hamman and Ferrel RF., 2004. Genetic variation in fatty acid-binding protein-4 and peroxisome

- proliferator-activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in male. *Metab. Clin. Exp.* 53:303-309.
- Dario C. and Selvaggi M., 2011. Study on the STAT5A/AvaI Polymorphism in Jersey Cows and Association with Milk Production Traits. *Mol Biol Rep* 38: 5387-5392.
- DeVuyst EA, Bauer ML, Cheng FC, Mitchell J, Larson D., 2008. The impact of a leptin gene SNP on beef calf weaning weights. *Anim. Genet.*, 39: 284-286.
- Diana P., Nichols PJ., Thompson JM., 1998. The effect of sire breed on the melting point and fatty acid composition of subcutaneous fat in steers. *J. Anim Sci* 76: 87-95.
- Drogemuller C. and Kempers A., 2000. A TaqI PCR-RFLP at the bovine myogenic factor (myf5) gene. *Anim. Genet.* 31:146–146.
- Dybus A., 2002. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black and White cattle. *Arch Tierz Dummerstorf*, 45(5); 421-428.
- Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, Szatkowska I, Sobek Z, Błaszczyk P, Czerniawska-Piątkowska E, Zych S, Muszyn'ska M., 2005. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Arch Tierz* 48:149–156.
- Elliott B., Renshaw D., Getting S., Mackenzie R.. 2012. The central role of myostatin in skeletal muscle and whole body homeostasis. *Acta Physiologica* 205:324-340.
- Flisikowski K., Szymanowska M. ve Zwierzchowski L., 2003a. The DNA-Binding Capacity of Genetic Variants of the Bovine STAT5A Transcription Factor. *Cellular & Molecular Biology Letters*, Vol: 8, 831-840.
- Flisikowski K, Oprządek J, Dymnicki E, Zwierzchowski L., 2003b. New polymorphism in the bovine STAT5A gene and its association with meat production traits in beef cattle. *Animal Science Papers and Reports* vol. 21 no. 3, 147-157
- Flisikowski K., Strzałkowska N., Słoniewski K., Krzyżewski J., Zwierzchowski L., 2004. Association of a Sequence Nucleotide Polymorphism in Exon 16 of the STAT5A Gene with Milk Production Traits in Polish Black and White (Polish Friesian) Cows. *Animal Science Papers and Reports*, Vol. 22, No. 4., 515-522.
- Fruhbeck G, Jebb SA, Prentice AM., 1998. Leptin: Physiology and pathophysiology. *J. Clin. Physiol.*, 18: 399-419.

- Gan Q, Zhang L, Xu S, Li H, Li J, Gao X, Ren H and Chen J., 2008. Association of LXRA gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Afr J Biotechnol* 7(20):3546–3549.
- Gerbens F., Jansen A., van Erp A.J.M., Harders F., Meuwissen T.H.E., Rettenberger G., Veerkamp J.H. and te Pas M.F.W., 1998. The adipocyte fatty acid-binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs. *Mammalian Genome* 9, 1022–6.
- Gill, J. L., Bishop S. C., Mc Corquodale C., Williams J. L., and Wiener P., 2008. Associations between the 11-bp deletion in the myostatin gene and carcass quality in Angus-sired cattle. *Anim Genet.*, 40:97–100.
- Grisolia A. B., D'Angelo G. T., Neto L. R. P., Siqueira F., and Garcia J. F., 2009. Myostatin (GDF8) single nucleotide polymorphisms in Nellore cattle. *Genet. Mol. Rese.*, 8:822-830.
- Grobet L., Poncelet D., Royo L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Me'nissier F., Zanotti M., Dunner S and Georges M., 1998. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mammalian Genome* 9, 210–3.
- Grochowska R., Sørensen P., Zwierzchowski L., Snochowski M. and Løvendahl P., 2001. Genetic variation in stimulated GH release and in IGF-I of young dairy cattle and their associations with the leucine/valine polymorphism in the GH gene. *J Anim Sci.*, 79: 470-476.
- Guo J., Liu, X., Xua A. and Xia, Z., 2010. Relationship of Somatic Cell Count with Milk and Composition in Chinese Holstein Population. *Agricultural Science in China*. 2010, 9(10): 1492-1496.
- Han S. H., Cho I. C., Ko M. S., Kim E. Y., Park S. P, Lee S. S., and Oh H. S., 2012. A promoter polymorphism of MSTN g.2371T>A and its associations with carcass traits in Korean cattle. *Mol. Bil. Rep.* 39:3767-3772.
- Harmon 2001. Somatic Cell Counts: A primer 40th Annual Meeting, National Mastitis Council, Reno, NV. USA, pp:3-9.
- He X, Qiao CL., He JN, Wang PQ, Feng T, Di R, Cao GL., Fang L, An YF 2012. Polymorphisms of STAT5A gene and their association with milk production traits in Holstein cows. *Mol Biol Rep* 39: 2901–2907

