



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIRLARDA MYOSTATİN VE PROLAKTİN GENİ POLİMORFİZMİ**

**Şule ŞAHİN**

Prof. Dr. Cengiz ELMACI  
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

BURSA - 2012

**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ ONAYI

**Şule ŞAHİN** tarafından hazırlanan “**Sığırlarda Myostatin ve Prolaktin Geni Polimorfizmi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Zootekni** Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Cengiz ELMACI

**Başkan :** Prof. Dr. Cengiz ELMACI  
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,  
Zootekni Bölümü

**Üye :** Prof. Dr. Soner BALCIOĞLU  
Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi,  
Zootekni Bölümü

**Üye :** Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÖNER  
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,  
Zootekni Bölümü

İmza

İmza

İmza

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Kadri ARSLAN**  
**Enstitü Müdürü**  
**17/10/2012**  
**(Tarih)**

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

17/10/2012

Şule ŞAHİN

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### SİĞİRLARDA MYOSTATİN VE PROLAKTİN GENİ POLİMORFİZMİ

**Şule ŞAHİN**

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Cengiz ELMACI

Bu çalışmada Bursa bölgesinde yetiştirilen Siyah Alaca ve Esmer ırkı sığırlarından toplam 136 hayvan myostatin geninin 3. ekzon bölgesinin 938. nükleotidindeki G→A transisyonu ve prolaktin geninin 4. ekzonun 8398. nükleotidindeki bulunan A→G transisyonu bakımından, sırasıyla *BstF5I* ve *RsaI* restriksiyon enzimleri kullanılarak, PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiştir. Yapılan laboratuvar çalışmaları sonucunda myostatin geninin ekzon 3 bölgesinde herhangi bir G→A transisyonuna rastlanılmazken, prolaktin genine ait üç genotip (AA, AG ve GG) ve iki allel (A ve G) belirlenmiştir. AG genotipinin frekansı Siyah Alaca ve Esmer sığır ırkı populasyonlarında, sırasıyla 0,2408 ve 0,4550 olarak, GG genotipinin frekansı ise Siyah Alaca sığır ırkı için 0,7396 olarak hesaplanırken, Esmer sığır ırkında 0,4225 olarak hesaplanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Myostatin, Prolaktin, PCR-RFLP, Sığır  
2012, vi + 45 sayfa.

## **ABSTRACT**

MSc Thesis

MYOSTATIN AND PROLACTIN GENE POLYMORPHISM IN CATTLE

**Şule ŞAHİN**

Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Animal Science

**Supervisor:** Prof. Dr. Cengiz ELMACI

In this study a total of 136 animal from Holstein Friesian cattle and Brown Swiss cattle breed reared in Bursa region were examined for exon 3 region of myostatin gene G→A transisyon at 938 nucleotid position and exon 4 of prolaktin gene A→G transisyon at 8398 nucleotid position by using *BstF5I* and *Rsal* restriction enzymes, respectively with PCR-RFLP method. While the G→A transisyon exon 3 region of myostatin gene was not identified, three genotypes (AA, AG and GG) and two allel (A and G) of prolactin gene were observed according to laboratory studies. Frequency of AG genotype was estimated as 0,2408 and 0,4550 for Holstein Friesian cattle and Brown Swiss cattle populations, respectively. Frequency of GG genotype was estimated as 0,7396 and 0,4225 for Holstein Friesian cattle and Brown Swiss cattle populations, respectively.

**Key words:** Myostatin, Prolactin, PCR-RFLP, Cattle

**2012, vi + 45 pages.**

## TEŞEKKÜR

Bana bu konuda çalışma fırsatını verip bilgi sahibi olmamı sağlayan, titizlikle yöneten, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cengiz ELMACI 'ya, Hem laboratuvar aşamasında hem de tez yazım aşamasında her daim yardımlarını ve desteğini esirgemeyen hocam Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÖNER 'e çalışmalarımda her türlü imkan ve yardımlarını esirgemeyen bölüm hocalarımın çok teşekkür ederim.

Tez yazma aşamasında beni sabırla dinleyen ve destek olan arkadaşlarım Emir NALÇACI'ya, Betül GÜVENİR'e, Behmen ALİYEV'e, Sabri ÖNVER'e, Ziraat Yüksek Mühendisi Şerife BALCI'ya ve Ziraat Yüksek Mühendisi Melek BAYRAKTAROĞLU'ya teşekkürlerimi bir vefa borcu olarak görmekteyim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Eda ŞAHİN 'e, babam Tevfik ŞAHİN'e ve kardeşim Şerife ŞAHİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak bu çalışmada bana yardımcı olan ve adlarını burada tek tek belirtmediğim, emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Şule ŞAHİN

13.09.2012

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No :
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Polimorfizmin Tanımı.....	4
2.2. Myostatin Geni (GDF-8, MSTN).....	4
2.3. Çift Kaslılık.....	7
2.4. Sığırlarda Myostatin Genindeki Polimorfizm Çalışmaları.....	12
2.5. Prolaktin Geni .....	17
2.6. Sığırlarda Prolaktin Genindeki Polimorfizm Çalışmaları.....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	26
3.1. Materyal.....	26
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve DNA İzolasyonu .....	26
3.2.2. PCR- RFLP Yöntemi .....	27
3.2.3. İstatistiksel Analiz .....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	31
4.1. Myostatin Geni.....	31
4.2. Prolaktin Geni.....	32
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	34
KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	45

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No :
Şekil 2.1. Myostatin geni 3 ekzon 2 introndan oluşmaktadır.....	5
Şekil 2.2. Myostatin geninde fonksiyon kaybına neden olan çift kaslı sığırlarda görülen mutasyonlar.....	5
Şekil 2.3. Myostatin geninin negatif düzenleyici etkisinin kaldırılması aşamaları.....	7
Şekil 2.4. Belçika Mavisi ve Piedmentosa sığır ırkı.....	8
Şekil 2.5. Myostatin geninde meydana gelen mutasyonla birlikte etin yağ oranında meydana gelen değişiklik.....	9
Şekil 2.6. Abartılı kas gelişimi.....	9
Şekil 2.7. Çift kaslı sığırlarda kas hipertrofisi ve iskelet hipertrofisinin yönelimi.....	10
Şekil 3.1. PCR cihazı.....	27
Şekil 3.2. Restriksiyon enzimi ile kesim işleminin gerçekleştirildiği kuru blok ısıtıcı .....	28
Şekil 3.3. Kesim ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi.....	29
Şekil 3.4. Jel dökümantasyon sistemi.....	29
Şekil 4.1. Myostatin genine ait genotip desenleri.....	31
Şekil 4.2. <i>Bst</i> F5I enzimi ile kesim sonucu elde edilen genotipler.....	32
Şekil 4.3. Prolaktin geninin <i>Rsa</i> I enzimi ile kesimi sonucu oluşan genotip desenleri .....	32
Şekil 4.4. <i>Rsa</i> I enzimi ile kesim sonucu elde edilen genotipler.....	33



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No :
<b>Çizelge 2.1.</b> Myostatin geninde görülen mutasyon türleri, meydana gelen protein değişimi ve görüldüğü sığır ırkları.....	6
<b>Çizelge 3.1.</b> Araştırmada kullanılan sığır ırkları sayıları ve örneklerin alındığı çiftlik sayısı.....	26
<b>Çizelge 3.2.</b> Myostatin ve prolaktin genleri için primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları .....	28
<b>Çizelge 4.1.</b> Prolaktin lokusu bakımından genotiplerin ırklara göre dağılımı, gen ve genotip frekansları ve Khi-kare değerleri .....	33

## 1. GİRİŞ

Toplumların hayatlarını sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmeleri için dengeli beslenmeleri oldukça önemlidir. Özellikle de temel besin maddeleri içerisinde hayvansal kökenli gıdalar özel bir öneme sahiptir. Dengeli bir beslenme için günlük protein ihtiyacının en azından %40-50'sinin hayvansal kaynaklı gıda olması gerekmektedir (Arık 2012). Dünya nüfusunun hızla artması diğer ihtiyaçlar yanında insanların gıda ihtiyacını da arttırmakta, buna bağlı olarak da artan nüfusun gıda güvencesinin sağlanması önemli bir sorun haline gelmektedir. Bu durum özellikle de hayvansal kökenli gıda alımını da olumsuz etkilemektedir. Diğer taraftan tarımsal üretim alanlarının sınırlı olması da artan gıda ihtiyacının karşılanması için birim alandan ya da birim hayvandan daha fazla verim elde etmeyi zorunlu hale getirmektedir.

Bilindiği gibi hayvancılıkta verimin arttırılmasına yönelik uygulamaların başında seleksiyon gelmektedir. Ekonomik öneme sahip özelliklerin hemen hepsi farklı lokuslardaki çok sayıda eklemeli gen tarafından kontrol edilen yani poligenik kalıtım gösteren kantitatif karakterlerdir. Bu karakter için yapılan seleksiyon genellikle fenotipik değerlere bakılarak yapılır ve böyle bir seçim her zaman isabetli olmamakla beraber zaman alıcıdır. Ayrıca bu özelliklerin poligenik kalıtım göstermeleri ve çevre faktörlerinden fazlaca etkilenmeleri bu amaçla yapılacak ıslah çalışmalarını yavaşlatmakta ve güçleştirmektedir (Doğrul 1985).

Moleküler genetik teknolojilerindeki gelişmeler, ekonomik özelliklerin fenotipik varyasyon göstermelerinde önemli etkileri olan farklı gen bölgelerinin ve major genlerin belirlenmesine olanak vermiştir. Hayvan ıslahında kullanılan bu genler ve gen bölgeleri hem dişi ve hem de erkek hayvan genotiplerinin, yaşamlarının erken dönemlerinde belirlenmesini sağlarlar. Bu durum seleksiyonla sağlanacak genetik ilerlemenin daha fazla olmasına olanak tanımakta ve Markır Destekli Seleksiyon (MAS =Marker Asisted Selection) olarak adlandırılmaktadır (Öner ve Elmacı 2007). Geçtiğimiz onbeş yıl içerisinde uygulamalı DNA'ya dayalı teknolojiler çiftlik hayvanları üreticileri için kendi seleksiyon kararlarını vermede kullanabilecekleri bir yardımcı araç haline gelmiştir (Öner ve Elmacı 2007).

Özellikle son yıllarda moleküler genetik alanında, gelişen teknolojilere paralel olarak, moleküler düzeyde daha ayrıntılı araştırmalar yapabilme fırsatı sağlayan özgün yöntemler geliştirilmiş ve bu yöntemler pratik olarak uygulanabilir hale gelmiştir. Bu gelişmeler çeşitli canlı türlerinde fizyolojik olaylar gibi oldukça karmaşık birçok özelliğin kalıtımına ilişkin gen düzeyinde bilgilerin elde edilmesine de olanak sağlamıştır. Bu olanaklar genetik biliminde ve bununla bağlantılı olarak hayvancılıkta oldukça geniş ve yeni çalışma alanlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Moleküler genetik yöntemlerde sağlanan bu gibi gelişmeler karmaşık ökaryotik genomların yapısı ve fonksiyonlarının belirlenmesine yönelik oldukça önemli bilgilerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır (Vaiman 1999).

Evcil hayvanlarda yapılan çalışmalar daha çok ekonomik olarak önemli çeşitli özellikler ya da bunlarla ilgili olduğu düşünülen diğer genler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle gerek sığırlarda gerekse diğer çiftlik hayvan türlerinde, ekonomik olarak önemli olan lokusların belirlenmesine ve hayvanların bu özellikleri bakımından genotiplerinin analizine olanak sağlayacak özgün moleküler yöntemlerin geliştirilmesi araştırmacıların önemli hedeflerinden biri haline gelmiştir (Elmacı ve Öner 2007).

Sığırlarda genom analizlerine yönelik yoğun çalışmalar 19.yy'ın başlarında başlamış ve 1990'lı yıllarda da BovMap olarak bilinen Avrupa Sığır Genom Haritası projesi başlatılmıştır. Projenin başlatılmasından günümüze kadar sığır genomunun anlaşılmasına yönelik olarak birçok önemli gelişmeler sağlanmıştır. Özellikle kantitatif özelliklerin belirlenmesinde kritik rol oynayan genlerin tanımlanmalarına yardımcı olan markır genom haritaları hayvan ıslahı çalışmalarının daha etkin bir biçimde yapılmasına olanak sağlayan önemli araçlar haline gelmiştir (Switonski 2002). Böylece, bazı kantitatif özellik lokuslarının (QTL; quantitative trait loci) yada bunlarla ilgili olan genetik markır lokuslarının moleküler olarak araştırılabilmesi hayvanların damızlık değerlerinin tahmin edilmesinde daha geniş ve objektif veriler sağlayacaktır. Aynı zamanda MAS'da kullanılmaları hayvan ıslahı bakımından önemli avantajlar sağlayacaktır (Elmacı ve Öner 2007).

Sığır genomunun 2. kromozomunda yer alan ve üç ekzon ile iki intron'dan oluşan myostatin geninde meydana gelen nt938 G→A mutasyonu çift kaslılık durumunun ortaya çıkmasına neden olmakta bu ise birim hayvandan daha fazla ve sağlıklı ürün elde edilmesini sağlamaktadır (Charlier ve ark. 1995). Sığır genomunun 23. kromozomunda yer alan ve beş ekzon ile dört intron'dan (Camper ve ark. 1984, Hallerman ve ark. 1988) meydana gelen prolaktin geni, laktasyon döneminde üretimi zorunlu olan ve meme bezlerinin gelişimini sağlayan prolaktin hormonunun salgılanmasını sağlamaktadır. Bu durumda süt sığırcılığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada Bursa bölgesinde yetiştirilen Siyah Alaca ve Esmer ırkı sığırlarda myostatin ve prolaktin geni polimorfizminin araştırılması ve olası genotip varyasyonlarının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Diğer taraftan elde edilecek sonuçların, bu lokuslar ile bazı verimler arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalara da veri oluşturacak olması bu çalışmanın bir başka hedefini oluşturmaktadır.

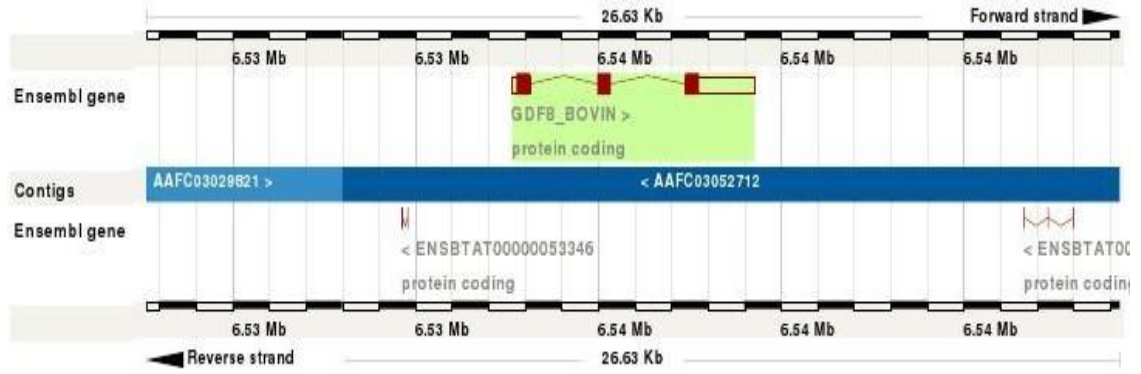
## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2. 1. Polimorfizmin Tanımı**

Polimorfizm Yunanca bir terim olup, çok anlamına gelen “poly” ve şekil anlamına gelen “morph” kelimelerinden oluşmuştur (Soysal 1983). Doğada aynı türden organizmalar genellikle bazı görünüşleri ile birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık genetik olarak da belirlenmiştir. Çok genel olarak genetik polimorfizm bir popülasyonda farklı allellere bağlı olarak belirlenmiş iki veya daha fazla alternatif fenotipin görülmesi şeklinde tanımlanabilir (Passarge 2000). Bununla birlikte polimorfizm kavramı için çeşitli tanımlamalar da yapılmıştır. Örneğin, Ford polimorfizmi, popülasyondaki genetik dengenin bir ürünü olarak ve kesikli varyasyon gösteren herhangi bir özelliğin iki veya daha fazla formunun aynı anda tekrarlanan mutasyonlarla açıklanamayacak oranda bulunması şeklinde tanımladığını tanımlamıştır (Ogden 1961). Burada en düşük sıklıkla görülen allel yalnızca tekrarlanan mutasyonlarla korunamaz (Passarge 2000). Bu yüzden daha sonra polimorfizmle ilgili iki kriterden bahsedilmiş ve ele alınan lokusun bu kriterlerden birine uyması halinde popülasyonların ele alınan lokus bakımından polimorfik sayılabileceği bildirilmiştir. Bu kriterlerden birine göre nadir olan allelin frekansı en az % 1, diğerine göre en az % 5 olarak kabul edilmiştir. (Ayala ve Kiger 1980).

### **2.2. Myostatin Geni (GDF-8, MSTN)**

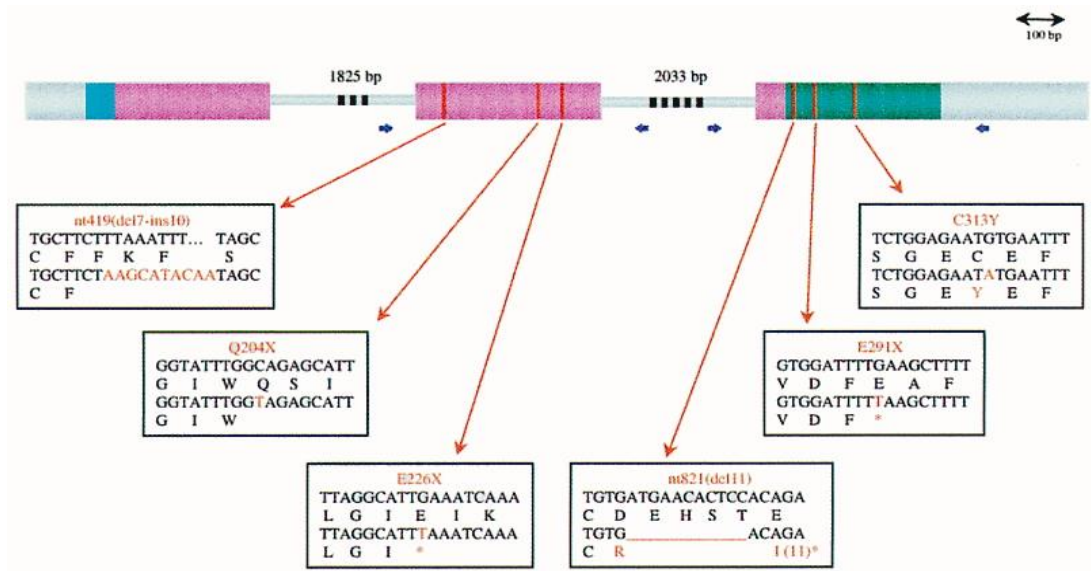
Growth Differentiation Factor-8 (GDF-8) olarak da bilinen myostatin (MSTN), Transforming Growth Factor-B (TGF-B) ailesinin bir üyesidir. İskelet kası büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynamakla birlikte kas hipertrofisine (mh: muscular hypertrophy) neden olmaktadır (Bellinge ve ark. 2004). Myostatin geni sığır genomunun 2. kromozomunda (Charlier ve ark. 1995) yer almakta ve üç ekzon ile iki intron'dan meydana gelmektedir (Şekil 2.1). Myostatin kelime anlamı olarak “myo” “kas” ve “statin” “inhibe eden” anlamında olup kas gelişimini yavaşlatan anlamını taşımaktadır (Roth 2007).



**Şekil 2.1.** Myostatin geni 3 ekzon ve 2 introndan oluşmaktadır (Anonim 2012a)

Sığırlarda çift kaslılığın myostatin genindeki mutasyonlar tarafından kontrol edildiği bilinmektedir (Grobet ve ark. 1998). Ancak çift kaslılık fenotipinin görülmesi sadece bu mutasyonlara bağlı olmayıp, beslenme ve cinsiyet gibi faktörlerden de etkilenmektedir (Menissier 1982b).

Sığır ırklarındaki myostatin geninde çok sayıda mutasyon belirlenmiş olup, bunlardan birçoğu sessiz veya nötral mutasyonlardır. Çift kaslı sığırlarda myostatin geninin fonksiyon kaybına neden olan toplam 6 mutasyon (Şekil 2.2) tanımlanmıştır (Grobet ve ark. 1998, Karim ve ark. 2000).



**Şekil 2.2.** Myostatin geninde fonksiyon kaybına neden olan çift kaslı sığırlarda görülen mutasyonlar (Grobet ve ark. 1998, Karim ve ark. 2000).

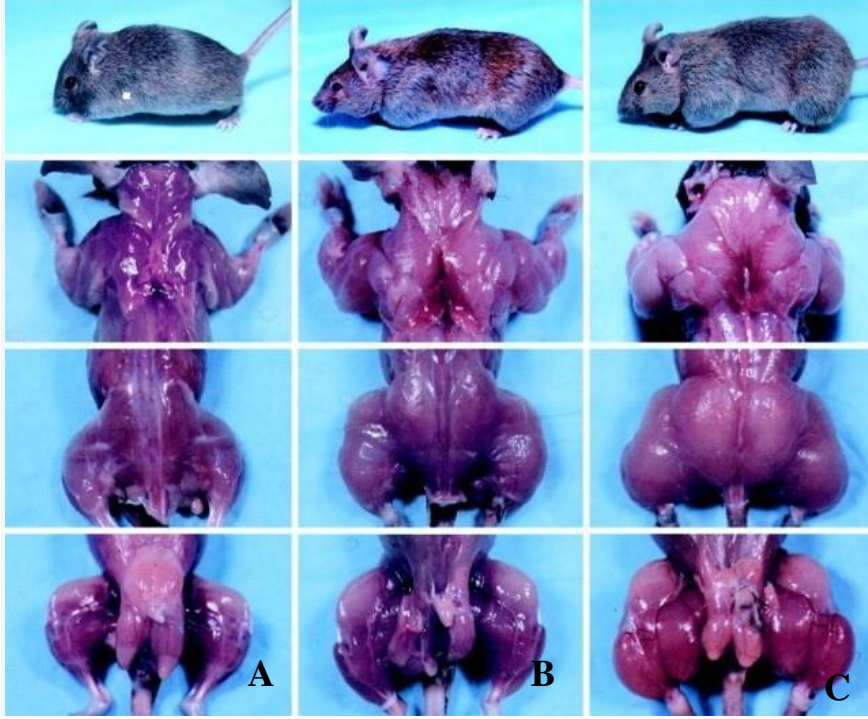
Bu mutasyonların görüldüğü ırklar, myostatin proteininde yol açtığı değişim ve myostatin mutasyon türü Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Myostatin geninde görülen mutasyon türleri, meydana gelen protein değişimi ve görüldüğü sığır ırkları (Grobet ve ark. 1998, Karim ve ark. 2000)