- Hediger R. Johnson SE. Barendse W. Drinkwater RD. Moore SS., 1990. Hetzel J. Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-qter in cattle and to 11q25-qter in sheep by in situ hybridization. *Genomics* 1990; 8; 171-174.
- Heravi Moussavi A, Ahouei M, Nassiry MR, Javadmanesh A., 2006. Association of leptin polymorphism with production, reproduction and plasma glucose level in Iranian Holstein Cows. *Asian Aust. J. Anim. Sci.*, 19: 627-631.
- Hoashi S., Hinenoya T., Tanaka A., Ohsaki H., Taniguchi M., Oyama K., Mukai F. & Mannen H., 2008. Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese Black cattle. *BMC Genetics* 9, 84.
- Hotamisligil G.S., Johnson R.S., Distel R.J., Ellis R., Papaioannou V.E. & Spiegelman B.M. 1996. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science* 274, 1377–9.
- Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME., 1998. The biology of leptin: A review. *J. Anim. Sci.*, 76: 1405-1420.
- Javanmard A., Mohammadabadi M. R., Zarrigabayi GE., Gharahedaghi AA., Nassiry MR., Javadmansh A., Asadzadeh N., 2008. Polymorphism within the intron region of the bovine leptin gene in Iranian Sarabi cattle (Iranian *Bos taurus*). *Russian Journal of Genetics*, 44(4); 495–497.
- Kambadur R., Bishop A., Salerno M. S., McVroskery S. and Sharma M., 2004. Role of myostatin in muscle growth. P. 297- 312. In: M. F. W Te Pas, M. E. Everts & H. P. Haagsman (ed). *Muscle development of livestock animals physiology, genetic and meat quality*. CABI, USA.
- Khasanah H, Gunawan A, Priyanto B, Ulum MF. and Jakaria 2016. Polymorphism of Myostatin (MSTN) Promoter Gene and its Association with Growth and Muscling Traits in Bali Cattle. *Media Peternakan*, August, 39(2):95-103.
- Khatami SR, Lazebny OE, Maksimenko VF, Sulimova GE., 2005. Association of DNA polymorphisms of the growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black-and-White cattle. *Russian Journal of Genetics (Genetika)*, 41(2): 167–173.

- Khatib H., Monson RL., Schutzkus V., Kohl Dm., ROse GJM, Rutledge JJ., 2008. Mutations in the STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. *J Dairy Sci* 91(2):784-793.
- Kišacová J, Kúbek A, Meluš V, Čanakyová Z, Řehout V., 2009. Genetic polymorphism of Myf-5 and myostatin in charolais breed. *J Agrobiol*, 26 (1): 7-11.
- Kisseleva T., Bhattacharya S., Braunstein J., Schindler C.W., 2012. Signaling Through The JAK/STAT Pathway, Recent Advances and Future Challenges. *Gene*, 285, 1-24.
- Komisarek J, Antkowiak I., 2007. The relationship between leptin gene polymorphisms and reproductive traits in Jersey cows. *Polish J. Vet. Sci.*, 10: 193-197.
- Kovács K., Völgyi-Csík J., Zsolnai A., Györkös I., Fésüs L., 2006. Associations between the AluI polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Arch Tierz Dummerstorf*, 49(3): 236-249.
- Lechniak D, Machnik G, Szydlowski M, Switonski M., 2002. Growth hormone gene polymorphism and reproductive performance of AI bulls. *Theriogenology*, 52: 1145-1152.
- Lee W, Yue P, Zhang Z., 2009. Analytical methods for inferring functional effects of single base pair substitutions in human cancers. *Hum Genet* 126:481–498.
- Liefers SC., and Veerkamp RF., 2002. Association between Leptin Gene Polymorphism and Production, Live Weight Energy Balance, Feed Intake and Fertility in Holstein Heifers, *J. Dairy Sci.*, 85: 1633-1638.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Moore SS., 2002. The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *J Anim Sci.*, 80: 1187-1194.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Hansen C, Moore SS., 2004. Assessment of positional candidate genes MYF5 and IGF-I for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos taurus*. *J Anim Sci.*, 82: 1–7.
- Li C, Aldai N, Vinsky M, Dugan MER, McAllister TA., 2011. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearoyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers. *Animal Genetics*, 43; 93–97.