<b>Gen Mutasyon Türü Başlama kodonu sonrası nükleotit pozisyonu</b>	<b>Myostatin Protein Değişimi</b>	<b>Sığır Irkları</b>
<b>nt419(del7-ins10)</b> 7bç’lik delesyon ve 10bç’lik insersiyon (419.nükleotid)	Erken bir stop kodonu nedeniyle proteinin kesilmesi	Maine-Anjou
<b>Q204X</b> C → T değişimi (610.nükleotid)	Erken bir stop kodonu nedeniyle proteinin kesilmesi	Charolais Limousin
<b>E226X</b> G → T değişimi (676.nükleotid)	Erken bir stop kodonu nedeniyle proteinin kesilmesi	Maine-Anjou
<b>nt821(del11)</b> 11 bç’lik delesyon (821.nükleotid)	Erken bir stop kodonu nedeniyle proteinin kesilmesi	Belgian Blue Blonde d’Aquitaine Limousin South Devon
<b>E219X</b> G → T değişimi (874.nükleotid)	Erken bir stop kodonu nedeniyle proteinin kesilmesi	Marchigiana
<b>C313Y</b> G → A değişimi (938.nükleotid)	sistein - tirozin değişimi	Piedmontese

Myostatin geninin üçüncü ekzonundaki mutasyonlardan iki tanesi fenotipi güçlü bir şekilde etkilemektedir. Belçika Mavisi ve Piedmontese ırkı sığırlarında myostatin genini kodlayan bölgelerde meydana gelen mutasyonlar kas artışına yol açmış ve bu artış çift kaslılık olarak tanımlanmıştır (Grobet ve ark. 1997, Kambadur ve ark. 1997). Ayrıca bu fenotipin Belçika Mavisi ve Piedmontese sığır ırklarında yüksek frekansta görüldüğü bildirilmektedir (Kambadur ve ark. 1997). Sığırlarda çift kaslılık fenotipinin meydana gelmesine yol açan ve Belgian Blue, Blonded’Aquitaine, Limousine Parthenaise, Asturiana ve Rubea Gallega sığır ırklarında myostatin geninin 821. nükleotidinden başlayarak 11 baz çiftlik bir delesyon olduğu bildirilmiştir (Grobet ve ark. 1997). Gasconne ve Piedmontese sığırlarında ise myostatin geninin 3. ekzonun 938. pozisyonunda bir G→A transisyonu tespit edilmiştir (Kambadur ve ark. 1997).

Çift kaslılığın myostatin geninden kaynaklandığını göstermek amacıyla myostatin geninin, iskelet kası büyümesini negatif yönde düzenleyici etkisini ilk defa farelerde (Şekil 2.3) tespit ederek, myostatin geninin TGF-B ailesinin bir üyesi olduğunu tanımlamışlardır. (McPherron ve ark. 1997a).



**Şekil 2.3.** Myostatin geninin negatif düzenleyici etkisinin kaldırılması aşamaları (A: Normal Fenotip, B: Heterozigot Fenotip, C: Homozigot Fenotip) (Anonim 2012b)

### 2.3. Çift Kaslılık

Sığır kas kütlelerinin büyümesi ilk olarak 1807'de İngiliz bir çiftçi olan Culley tarafından belirlenmiş olup, 1888'de Kaiser tarafından ayrıntılı bir şekilde tanımlanmıştır. Daha sonraları 1929 yılında Wriedt çift kaslılığın durumunun tek bir genden kaynaklandığını, 1934 yılında Kronacher ise çift kaslılığın üç gen tarafından kontrol edildiğini öne sürmüştür. Bunlardan iki genin, çift kaslılık özelliğinin ve kısmen de düzeyinin kontrolünü sağladığını, üçüncü genin ise çift kaslılık özelliğinin baskılanmasından veya ekspresyonundan sorumlu olduğunu da belirtmiştir. 1971 yılında Quesada ve Cachafeiro



adlı araştırmacılar dört farklı fenotipik sınıf içerisindeki dokuz farklı genotipi belirlemişler ve çift kaslılığın iki lokus tarafından kontrol edildiğini ne sürmüşlerdir (Bellinge ve ark. 2004).

Çift kaslılık özelliğinin kalıtımı üzerine ortak görüş olarak tek major gen modeli benimsenmiş olmakla birlikte bu genin etki mekanizması üzerinde farklı görüşlerde bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar çift kaslılık geninin dominant olduğunu (Wriedt 1929, Arthur 1995), bazıları ise resesif etkili olduğuna inanmaktadırlar (Arthur 1995). Araştırmacılar, ift kaslı ve normal fenotipli hayvanlar arasındaki farklılığı ayırt etmek için farklı semboller kullanmışlardır. Çift kaslı ve normal oluşum için sırasıyla, DM ve N; D ve n; DM ve dm; C ve N; c ve n; A ve a; ve mh ve + gibi semboller kullanmışlardır (Bellinge ve ark. 2004). Çift kaslılığın görüldüğü Belçika Mavisi ve Piedmentosa (şekil 2.4) sığır ırkları bu konuda yapılan çalışmalarda oldukça fazla incelenmişlerdir.



**şekil 2.4.** Belçika Mavisi ve Piedmentosa sığır ırkı (Anonim 2012c/d)

Çift kaslı hayvanların karkasları yüksek miktarda kas kütlesi ve düşük miktarda yağ miktarından oluşmaktadır (Arthur 1995). Bu durum özellikle ekonomik olarak avantaj sağlamaktadır. Ayrıca düşük kolestroll ve yağsız yapısı, sağlıklı bir et üretimi için bir alternatif oluşurmaktadır (şekil 2.5).



**Şekil 2.5.** Myostatin geninde meydana gelen mutasyonla birlikte etin yağ oranında meydana gelen değişiklik. A; Normal allel(+/+), B; Heterozigot allel (+/-), C; Homozigot allel (-/-) (Anonim 2012e)

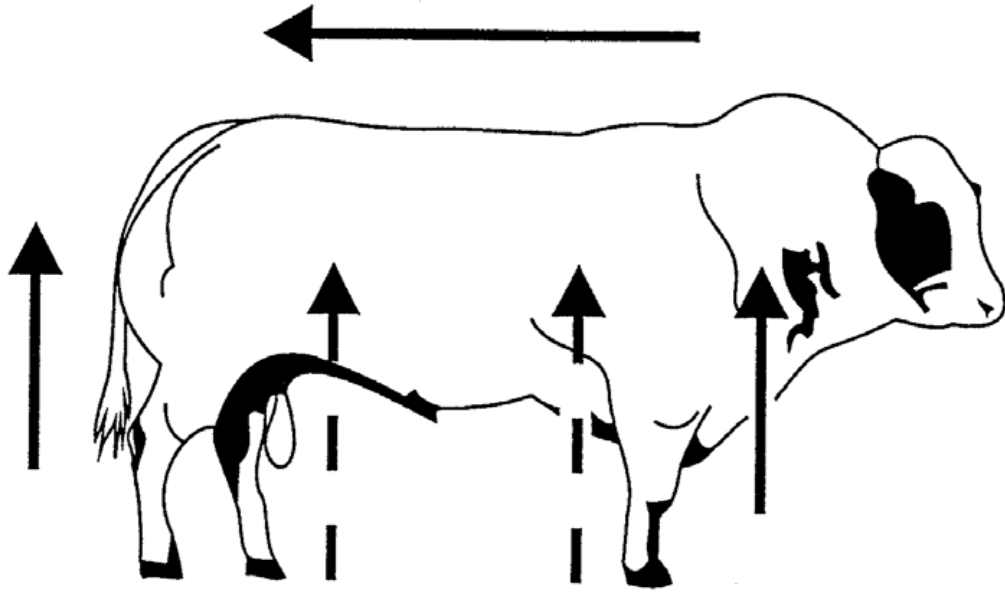
Çift kaslılık günümüzde birçok sığır ırkında gözlenmiştir. Özellikle bu fenotip Avrupa sığır ırkları arasında giderek daha yaygın bir hale gelmektedir. Ama gerçekte çift kaslılık uzun zamandan beri var olup, kalıtsal yapısı hala kesin olarak bilinmemektedir. Bu fenotip, abartılı bir kas gelişimi içerir (Şekil 2.6) ve çift kaslılık (double muscle) olarak adlandırılmaktadır (Bellinge ve ark. 2004).



**Şekil 2.6.** Abartılı kas gelişimi (Anonim 2012f)

Çift kaslılık, kas liflerinin sayısındaki (hiperplazi) ve lif genişlemesindeki (hipertrofisi) artıştan kaynaklanmaktadır (Swatland ve Kieffer 1974). Çift kaslı olarak doğan sığır normal bir sığıra oranla yaklaşık iki kat daha kaslı olarak meydana gelmektedir (Gerrard ve ark. 1991). Çift kaslı sığırlar ile normal sığırlar karşılaştırıldığında yüksek hipertrofi, hipertrofi, ve hipotrofi olmak üzere 3 ayrı bölge bulunmaktadır (Boccard ve Dumont 1974, Dumont 1982, Shahin ve Berg 1985, Arthur 1995). Omurga bölgesinde yer alan kas hipertrofisinin hemen ardından boyun çevresinde önden arkaya doğru gelen eğim ile devam etmektedir. Kas hipertrofisi arka bölgelerden ziyade ön

bölgelerde gözlenmektedir (Vissac 1968, Boccard ve Dumont 1974, Dumont 1982, Arthur 1995). Kas hipertrofisi aynı zamanda çevresel kasları da etkilemekte ve bunun sonucunda geniş bir yüzey şeklini ortaya çıkarmaktadır (Boccard ve Dumont 1974, Arthur 1995). Başka bir açıdan ise kas hipertrofisi distoproximal eğim ile sonuçlanmakta ve ön kol ve bacak bölgelerinde bu seviye maksimuma çıkmaktadır (Shahin ve Berg 1985, Arthur 1995). Çift kaslı sığırlardaki kas hipertrofisinin genel eğimi ve iskelet hipotrofisi (Şekil 2.7) gösterilmiştir.



**Şekil 2.7.** Çift kaslı sığırlarda kas hipertrofisi ve iskelet hipotrofisinin yönelimi (Öz 2009'dan alınmıştır)  
— kas hipertrofisinin artmasını göstermektedir.  
----> kol ve bacak kemiklerinin hipotrofisinin artmasını göstermektedir.

Çift kaslı sığır daha yüksek beyaz kas lifleri yüzdesine (West 1974), hemde düşük kollajen (bağ dokunun ana maddesini oluşturan albuminoid protein) içeriğine sahiptir (Uytterhaegen ve ark. 1994). Ayrıca çift kaslı sığırların kaslarında daha az bağ dokusu içerdiği bildirilmiştir (Hanset 1991).

Çift kaslılık fenotipi kas hipertrofisi ile karakterizedir. En belirgin kaslar, proksimal bölgelerindeki ön ve arka çeyreklerden oluşmaktadır ve kaslar arası sınırlar ile belirgin kas çıkıntısı ve cilt altındaki oluklar net bir şekilde görülmektedir (Menissier 1982a).

Diğer fiziksel karakteristikleri bacak kemiklerinin inceliği, az gelişmiş dış genital organlar ve yeni doğan buzağılarda dillerinin anormal oluşumunu içermektedir (Kieffer ve Cartwright 1980). Çift kaslı hayvanlar ayrıca daha az kemik, daha az yağ ve daha fazla kasa sahiptir ve etin kasaplık değeri oldukça yüksektir (Menissier 1982a, Shahin ve Berg 1985). Bununla birlikte, doğurganlığın azalması, düşük buzağı canlılığı, stres duyarlılığının artması (Arthur ve ark. 1988) ve distosisi (doğum güçlüğü) (Arthur ve ark. 1989) dahil olmak üzere çift kaslılık fenotipinin bazı sakıncaları bulunmaktadır.

Buna ek olarak, normal sığır ile karşılaştırıldığında dolaşım sistemindeki çeşitli hormonlar çift kaslı sığırlarda farklı düzeylerde bulunmuştur (Arthur 1995). Yapılan araştırmaya göre normal sığır ile çift kaslı sığır karşılaştırıldığında çift kaslı sığırlarda büyüme hormonu (BH) düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (Michaux ve ark. 1982). Ancak başka bir çalışmada, büyüme hormonunun kan plazma seviyelerinin çift kaslı sığırlarda daha düşük olduğu görülmüştür (Hocquette ve ark. 1999).

Çift kaslı sığırlar da karkas yağ miktarının normal sığırdan önemli ölçüde daha az olduğu ve özellikle mozaikleşme olarak bilinen kas içi yağın, çift kaslılık fenotipinin önemli bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Hanset 1991). Etteki mozaik yapıda meydana gelen minimum bir azalma, lezzet oranının azalmasına neden olmakta ve mozaik yapının azalmasının ise deri altı ve iç yağ dokusundaki adiposit (yağ dokusu hücresinin) hacminden kaynaklandığı bildirilmiştir. Ancak çift kaslı ve normal sığır arasında kas içi yağın içindeki adiposit hacmi aynı görülmüştür (Hocquette ve ark. 1999). Ayrıca Belçika Mavisi ırkı normal ırklarla karşılaştırıldığında yağ depolarının bileşiminde de varyasyon olduğu gözlenmiştir (Webb ve ark. 1998).

Çift kaslı sığırların doğurganlığının normal sığırlara göre azaldığı bildirilmiş ve çift kaslı sığırın gebelik dönemi için daha az yetenekli olduğu gözlenmiştir (Strath ve ark. 1981). Çift kaslı hayvanların embriyolarının daha yüksek ölüm oranına sahip olduğu ileri sürülmüştür (Rollins ve ark. 1972). Çift kaslı hayvanların gebelik süresinin daha uzun olduğu ve normal hayvanlara göre çift kaslı hayvanlardan daha yüksek doğum ağırlığına sahip yavru elde edildiği belirlenmiştir (Hanset 1991). Bu nedenle yardımsız olan doğumların yüksek mortalite oranları ve distosisi (doğum güçlüğü) bulunmaktadır

(Wiener ve ark. 2002). Yüksek kas düzeyine sahip sığırlarda bu problem daha da güçleşmektedir. Bu nedenle ineğin pelvisi, pelviks şişkinliğin önlenmesiyle veya pelvik tıkkama sayesinde, doğum yardım almaksızın önlenmiş olmaktadır ( Wiener ve ark. 2002).

Çift kaslılık durumuna sebep olan mutasyon bakımından heterozigot olan hayvanlar, yabani tip allele sahip hayvanlardan daha büyüktürler ve homozigot olan hayvanlarda meydana gelen doğum güçlükleri gözlenmemektedir (Bellinge ve ark. 2004). Homozigot çift kaslı hayvanlar için yardım almadan buzağılama şansı çok az iken heterozigot hayvanlar yardımsız doğum için çok daha büyük bir kapasiteye sahiptir. Fakat Homozigot / heterozigot bireyler için buzağılama yardımının mutlak bir gereksinim olması çift kaslılık fenotipi için maliyet oluşturmaktadır (Bellinge ve ark. 2004).

#### **2.4. Sığırlarda Myostatin Genindeki Polimorfizm Çalışmaları**

Mcpheeron ve ark. (1997b), dokuz farklı sığır ırkında myostatin geninin nükleotid sıralanışını tespit etmiş ve aminoasit dizileri bakımından karşılaştırmalarda bulunmuştur. Ayrıca Belçika Mavisi ve Piedmontese ırkı sığırlarında myostatin geninin kodlama bölgelerinde mutasyonlar da tespit etmişlerdir. Myostatin geninin ve *mh* lokusunun haritalandığı bölge, iki farklı çift kaslı sığır ırkındaki myostatin geninde saptanan bazı mutasyonların çift kaslılık fenotipi ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür. Bu varsayımı desteklemek amacıyla çift kaslı olarak sınıflandırılmayan 16 sığır ırkından (11 Angus, 11 Charolais, 10 Holstein, 10 Brown Swiss, 10 Boynuzsuz Hereford, 10 Gelbvieh, 9 Simmental, 9 Jersey, 9 Guernsey, 9 Ayrshire, 7 Limousine, 4 Brahman, 4 Boynuzsuz Shorthorn, 4 Kırmızı Angus, 2 Chianina, ve 1 Uzun Boynuzlu Texas) toplam 120 adet sığırdaki Southern Blot analizleri yapılmış ve Piedmontese sığırlarında görülen sitozen → tirozin dönüşümünün bu 120 hayvanın hiç birinde bulunmadığı belirlenmiştir (Mcpheeron ve ark. 1997b). Bu bilgiler doğrultusunda çift kaslılık fenotipinin az da olsa nokta mutasyonu veya birden çok bölgede görülen mutasyonlar sayesinde diğer ırklarda da görülebileceği anlaşılmaktadır. Tüm bu sonuçlar myostatin geni mutasyonlarının en az iki sığır ırkında ortaya çıktığını göstermektedir.

Smith ve ark. (2000), Charolais, Limousine and Maine-Anjou ırklarının ekzon 2 bölgesinde C→T dönüşümünün meydana geldiğini ortaya koymuşlardır. Avrupa Limousine ırklarında gözlenen mutasyonların 3 tanesi; ekzon 1 bölgesindeki aminoasit değişimi (F19L), ekzon 2'deki stop kodon tanımlanması ve ekzon 3 bölgesindeki 11 bç'nin silinmesi sonucu oluşan mutasyonlardır. Bunlardan sadece F19L mutasyonu İngiltere Limousine sığırlarında görülmüştür. Ekzon-3 bölgesindeki 11bç'lik mutasyon Avrupa ve Amerika ve İngiltere Belçika mavisı sığırlarında gözlenmiş ve 11 bç'lik mutasyonun görüldüğü Güney Devon sığır ırklarının ilginç bir biçimde fazla yaşamadıkları saptanmıştır (Smith ve ark. 2000).

Miranda ve ark. (2002), myostatin genindeki çeşitli mutasyonlar çift kaslılığın genetik nedeni olarak tanımlanmış (Grobet ve ark. 1998) ve sonra myostatin haplotipleri belirlenmiştir.

Dunner ve ark. (2003), myostatin lokusunu 28 Avrupa ırkından toplam 678 bireyde SSCP metodu kullanarak analiz etmişler ve oldukça sık tekrar eden 7 yeni mutasyon belirlemişlerdir. 20 haplotip belirlendiği araştırmada bazı haplotiplerin ırka özel olduğunu ve farklı haplotipler arasındaki ilişkilerin, kas hipertrofisinin Avrupa'dan köken aldığı hipotezini doğrular nitelikte olduğunu bildirmişlerdir.

Shibata ve ark. (2003), yaptıkları çalışmaya göre Japon Siyah sığırlarının 6660 bç uzunluğundaki myostatin geninin anlamlı bölgelerini içeren 1128 baz çiftlerini belirlemişlerdir. Bu sığırlardan elde edilen dizilerin diğer sığır ırklarındaki nükleotid dizileriyle de benzer olduğunu tespit edilmiştir. Aynı zamanda 641. pozisyonundaki nükleotidde A→G ye dönüşmesi, 214. pozisyondaki asparajin'nin serin'e dönüşmesine yol açmıştır. Araştırmacılar myostatin geninin iskelet kaslarındaki ekspresyon yollarını da incelemişler ve bunun sonucunda üç iskelet kasında eksprese olduğu gözlemlenmiştir. Bu kaslar *Semitendinosus (ST)*, *Bicepsfemoris* ve *Longissimus lumbarum* kasları olup, bu çalışma embriyo ve yeni doğmuş buzağılardan alınan örneklerden elde edilen DNA'ların PCR analizi ile belirlenmiştir. Myostatin ekspresyonunun en fazla embriyo safhasında olduğu tespit edilmiştir ve bu safhada en fazla ekspresyonun diğer iki kasa

oranla *Semitendinosus* (ST) kaslarında olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu sonuçlara göre myostatin geninin embriyo safhasındaki yüksek ekspresyonu, yeni doğan buzağılardaki *Semitendinosus* (ST) kasının iskelet kaslarının büyümesinden sorumlu olduğu ve Japon Siyah sığırlarının myostatin gen yapısının diğer memelilerinki ile benzer olduğu ortaya konulmuştur.

Zhang ve ark. (2006), sığır myostatin geninin promotor bölgesindeki polimorfizmini 180 adet Nanyang ve 32 adet Yak sığırlarında belirlemek amacıyla PCR-RFLP metodundan yararlanmışlardır. -371 (T / A) (eviri başlangıç kodonu ATG göre) SNP frekanslarını analiz etmişlerdir. Nanyang ve yak ırkı sığırlarda dominant T alleli olduğu ve Yak ve Nanyang ırkı sığırlarda sırasıyla A alleli ve AA genotipi ile homozigot birey olmadığı gözlenmiştir.

Sifuentes Rincn ve ark. (2006), iki Mexican Full French sürülerinde myostatin geni Q204X allelinin genotip ve allel frekanslarını belirlemek için allel ayırma testi kullanılmıştır. Q204X alleli her iki sürüde de bulunmuştur ancak sadece AB ( A; Q204X alleli, B; normal allel) heterozigot genotipi mevcut sığır örneklerinde saptanmıştır. Doğu Avrupa ülkelerinden bildirilen Charolais populusyonları benzer genotip ve allel frekansları göstermişlerdir (Dvorak ve ark. 2002). Khi-kare testi ile sürüler arasında AB genotip frekanslarında önemli farklar olduğu görülmüştür ve bu duruma her bir sürünün fenotip ve verim özelliklerine göre seçilmesinin neden olabileceği belirtilmiştir.

Sifuentes-Rincn ve ark. (2007), Meksika'nın kuzeydoğusundaki Charolais sığır sürülerinde myostatin Q204X allelinin frekansının belirlenmesi için dört sürüden 289 hayvan alınmıştır. Her bir sürü taşıyıcı allele sahip olup, genotip frekansı % 5,2 ve allel frekansı % 2,6 olan toplamda 15 heterozigot birey tanımlanmıştır. İki sürüde % 8'den fazla heterozigot birey olduğu halde sr başına heterozigot sayısının sürüler arasında önemli lde farklılık göstermediği belirlenmiştir. Bu allel, sürülerde Hardy Weinberg dengesinde bulunmuştur. Myostatin Q204X alleli gibi kantitatif özellikleri etkileyen genlerin değerlendirilmesinin, yetiştiricilik stratejileri içinde rollerinin ve potansiyel uygulamalarının belirlenmesinin çok önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Wiener ve ark. (2009), myostatin genini inaktive eden mutasyonun, Güney Devon ırkı sığırlarında buzağılama, büyüme, karkas ve et kalite özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu ırk, çift kaslılık fenotipi ile ilişkili olduğu bilinen myostatin geni bakımından orta frekansta 11 bç'lik bir delesyon taşımaktadır ve bu üç genotip sınıfın karşılaştırılmasına olanak sağlamaktadır. *Mh* alleli, buzağılama güçlüğü, karkas ağırlığı, kas konformasyonu ve doymuş yağ asidi ile çoklu doymamış yağ asitlerinin oranının yanı sıra düşük büyüme oranı, karkas ve etin yağlılığı ve istenilen tat gibi özelliklerle ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte özellikler arasında genetik etkilerin doğasında ki farklılık: Bazı durumlarda heterozigot *mh* taşıyıcılar, taşıyıcı olmayanlar ile homozigot taşıyıcılardan daha benzer bulunmuştur ve bazı durumlarda ise her iki homozigot arasında orta seviyede bulunmuştur. Bu genetik etkilerin doğrultusunda Güney Devon ve diğer ırkların genetik varyasyon üzerine etkilerinin var olduğunu söylemişlerdir.