- Ma Y, Chen N, Li R, Xu Y, Li F, Li J, Gao S, Li X., and Shi K., 2014. LXR α gene expression, genetic variation and association analysis between novel SNPs and growth traits in Chinese native cattle. *J Appl Genetics*, 55:65–74.
- Maak S., Neumann K., and Swalve H., 2006. Identification and analysis of putative regulatory sequences for the MYF5/MYF6 locus in different vertebrate species. *Genet.*; 379: 141-147.
- Maharani D., Jung Y., Jung WY., Jo C., Ryoo SH., Lee SH., Yeon SH., Lee JH., 2012. Association of five candidate genes with fatty acid composition in Korean cattle. *Mol Biol Rep* 39:6113–6121
- McGuire K., Jones M., Werling D., Williams J.L., Glass E.J. and Jann O., 2005. Radiation hybrid mapping of all 10 characterized bovine Toll-like receptors. *Anim. Genet.* 37, 47-50.
- Michal JJ, Zhang ZW, Gaskins CT., and Jiang Z., 2006. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu 9 Limousin F2 crosses. *Anim Genet* 37:400–402
- Milanesi E., Nicoloso L., Crepaldi P., 2008. Stearoyl CoA desaturase (SCD) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* 125; 63–67
- Mitro N, Mak PA, Vargas L, Godio C, Hampton E, Molteni V, Kreusch A, Saez E., 2006 The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature* 445(7124):219–223.
- Miyake M., Hayashi S., Taketa Y., Iwasaki S., Watanabe K., Ohwada S., Aso H., and Yamaguchi T., 2010. Myostatin downregulates the IGF-2 expression via ALK-Smad signaling during myogenesis in cattle. *Anim. Sci. Jour.* 81:223–229.
- Nkrumah JD, Li C, Yu J, Hansen C, Keisler DH, Moore SS., 2005. Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *J. Anim. Sci.*, 83:20-28.
- Nobari K., Tahmoorespur M., Ghazanfari S., Nassiry MR., Jorjani E., 2011. Relationship Between Leptin Gene Polymorphism with Economical Traits In Iranian Sistani and Brown Swiss Cows. *Journal of Animal And Veterinary Advances* 10(1): 1-5.
- Oikonomou G., Michailidis G., Kougioumtzis A., Avdi, M., and Banos G., 2011. Effect of polymorphisms at the STAT5A and FGF2 gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows. *Research in veterinary science*, 91(2), 235-239.

- O'Rourke BA., Greenwood PL., Arthur PF., Goddard ME., 2012. Inferring the recent ancestry of myostatin alleles affecting musclemass in cattle. *Animal Genetics*, 44, 86–90.
- Özhan M., Tüzemen N., Yanar M., 2015. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak., Yay., Ders Notu Yay No:134, ss:234.
- Pannier L., Sweeney TY., Hamill RM., Ipek F., Stapleton PC., and Mullen AM., 2009. Lack of an association between single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin gene and intramuscular fat in *Bos taurus* cattle. *Meat Sci.*, 81: 731-737.
- Pinedo PJ., Buergelt CD., Donovan GA., Melendez P., Morel L., Wu R., Langaee TY., Rae DO., 2009. Candidate gene polymorphisms (BoIFNG, TLR4, SLC11A1) as risk factors for paratuberculosis infection in cattle. *Preventive Veterinary Medicine* 91, 189–196.
- Prakash O., Kumar A., Sonwane A., Rathore R., Singh RV., Chauhan A., Kumar P., Renjith R., Yadav R., Bhaladhare A., Baqir M., Sharma D., 2014. Polymorphism of cytokine and innate immunity genes associated with bovine brucellosis in cattle. *Mol Biol Rep* 41:2815–2825.
- Reis C., Navas D., Pereira M., Cravador A., 2001. Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch Zootec*, 50: 41-48.
- Robakowska-Hyzorek D., Oprzadek J., Zelazowska B., Olbromski R., Zwierzchowski L., 2010. Effect of the g.–723G → T polymorphism in the bovine myogenic factor 5 (Myf5) gene promoter region on gene transcript level in the longissimus dorsi muscle and on meat traits of polish Holstein-Friesian cattle. *Biochem Genet.*, 48: 450-464.
- Roy R, Ordovas L, Zaragoza P, Romero A, Moreno C, Altarriba J, Rodellar C., 2006. Association of polymorphisms in the bovine FASN gene with milk-fat content. *Animal Genetics*, 3, 7, 215–218
- Sabour MP., and Lin CY., 1996. Association of bGH genetic variants with milk production traits in Holstein cattle. *Anim Genet.*, 27 (Suppl.2.): 105.
- Sadeghi M., Shahrababak, MM., Mianji, GR., & Javaremi, AN. 2009. Polymorphism at locus of STAT5A and its association with breeding values of milk production traits in Iranian Holstein bulls. *Livestock Science*, 123(1), 97-100.
- Shariflou MR, Moran C, Nicholas FW., 2000. Association of Leu127 variant of the bovine growth hormone (bGH) gene with increased yield of milk, fat, and protein in Australian Holstein Friesians. *Aust J Agric Res.*, 51: 515-522.