Grisolia ve ark. (2009), 30 yetişkin Nelore ırkı sığırlarında myostatin gen polimorfizmleri araştırmışlardır. DNA dizi analizi ile Nelore sığırına ait myostatin gen dizisi elde etmişlerdir. DNA dizi analizi ile ekzon-1 bölgesinde üç, ekzon-2 bölgesinde yedi ve ekzon-3 bölgesi için de dört adet polimorfizm tespit etmişlerdir. Bu mutasyonların tamamı SNP (tek nükleotid değişimi) olarak gözlenmiştir. Ekzon-1 bölgesinde meydana gelen nt76 (A/T heterozigot) sonucu 26. pozisyondaki asparagine → tyrosine aminoasit dönüşümüne yol açarken, nt111 (G/T heterozigot) ve nt267 (A/G heterozigot ya da A→G homozigot) tek nükleotid değişimleri aminoasite yansımamıştır. Ekzon-2 bölgesinde yedi SNP tanımlanmıştır. Bunlardan nt414 (C/T heterozigot) ve nt433 (A/T heterozigot) anlamlı değişimlerdir. nt420 (T/G heterozigot) ve nt445 (A/T heterozigot) değişimler sonucu sırasıyla 140. ve 149. aminoasit pozisyonlarını değiştirmiştir. nt527 (T/A heterozigot), nt641 (G→A homozigot) ve nt694 (G→A homozigot) tek nükleotid değişimleri sırasıyla 176, 214 ve 232. pozisyonunda aminoasit değişimine yol açmıştır. Ekzon-3 bölgesinde dört SNP tanımlanmıştır. Bu mutasyonlardan iki tanesi (nt840 A→G homozigot ve nt 1083 C/T heterozigot ya da C→T homozigot ) tek nükleotid değişimleri olup aminoasite yansımamıştır. nt887 (A/G heterozigot) ve nt951(T/G heterozigot) değişimleri sırasıyla 291.ve 317. aminoasitlerin değişimine yol açmıştır.



Türkiye’de myostatin geni polimorfizmine yönelik çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Öz (2009) ve Özcan ve ark. (2009), Türkiye’ deki yerli sığır ırkları (Boz Irk, Yerli Kara, Kilis ırkı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Sarı ve Siyah Alaca) ile yaptıkları çalışmalarında myostatin geninin ekzon 3 bölgesinde nt 821 del 11, G→A ve G→ T mutasyonları bakımından incelemişlerdir. Öz (2009), ekzon 3 bölgesinde herhangi bir nt 821 del 11 ve G→A mutasyonu belirlememiştir. Benzer biçimde Özcan ve ark. (2009), myostatin geninin ekzon 3 bölgesinde G→ T mutasyonunu araştırmışlar ancak üzerinde durulan ırklarda bu mutasyonun bulunmadığını bildirmişlerdir.

## 2.5. Prolaktin Geni

Süt üretimi çok sayıda faktör tarafından kontrol edilen karmaşık bir olgudur. Fakat bu olgular arasında koordineli bir etkileşim söz konusudur. Süt üretimi ve verimi çeşitli hormonların etkileşimleri tarafından düzenlenmektedir. Bunlardan biri olan prolaktin hormonunun, hayvanların hemen hemen bütün türlerinde oldukça önemli olduğu yönünde çalışmalarda vardır (Sacravarty ve ark. 2008). Bununla beraber yapılan bir çalışmada süt sığırlarında hipofizden salgılanan prolaktinin, süt verimini arttırmada başarılı olmadığı ve bundan dolayı galaktopoietik (süt ile ilgili) bir hormon olmadığı bildirilmiştir (Plaut ve ark. 1987). Bunun yanı sıra egzotik süt sığırlarında süt verimi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Chung ve ark. 1996, Dybus 2002).

Prolaktin, büyüme hormonu ve plasental laktojen ailesi ile ilişkilidir (Freeman ve ark. 2000). Prolaktin, ön hipofiz bezi tarafından salgılanan birden çok işlevi olan bir polipeptid hormondur (Bole-Feysot ve ark. 1998). Hipofiz bezinin ön lobundaki bazofil hücreleri tarafından üretilir. Prolaktin memelilerde dönemlere göre değişen işlevlere sahiptir. Kızgınlık döngüsü sırasında korpus luteumun olgunlaşmasında ve salgı üretmesinde destekleyici bir role sahiptir. Gebelikte biraz daha önemli olan yardımcı bir işlevi vardır ve östrojen ve progesteronla birlikte süt bezlerinin olgunlaşmasını sağlamaktadır. Laktasyon döneminde üretimi zorunlu bir hormondur ve prolaktin olmadan laktasyon olmaz. Prolaktinin görevi, süt bezlerini uyarmaktır ve bununla birlikte prolaktin analık özelliklerinin ortaya çıkmasına da neden olmaktadır. Bu açıdan prolaktin analık hormonu olarak da adlandırılır (Kaymakçı 2006). Prolaktinin hipofiz bezi tarafından salgılandığı ifade edilir fakat merkezi sinir sistemi, bağışıklık sistemi, beyin, plaseenta, amniyon, amniyon zarı, döl yatağı ve meme bezleri gibi çeşitli bölgelerden de salgılanmaktadır. (Sinha 1995, Ben-Jonathan ve ark. 1996, Leprovost ve ark. 1994).

Fareler, maymunlar, kemirgenler, koyun, domuz ve insanı içeren birçok memeli çeşidinde bulunan prolaktin daha çok süt üretiminden sorumlu olmasına rağmen üreme fonksiyonları üzerinde de önemli bir etkisi vardır. Prolaktinin laktogenesis, meme bezi gelişimi ve süt protein genlerinin salgılanmasında büyük rol oynadığı ispatlanmıştır

(Horseman ve ark. 1997). Bu nedenle sığır prolaktin geni (*PRL*) süt verim özelliklerini etkileyen kantitatif karakter lokusu (QTL-Quantitative Trait Loci) ile bağlantı analizi için mükemmel bir aday gibi görülmektedir (Brym ve ark. 2005).

Prolaktin, laktasyonun başlatılması ve devamı için gereklidir. Süt protein sentezi ve salgılanmasını teşvik etmek için meme alveolleri üzerine etki etmektedir. Bu hormon, süt proteinleri, laktoz ve yağlar, sütün tüm ana bileşenlerinin sentezi için öncelikli sorumludur (Leprovost ve ark. 1994). Prolaktin salınımı için en güçlü doğal uyarıcı olan emzirme vasıtasıyla prolaktin salgısı laktasyon dönemi boyunca korunmaktadır (Murai ve Ben-jonathan 1987) ve prolaktin salgısı, üreme ve bağışıklık fonksiyonlarının sıvı dengesini, hücrel büyüme ve farklılaşmayı düzenlemektedir (Nicoll 1980, Loretz ve Bern 1982, Russell 1989, Kelly ve ark. 1991). Prolaktin meme bezi gelişiminde, sütün salgılanmasında ve süt protein genlerinin sentezinde önemli bir regulatör fonksiyona sahip olduğundan verim özellikleri için genetik markırdır (Brym ve ark. 2005).

Prolaktin hormonu, prolaktin geni tarafından kodlanmaktadır. Prolaktin geni (*PRL*), sığırlarda 23. kromozom üzerinde bulunan beş ekzon ve dört introndan oluşan, 10 kb büyüklüğünde bir gendir ve 199 aminoasitlik çok fonksiyonlu bir polipeptidi kodlamaktadır (Camper ve ark. 1984, Hallerman ve ark. 1988, Wallis 1974).

*PRL* geni içinde birkaç polimorfik bölge tespit edilmiş ve süt sığırlarında *PRL* varyantları ve süt verim özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler olduğu bildirilmiştir (Chung ve ark.1996, Brym ve ark. 2005).

A→G mutasyonu sığır prolaktin geninin 3.ekzonundaki 103 aminoasit bakımından polimorfik *RsaI* bölgesine yol açmıştır (Lewin ve ark. 1992). Süt, süt yağı ve süt protein verimi gibi süt verim özelliklerini etkileyen sığır prolaktin geni polimorfizmi, restriksiyon enziminin etkisi ile tespit edilmiştir (Lewin ve ark. 1992).

Süt sığırlarında süt verimi ve yağ oranı üzerine *PRL-RsaI* lokusunun önemli bir etkisinin olduğu gözlenmiştir (Chung ve ark. 1996). Bununla birlikte, süt verim

özellikleri üzerine *PRL* geninin etkileri hakkındaki bilgiler hala sınırlıdır ve daha fazla çalışma gerektirmektedir.

## 2.6. Sığırlarda Prolaktin Genindeki Polimorfizm Çalışmaları

Rocha ve ark. (1991), Angus, Brahman, Hereford, Holstein ve Jersey ırkı sığırlarda RFLP yöntemini kullanarak kantitatif özellik lokusları (QTL-Quantitative Trait Loci) bakımından markır gen özelliğindeki büyüme hormonu geni, prolaktin geni, osteonektin geni, paratiroid hormonu ve keratin genlerindeki polimorfik bölgelerin verim özellikleri açısından önemli olup olmadığını araştırmışlardır. Prolaktin genindeki varyantlar ile verim özellikleri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Mitra ve ark. (1995), 57 adet Hint Sahiwal (*Bos indicus*) sığırı, 53 adet Murrah ve 19 adet Nili-Ravi (*Bubalus bubalis*) manda ırklarında büyüme hormonu (BH) ve prolaktin geni (*PRL*) lokuslarını PCR / RFLP yöntemi ile tarayarak BH / *AluI* (aminoasit 127) için Lösin / Valin (L/V), BH / *MspI* (intron 3) için (+/+) ve *PRL* / *RsaI* (103 aminoasit) için (A/G) allellerini tespit etmişlerdir. Sahiwal sığırları arasında, gen frekansları, 0,96/0,04 (BH / *AluI*), 0,86/0,14 (BH / *MspI*), ve 0,49/0,51 (*PRL* / *RsaI*) bulunurken, manda ırklarının her ikisi için de büyümü hormonu lokusu homozigot (LL / ++) bulunmuştur. Mısır manda ırklarından 11 birey monomorfik olarak bulunurken, monomorfizm gösteren iki lokus bakımından mandaya ait tür özelliği olabileceği bildirilmiştir. *PRL* / *RsaI* frekansları Murrah ve Nili-Ravi ırkı mandalarda sırasıyla, 0,93/0,07 ve 0,84/0,16 olarak bulunmuştur.

Udina (2001a), Rus Ayrshire ve Gorbatov Kırmızı ırkı sığırlarında, 3.ekzon polimorfik *RsaI* bölgesinin varlığından dolayı oluşan prolaktin geni allel frekanslarının dağılımını incelemişlerdir. PCR-RFLP yöntemi ile ırklardaki prolaktin geninin (*RsaI* (+) bölgesi) ve G allelinin frekansını sırasıyla %14,1 ve 8,6 olarak tespit etmişlerdir. Siyah Alaca, Ayrshire ve Gorbatov Kırmızı ırkı sığırlarında prolaktin geninin regülatör bölgesindeki dinükleotidlerini ve mikrosatelit varyasyonunu ayrıca tespit etmişlerdir. Gorbatov Kırmızısı ırkında sadece 164 bç uzunluğundaki allel ile mikrosatelit lokusu monomorfik bulunmuştur. Ayrıca diğer ırklarda 164bç ve 162 bç uzunluğunda iki allel tespit

edilmiştir. Mikrosatelit lokusundaki 164bç uzunluğundaki allellin frekansı Siyah Alaca ve Ayrshire ırklarında sırasıyla % 93,7 ve % 90,0 olarak bulunmuştur. İyi kalite sığır eti ve düşük süt yağı verimine sahip olan süt tipi Gorbatov Kırmızı ırkları, yüksek süt yağı verimli Ayrshire ve Siyah Alaca ırklarıyla karşılaştırıldığında prolaktin geni bakımından heterozigotluk seviyesinin daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Udina ve ark. (2001b), yaptıkları çalışmada prolaktin geninin A alleli frekansını, Kırmızı Gorbatov sığır ırkında % 91,4, Ayrshire ırkında % 85,9, Siyah Alaca ırkında % 80,0 olarak bulmuşlardır.

Citek ve ark. (2001), Çek Pied (n=46), Siyah Alaca (n=42), Alman Siyah Alaca (n=39) Çek Kırmızısı (n=59), Polonya Kırmızısı (n=65) ve Alman Kırmızısı (n=29) ırklarının allel frekanslarını ve ırklar arası durumunu incelemişlerdir. PCR-RFLP yöntemiyle elde ettikleri prolaktin (*PRL*) A alleli frekanslarını ırklara göre sırasıyla 0,83, 0,90, 0,81, 0,56, 0,87 ve 0,86 olarak bildirmişlerdir ve bu frekansların ırklar arasındaki dağılımın farklı olduğunu belirtmişlerdir.

Dybus (2002), Polonya Siyah-Beyaz sığırlarında prolaktin ve büyüme hormonu genlerindeki polimorfizimlerin süt verim özellikleri ile ilişkisi olup olmadığını araştırmıştır. Büyüme hormonu geninin 3. intron bölgesini PCR ile çoğaltmış ve PCR ürününü *MspI* enzimi ile kesmiştir. Dybus, tüm laktasyon dönemlerinde en yüksek süt verimi ve protein oranına *MspI* (+/+) genotipinin, yine tüm laktasyonlarda en yüksek süt yağı oranına (% olarak) ise *MspI* (+/-) genotipinin sahip olduğunu göstermiştir.

Liron ve ark. (2002), Argentine ve Bolivian Creole sığır ırklarında populasyonun genetik yapısını incelemek için aralarında prolaktinin de olduğu, süt verimiyle ilişkili beş lokusu kullanmışlardır. Altı ırkın incelendiği çalışmada, elde edilen veriler anlamlı bulgular ortaya koymuş ve bu lokuslardan genetik çeşitlilik çalışmalarında yararlanılabileceği gösterilmiştir.

Brym ve ark. (2005), prolaktin geni mutasyonları için Jersey ve Siyah Alaca sürülerini taramışlar ve süt performans özelliklerinin potansiyel belirteçleri olarak mutasyonları

değerlendirmişlerdir. Prolaktin geni dizisindeki mutasyonların süt verimi ve kompozisyonundaki kantitatif varyasyondan sorumlu olup olmadığını araştırmak için *PRL* geninin dizi analizini yapmışlardır. SSCP ve dizi analizi yöntemini kullanarak 4. ekzonda bulunan 294 bp'lik prolaktin gen fragmenti için de altı adet tek nükleotid polimorfizmi saptamışlardır. Proteinin aminoasit dizisi ile ilgili olarak saptanan bütün mutasyonlar belirsiz bulunmuştur. 186 Siyah Alaca ırkının 4. ekzonu kapsayan 294 bp'lik *PRL* geni üzerinde yaptıkları çalışmada PCR-RFLP-*RsaI* polimorfizmini belirlemişlerdir. A allelinin 0,113 ve G allelinin 0,887 frekansında olduğunu ve 138 Jersey ırkında A allelinin 0,706 ve G allelinin 0,294 frekansında olduğunu gözlemlemişlerdir. AG genotipli inekler en yüksek süt verimine sahip olurken, GG genotipli ineklerin en yüksek yağ içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Dybus ve ark. (2005), 427 Siyah Alaca ve Jersey ineklerin süt verimleriyle ilişkilendirdikleri çalışmalarında, prolaktin geninin 3. ekzon bölgesinde *RsaI* polimorfizmini belirlemişlerdir. Siyah Alaca ve Jersey ırklarının genotip frekanslarını sırasıyla AA; 0,7107, 0,0919, AG; 0,2851, 0,4324, GG; 0,0042, 0,4757 olarak bulmuşlar ve ırklara göre gen frekanslarını ise sırasıyla A; 0,8533, 0,3081, G; 0,1467, 0,6919 olarak hesaplamışlardır. Irklar arasındaki genotip ve allel frekansları farklı bulmuşlardır. İncelenen ırklarda tespit edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkileri önemsiz olarak bildirmişlerdir.

Khatami ve ark. (2005), *PRL* geninin 3.ekzon bölgesinde *RsaI* ve büyüme hormonu 3.intron bölgesinde *MspI* ve 5.ekzon bölgesinde *AluI* polimorfik yapılarını Rus Siyah Alaca ve Yaroslavl ırklarında RFLP analizi yaparak karşılaştırmışlardır. BH-*AluI* polimorfizminin sütteki yağ içeriği ile önemli derecede ilişkili olduğunu ve LV genotipinin en yüksek yağ içeriğine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. *PRL* geni *RsaI* bölgesinde ise GG genotipinin sütteki yağ içeriği ile negatif yönde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Miceikiene ve ark. (2006), iki kültür ve iki yerli toplam 4 ırka ait 71 inek ve 20 boğadan oluşan 91 Litvanya sığırında *PRL* geni A ve G allel frekanslarını bulmuşlardır. A ve G allel frekanslarını Litvanya Siyah ırkı için sırasıyla 0,97 ve 0,03, Litvanya Açık Gri

(Light Grey) ırkında 0,95, 0,05, Litvanya kırmızısı ırkında 0,77, 0,23, Litvanya Siyah Alaca ırkında ise 0,87, 0,13 olarak belirlemiştir. *PRL* genine ait, tespit edilen tüm varyantların, süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı üzerine çok önemli derecede etkide bulunduğunu tespit etmişlerdir.  $\kappa$ -Cn geninin, incelenen diğer süt protein lokuslarıyla karşılaştırılması sonucu süt protein oranı üzerine (%5,9) daha yüksek etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. İncelenen Litvanya ırklarında *PRL* geni AA genotipinin en yüksek frekansta olduğunu gözlemlemişler ve süt yağı oranı üzerine (%12,12) oldukça yüksek etkiye sahip olduğu tespit etmişlerdir.

Zhou ve ark. (2006), 543 Pekin Holstein sığırının, *PRL* geni 3.ekzon bölgesindeki gözledikleri AA, AG ve GG genotiplerine ait frekansların 0,734, 0,257 ve 0,009 olduğunu bildirmişlerdir. Verimle ilişkili analizlerinde; birinci laktasyon kayıtlarında AA ve AG genotipli ineklerin daha yüksek süt, yağ ve protein verimine sahip olduğunu ve ikinci laktasyonda AG genotipli ineklerin AA genotiplilerden ilgili özellikler bakımından üstün olduğunu bulmuşlardır. İkinci ve üçüncü laktasyondaki AA genotipli ineklerin ise AG genotiplilerden daha fazla protein verimine sahip olduklarını gözlemlemişlerdir.

Li ve ark. (2006), 236 Holstein sığırında ait *PRL* geni üzerinde *XbaI* kesim bölgesini tespit etmişler ve PCR-RFLP allellerinin, süt ve yağ verimi, 305-günlük süt verimi ve sütün protein içeriği ile istatistiksel olarak önemli olduğunu bulmuşlardır.

Alipanah ve ark. (2007a), Rus Kızıl Alaca sığırlarında prolaktin lokusu gen frekansını ve prolaktin geni varyantları ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. 125 adet Rus Kızıl Alaca sığırları prolaktin geni bakımından PCR-RFLP yöntemi kullanılarak genotiplendirilmiştir. Bu ırkın genotip frekanslarını AA, AG ve GG sırasıyla 0,598, 0,392 ve 0,01 olarak, allel frekanslarını ise A ve G sırasıyla 0,794 ve 0,206 olarak bulmuşlardır. GG genotipli bireylerin süt verimini, AA ve AG genotipli bireylerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte GG genotipli bireylerin süt yağı verimini AA ve AG genotipli bireylerden daha yüksek bulmuşlardır. Süt yağ oranı (%) ile ilgili olarak ise AG genotipli bireylerin AA ve GG genotipli bireylerden daha yüksek süt yağ oranına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Süt yağı

verimi ve süt protein konsantrasyonu açısından farklı *PRL-RsaI* genotipli sığırlar arasında hiçbir fark bulunmamıştır. Sonuç olarak en yüksek süt ve süt yağı verimi *PRL-RsaI* GG genotipli sığırlardan elde edilmiştir. Prolaktin geninin, sığırların süt özellikleri için bir belirteç olarak kabul edilebilir olduğunu göstermişlerdir.

Alipanah ve ark. (2007b), 72 adet Rus Siyah Alaca ve 98 adet Kırmızı Alaca ırkı sığırlarında *PRL-RsaI* lokusunu belirlemişlerdir. PCR-RFLP yöntemini, *PRL-RsaI* allel frekansını belirlemek için kullanmışlardır. Siyah Alaca ve Kırmızı Alaca ırklarının *PRL-RsaI* lokusu bakımından gen frekanslarını sırasıyla A; 0,71 ve 0,78 ve G;0,29 ve 0,21 olarak bulmuşlardır. Prolaktin geninde A ve G alleli frekansı açısından fark bulunmamıştır. *PRL-RsaI* ve süt verimi ve süt yağı yüzdesi arasındaki önemli ilişkiler her ikisi için de gözlenmiştir.

Kepenek (2007), dört Türkiye yerli sığır ırklarında; 48 adet Güney Anadolu Kırmızısı, 34 adet Doğu Anadolu Kırmızısı, 42 adet Yerli Kara, 46 adet Bozırk ve damızlık olarak seçilen 21 adet Holstein ırkı, toplamda 191 adet sığırdaki prolaktin (*PRL*) ve diaçilgliserol açıltransferaz 1 (*DGATI*) genlerini çalışmıştır. *PRL* geninin A allelinin frekansı 0,5645 (Yerli Kara) ile 0,7558 (Güney Anadolu Kırmızısı) arasında hesaplanmıştır. *PRL*<sup>A</sup> alleli frekansı ve süt üretimi arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır.