- Sharifzadeh A., & Doosti, A., 2010. Genetic polymorphism at the leptin gene in Iranian Holstein cattle by PCR-RFLP. *African Journal of Microbiology Research*, 4(12), 1343-1345.
- Schlee P, Graml R, Schallenberger E, Scams D, Rottmann O, Olbrich-Bludau A, Pirchner F., 1994. GH and IGF-1 concentrations in bulls of various GH genotypes. *Theor Appl Genet*, 88: 497-500.
- Seyfert H.M., Pitra, C., and Meyer, L., 2000 Molecular characterization of STAT5A and STAT5B encoding genes reveals extended intragenic sequence homogeneity in cattle and mouse and different degrees of divergent evolution of various domains, *J. Mol. Evol.*, vol.50, pp.550-561.
- Selvaggi M., Normanno G., Celano GV. and Dario M., 2009 Genetic polymorphism of STAT5A protein: relationships with production traits and milk composition in Italian Brown cattle, *J. Dairy. Res.*, vol.76, no.4, pp.441-445.
- Shin SC, Heo J.P Chung E.R.,2012. Genetic variants of the FABP4 gene are associated with marbling scores and meat quality grades in Hanwoo (Korean cattle).*Mol Biol Rep* 39:5323–5330
- Shizuo A. Toll like receptors and innate immunity, *Immunology*, 78 1-11.
- Sodhi M. Mukesh M. Prakash B. Mishra BP. Sobti RC. Singh KP. Singh S. Ahlawat SPS 2007. *MspI* allelic pattern of bovine growth hormone gene in Indian zebu cattle (*Bos indicus*) breeds. *Biochemical Genetics*, 45(1/2); 145-153.
- Takeda K., Kaisho T., and Akira S., 2003. Toll-like receptors. *Ann. Rev. Immunol.* 21, 335-376.
- Takeda K., Akira S., 2005. Toll-like receptors in innate immunity, *Int. Immunol.*, 17:1–14.
- Taniguchi M., Utsugi T., Oyama K., Mannen H., Kobayashi M., Tanabe Y., Ogino A., Tsuji S., 2004. Genotype of stearyl-coA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mamm Genome* 15:142–148.
- Tatsuda K., Oka A., Iwamoto E., Kuroda Y., Takeshita H., Kataoka H., and Kouno S., 2008. Relationship of the bovine growth hormone gene to carcass traits in Japanese black cattle. *J Anim Breed Genet*, 125: 45–49.
- Taylor K, Mertens B, Lutje V, Saya R., 1998. Trypanosoma congolense infection of trypanotolerant N'Dama (*Bos taurus*) cattle is associated with decreased secretion of nitric

- oxide by interferon- γ -activated monocytes and increased transcription of interleukin-10. *Parasite Immunology*, 20, 421-429.
- Ujan JJ, Zan LS, Wang HB, Ujan SA., 2011. The effect of myogenic factor 5 polymorphism on the meat quality in Chinese Bos Taurus. *Agric Conspec Sci Vol.*, 76(4): 373-377.
- Verschoor CP, Pant SD, Schenkel FS, Sharma BS., 2009. SNPs in the bovine IL-10 receptor are associated with somatic cell score in Canadian dairy bulls. *Mamm Genome* 20: 447-454
- Viorica CO., Vlaic A., Constantinescu R., Gulea A., POP I., and Peter D., 2010. Research Concerning the PCR-RFLP/Eco88I Polymorphism of STAT5A Gene in Romanian Simmental Cattle. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 67(1-2).
- White A.N.; Kata, S.R., and Womack, J.E., 2003. Comparative fine maps of bovine toll-like receptor 4 and toll-like receptor 2 regions. *Mamm. Genome*, 14, 149-155.
- Yardibi H., 2008. Ruminantlarda Süt Proteinleri ve Polimorfizmi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Der.* 34 (3), 29-35.
- Yüceer B., 2008. Kolostrum almış buzağlarda bağışıklığın büyüme, hastalık insidansı ve yaşama gücü üzerine etkisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilin Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
- Zhang R. F., H. Chen CZ. Lei CL. Zhang XY. Lan YD., Zhang HJ., Zhang B., Bao HN., and Wang X. Z., 2007. Association between polymorphisms of mstn and myf5 genes and growth traits in three chinese cattle breeds. *AJAS*. 20:1798 – 1804.
- Zhang S, Knight TJ, Reecy JM, Beitz DC., 2008. DNA polymorphism in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. *Anim Genet* 39: 62-70.
- Zhou GL, Liu HG, Liu C, Guo SL, Zhu Q and Wu YH., 2005. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *Journal of Biosciences* 30: 595.
- Zwierzchowski L., Oprzadek J., Dymnicki E., Dzierzbicki P., 2001. An association of growth hormone, -casein, -lactoglobulin, leptin and Pit-1 loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. *Anim Sci Pap Rep.*, 19: 65-77.