Sacravarty ve ark. (2008), Kankrej sığır ırkında prolaktin geninde olası başka polimorfizmleri bulmak ve ekonomik özellikler ile bu polimorfizmleri ilişkilendirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, 3.ekzonda bulunan 156 bç'lik bölgeyi incelemişlerdir. Kankrej sığırının prolaktin geni bakımından genotip frekanslarını AA; 0,333, AG; 0,352 ve GG; 0,315 ve A/G allelleri için allel frekanslarını A; 0,509 ve G; 0,491 olarak bulmuşlardır. *PRL-RsaI* genotiplerinin ilk buzağılama yaşı, laktasyon verimi, servis periyodu ve gebelik başına tohumlama sayısını incelemişler ve ilk buzağılama yaşının genotipler arasında önemli derecede farklılık gösterdiğini gözlemlemişlerdir. AA ve AG genotipli sığırlarda ilk buzağılama yaşının GG genotipli sığırlardan daha az olduğunu gözlemlemişlerdir.



Öztabak ve ark. (2008), Güney Anadolu Kırmızısı ve Doğu Anadolu Kırmızısı sığır ırklarının prolaktin (*PRL*) genotiplerini ve allel frekanslarını belirlemişlerdir. Her iki ırk için de 40 adet sığır kullanmışlardır. Prolaktin geninin 3. ekzonu PCR ile çoğaltılmış ve *RsaI* enzimi ile ilgili bölgenin kesimi yapılmıştır. A ve G allellerinin frekansı GAK için sırasıyla 0,56 ve 0,44 iken DAK için 0,74 ve 0,26 olarak hesaplanmıştır. Süt verim özellikleri ile ilişkili olan prolaktin (*PRL*) G alleli her iki ırk için de düşük bulunmuştur.

Ghasemi ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada *PRL-RsaI* lokusundaki allelleri belirlemişlerdir ve süt verimi özellikleri arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Genotip frekanslarını AA, AG ve GG genotipleri için sırasıyla 0,81, 0,15 ve 0,04 olarak hesaplamışlardır. Prolaktin A allelinin frekansını ise 0,89 olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar AA genotipli sığırları diğer grup sığırlarla karşılaştırdıklarında en çok süt verimine sahip olduklarını ifade etmişlerdir.

Kaplan (2010), Yerli Anadolu Mandalarında ve Esmer ırkı sığırlarda PCR-RFLP yöntemini kullanarak prolaktin lokusunun polimorfik olduğunu belirlemişlerdir. 45 baş Anadolu Mandası ile 30 baş Esmer ırkını materyal olarak kullanmıştır. Prolaktin geni ile ilgili Yerli Anadolu mandalarında herhangi bir polimorfizme rastlanılmamıştır. Bununla birlikte Esmer sığırlarda prolaktin geniyle ilgili polimorfizm tespit etmiştir. Esmer sığırlarda A allelinin frekansı 0,82 olarak belirlenirken, G allelinin frekansı 0,18 olarak belirlenmiştir. Genotip frekansları ise AA genotipinde 0,63, AG genotipinde 0,37 olarak bulunmuştur. Esmer sığır ırklarında GG genotipli birey bulunamamıştır.

Sodhi ve ark. (2011), 23 yerli Hint sığırında (*Bos Indicus*) prolaktin-*RsaI* lokusunun allelik varyantlarının dağılımını değerlendirmişlerdir. PCR-RFLP yöntemini kullanarak prolaktin (*PRL*) geninin 3.ekzonunda 156 bp' lik parça elde ederek heterozigot AG (0,58) genotipinin baskın olduğunu bulmuşlardır. Homozigot AA (0,22) ve GG (0,20) genotiplerinin frekansları benzer oranlarda bulunmuştur.  $PRL^A$  (0,52) ve  $PRL^G$  (0,48) allelleri benzer gen frekansları göstermiştir. Hint yerli ırkı sığırlarında *PRL-RsaI* lokusunun mevcut profili *Bos Taurus* ve diğer ülkelerin sığır ırklarından farklı olduğunu ya da GG genotipi ve  $PRL^G$  alleli veya AA genotipi ve  $PRL^A$  allelinin daha yaygın olduğunu bildirmişlerdir.

Akyüz ve ark. (2012), dört Türkiye yerli sığır ırklarından, (Doğu Anadolu Kırmızısı, Güney Anadolu Kırmızısı, Boz Irk ve Yerli Kara Irkları ile Holstein ve İsviçre Esmeri ırkları) toplamda 259 baş sığırda PCR-RFLP yöntemi ile kapa-kasein, sığır büyüme hormonu ve prolaktin polimorfizmlerini incelemişlerdir. Populasyonlar arası genetik farklılaşma derecesi 0,053 olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Genetik mesafe değerlerine göre, en yüksek genetik farklılık dört Türkiye yerli sığır ırklarından Doğu Anadolu Kırmızısı ve Güney Anadolu Kırmızısı arasında bulunmuştur ve bu farklılığın önemli olduğu görülmüştür.

Mahajan ve ark. (2012), Malvi, Nimari and Frieswal ırkı sığırlarının prolaktin geni ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Prolaktin (*PRL*) *RsaI* genotipleri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. İki kesim bölgesinde AA, AG ve GG genotiplerine karşılık gelen üç farklı RFLP deseni elde edilmiştir. Üç sığır ırkı arasında genotip frekansları AA genotipi 0,000 – 0,315, AG genotipi 0,629- 0,900 ve GG genotipi 0,000 – 0,100 arasında olmakla beraber allel frekansları, A alleli 0,450 – 0,630 ve G alleli 0,370 – 0,550 arasında bulunmuştur. Malvi, Nimari and Frieswal ırkı sığırlarının bütün genotiplerinin belirgin khi-kare değeri populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını göstermiştir. Araştırmacılar AG genotipli hayvanların yüksek laktasyon süresi ve laktasyon verimine, AA genotipli hayvanların en az servis periyoduna sahip olduğunu gözlemiş, hayvan ıslahı açısından kullanışlı olabileceklerini ileri sürmüşlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bursa bölgesinde farklı yetiştiricilerden elde edilen Siyah Alaca (n=70 ) ve Esmer sığır (n=66) ırkına ait hayvanlardan alınan kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Araştırmada kullanılan sığır ırkları sayıları ve örneklerin alındığı çiftlik sayısı

İrk	N	Çiftlik Sayısı
Siyah Alaca	70	4
Esmer	66	3
Toplam	136	7

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve DNA İzolasyonu

Her sığırın boyun toplardamarından 10 ml kan vakumlu K3EDTA içeren tüplere alınmış ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. DNA izolasyonları Fermentas (K0512) marka ticari izolasyon kiti kullanılarak, kitin kullanma kılavuzundaki talimatların uygulanması ile aşağıda bildirilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Her bir hayvandan alınan kanlardan 200 µl kan örneğine, 400 µl lysis çözeltisi eklenmiş ve 65 °C'de 5 dakika inkubasyona bırakılmıştır.
2. İnkubasyon sonrası 600 µl kloroform eklenmiş ve homojen bir duruma gelinceye kadar karıştırmıştır. Daha sonra 10 000 rpm 'de 2 dakika santrifüjedilmiştir.
3. Santrifüjün ardından, üste kalan ve DNA içeren sıvı faz temiz bir tüpe aktararak, çöktürme solusyonu eklenmiştir ve oda sıcaklığında ters yüz edilip, 10 000 rpm 'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.

4. Supernatanın tamamen uzaklaştırılmasının ardından tüpte kalan DNA peleti 100 µl 1,2 M NaCl çözeltisi ile tamamen çözündürülmüştür.

5. DNA içeren tüplere 1000 µl saf etanol ilave edilerek DNA'nin çökmesi beklenilmiş ve 10 000 rpm'de 3 dakikalık santrifujün ardından, etanolün tüplerden uzaklaştırılması beklenilerek ardından DNA'lar 100 µl TE çözeltisinde çözündürülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.2. PCR- RFLP Yöntemi

Sığır myostatin geninin 3. ekzonunda bulunan 124 bç'lik bölgenin ve sığır prolaktin geninin 4. ekzonunda bulunan 294 bç'lik bölgenin çoğaltılması için 50 ng genomik DNA, her bir primerden (Çizelge 3.2) 0,5 µM ve 12,5 µl 2XPCR Master Mix (Fermentas, K0171)'den oluşan 25 µl reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Siyah Alaca ve Esmer ırklarından elde edilen DNA'lardan söz konusu bölgeler PCR ile çoğaltılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. PCR cihazı

Elde edilen genomik DNA'lardan myostatin lokusunun 3. ekzonuna ait 124 bç'lik bölgenin çoğaltılmasında Stasio ve Rolando (2005) tarafından bildirilen yöntem, prolaktin lokusunun 4.ekzonunda bulunan 294 bç'lik bölgenin çoğaltılmasında ise Brym ve ark. (2005) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** Myostatin ve prolaktin genleri için primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları

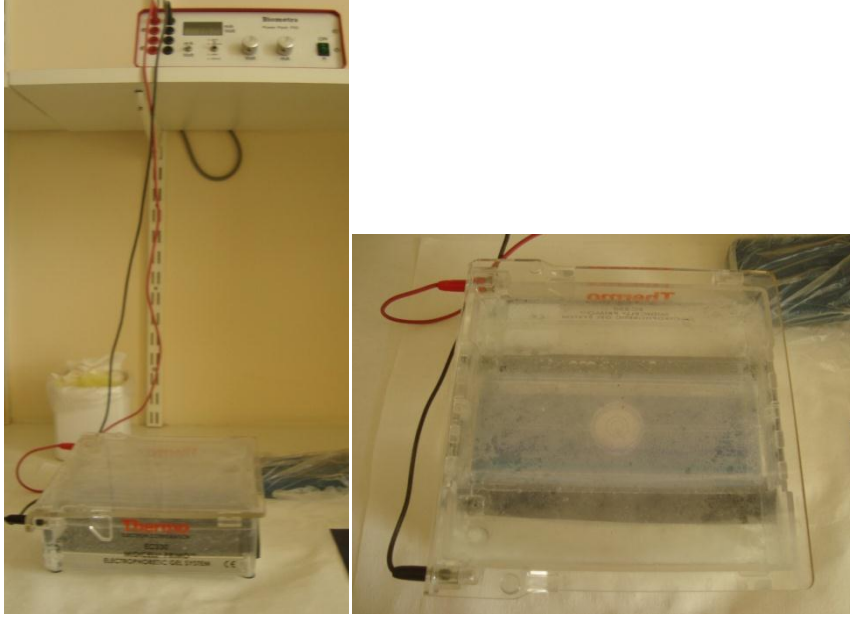
	Primer Dizisi (5'→3')	Tm	Restriksiyon Enzimi	Kaynak
MY- F	CCAATTACTGCTCTGGAGGAT	60°C	<i>BstF5I</i>	Stasio ve Rolando (2005)
MY- R	GGAGACATCTTTGTAGGAGTACAGC			
PRL-F	CCAAATCCACTGAATTATGCTT	58,5°C	<i>RsaI</i>	Brym ve ark. (2005)
PRL-R	ACAGAAATCACCTCTCTCATTCA			

Elde edilen PCR ürünlerinden myostatin lokusuna ait 124 bp'lik bölge *BstF5I* enzimi ile 37°C'de 4 saat, prolaktin lokusuna ait 294 bp'lik bölge ise *RsaI* enzimi ile yine 37°C'de 2 saat süre ile kesime bırakılmıştır (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Restriksiyon enzimi ile kesim işleminin gerçekleştirildiği kuru blok ısıtıcı

Daha sonra elde edilen PCR ürünlerinden myostatin lokusuna ait olan ürünler %3,5'lük ve prolaktin lokusuna ait olanlar ise % 2,5'lük agaroz jelde yürütülmüş (Şekil 3.3) ve elde edilen bantlar UV ışığı altında etidyum bromür varlığında gözlenmiş ve fotoğraflanmıştır (Şekil 3.4).



**Şekil 3.3.** Kesim ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi.



**Şekil 3.4.** Jel dökümantasyon sistemi

### **3.2.3. İstatistiki Analiz**

Myostatin ve prolaktin lokusları bakımından gen frekanslarının ( $P_i$ ) hesaplanmasında lokus sayma yönteminden yararlanılmıştır (Nei 1987). Üzerinde durulan lokuslar bakımından çalışılan populasyonların Hardy-Weinberg genetik dengesinde olup olmadıkları ise  $\chi^2$  testi ile kontrol edilmiştir (Düzgüneş ve ark. 1983).

$$P_i = \frac{(2f_1 + f_2)}{2N} \quad \chi^2 = \sum \frac{(G - B)^2}{B}$$

$P_i$  = i. allelin frekansı

$f_1$  = i. allel bakımından homozigot genotipli bireylerin sayısı

$f_2$  = i. allel bakımından heterozigot genotiplerin sayısı

$N$  = i. lokus bakımından toplam birey sayısı

$\chi^2$  = Khi-kare değeri

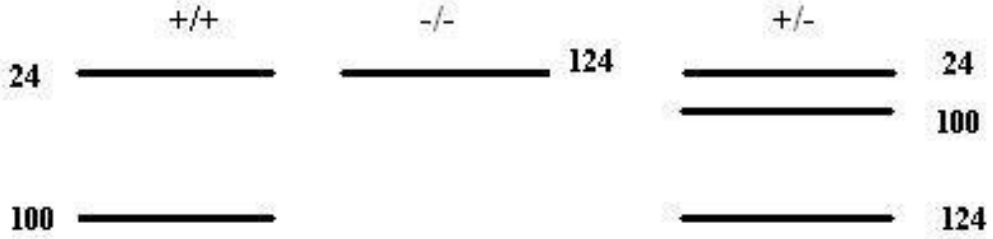
$G$  = Gözlenen frekansları

$B$  = Beklenen frekansları

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

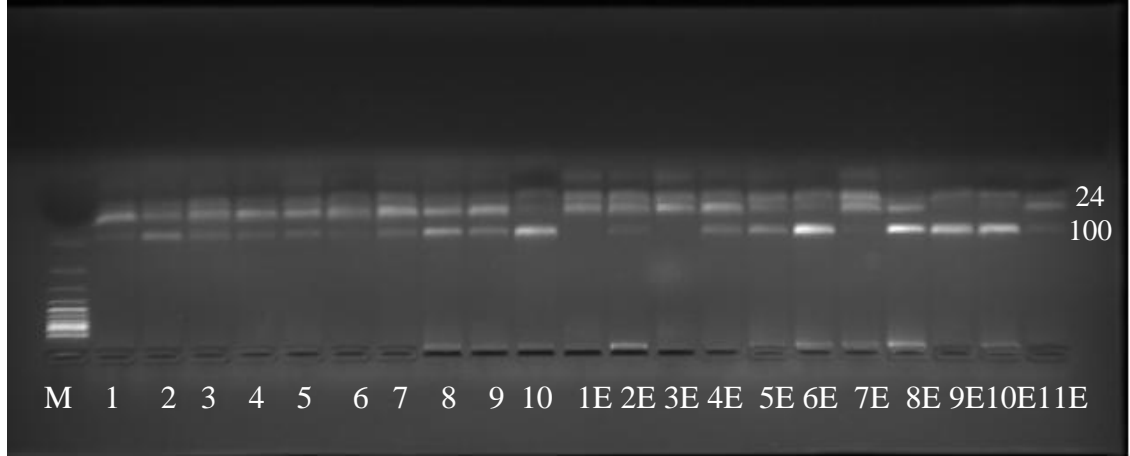
### 4.1. Myostatin Geni

Elde edilen 124 bç'lik PCR ürünlerinin *BstF5I* restriksiyon enzimi ile kesimi yapıldıktan sonra % 3,5'luk agaroz jelde örnekler yürütülmüş ve UV ışığı altında gözlenerek, fotoğraflanmıştır. Yapılan kaynak araştırmasında myostatin lokusunun bu çalışmada üzerinde durulan bölgesinde üç farklı genotip deseni (mh<sup>+/+</sup>, mh<sup>+/-</sup>, mh<sup>-/-</sup>) bulunduğu belirlenmiştir. Bu genotip desenine göre mh<sup>+/+</sup> 100 ve 24 bç'lik iki band ile, mh<sup>-/-</sup> 124 bç'lik tek band ile ve mh<sup>+/-</sup> 124, 100 ve 24 bç'lik üç band ile karakterize olmaktadır (Şekil 4.1). Bu çalışmada Siyah Alaca ve Esmer ırkından hayvanların tümünde sadece mh<sup>+/+</sup> genotipine rastlanmıştır. Yani enzim kesimi sonucunda sadece 100 ve 24 bç iki bant elde edilmiştir (Şekil 4.2). Böylece çalışılan ırklarda üzerinde durulan myostatin lokusu bakımından herhangi bir genotipik varyasyon olmadığı yani populasyonun myostatin lokusu bakımından polimorfizm göstermediği yani monomorf olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 4.1. Myostatin genine ait genotip desenleri

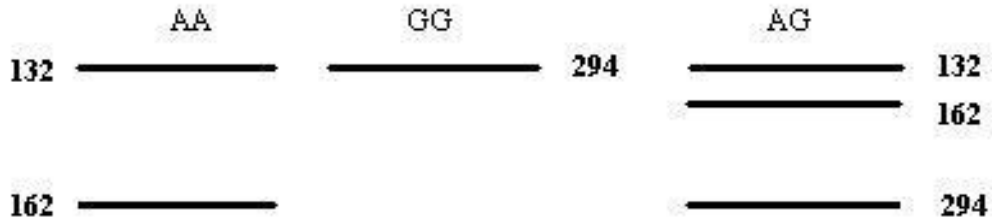




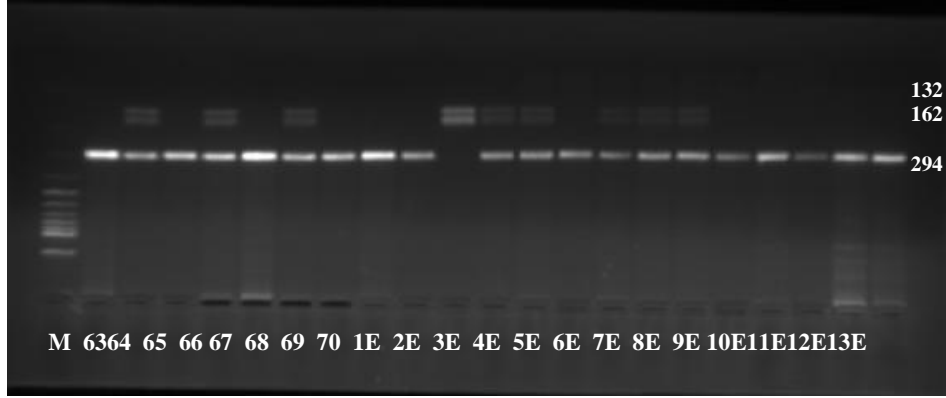
**Şekil 4.2.** *BstF5I* enzimi ile kesim sonucu elde edilen genotipler (M; Marker, 1-10 Siyah Alaca ırkı; 1E - 11E Esmer ırkı)

#### 4.2. Prolaktin Geni

Prolaktin lokusunda ise üzerinde durulan 294 bç'lik bölgenin çoğaltılması ve PCR ürününün *RsaI* enzimi ile kesimi sonucu, AA (132 bç + 162 bç), AG (132 bç + 162 bç + 294 bç) ve GG (294 bç) şeklinde üç genotip olduğu bilinmektedir (Şekil 4.3). Bu çalışmada elde edilen analiz sonuçlarına göre Siyah Alaca ırkında AG ve GG genotipleri belirlenirken, Esmer ırkında olası üç genotip de (AA, AG ve GG) saptanmıştır (Şekil 4.4). Üzerinde durulan lokus bakımından gen ve genotip frekansları Çizelge 4.1' de verilmiştir.



**Şekil 4.3.** Prolaktin geninin *RsaI* enzimi ile kesimi sonucu oluşan genotip desenleri



**Şekil 4.4.** *RsaI* enzimi ile kesim sonucu elde edilen genotipler (M; Marker, 63-70 Siyah Alaca ırkı; 1E - 13E Esmer ırkı)

Çizelgenin de incelenmesi ile anlaşılacağı gibi yapılan analiz sonucunda Siyah Alaca ırkında A allelinin frekansı 0,14 Esmer ırkında ise 0,35 olarak tahmin edilmiştir. Gözlenen ve beklenen genotipik frekansları karşılaştırıldığında ise Siyah Alaca ırkı Hardy-Weinberg dengesinde bulunurken, Esmer ırkının Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı anlaşılmıştır.

**Çizelge 4.1.** Prolaktin lokusu bakımından genotiplerin ırklara göre dağılımı, gen ve genotip frekansları ve Khi-kare değerleri

İrk	N	Genotipler <sup>a</sup>			Gen Frekansları		$\chi^2$
		AA	AG	GG	A	G	
<b>Siyah Alaca</b>	70	0 (1,372)	20 (16,856)	50 (51,772)	0,14	0,86	2,0191 Ö.D.
<b>Esmer</b>	66	1 (8,085)	44 (30,03)	21 (27,885)	0,35	0,65	14,4075**

a: Parantez içindeki rakamlar Hardy-Weinberg dengesine göre beklenen değerlerdir.  
 Ö.D : Önemli Değil    \*\* : %1 düzeyinde önemli

## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırma Siyah Alaca ve Esmer sığır ırklarında myostatin geni 3. ekzon bölgesinde 938. pozisyonundaki G→A transisyonu sonucu oluşan mutasyonu ve prolaktin genindeki *RsaI* enzimi kesimine bağlı polimorfizmleri ortaya çıkarmak amacıyla yürütülmüştür.

Bu çalışmada dünyada bazı sığır ırklarında özellikle Piedmentosa sığır ırkında myostatin geninin 3.ekzon bölgesinde meydana gelen 938. pozisyonundaki G→A transisyonu sonucunda oluşan mutasyon hem Siyah Alaca hem de Esmer ırkında saptanmış ve bütün hayvanların mh(+ / +) genotipinde olduğu ortaya konulmuştur.

Myostatin geninin 3.ekzonunda ki 938. pozisyonundaki G→A transisyonu sonucu oluşan mutasyon bazı çalışmalarda bulunurken (Stasio ve Rolando 2005) bazılarında ise tespit edilememiştir (Öz 2009, Mcpherron ve ark. 1997b). Türkiye yerli sığır ırkları ile yapılan benzer bir çalışmada da 6 ırktan (Boz Irk, Yerli Kara, Kilis Irkı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Sarı, Siyah Alaca) toplam 136 adet hayvanda 938. pozisyonda bu çalışmada olduğu gibi herhangi bir G→A transisyonu bulunmadığı belirlenmiştir (Öz 2009).

Prolaktin lokusu bakımından yapılan analiz sonuçlarına göre Esmer ırkında A ve G olmak üzere iki allel ve olası üç genotip (AA, AG ve GG) saptanırken, Siyah Alaca ırkında bu üç genotipten sadece AG ve GG genotipleri saptanmıştır.

Siyah Alaca popülasyonunda A allelinin frekansı 0,14, G allelinin frekansı ise 0,86 olarak hesaplanmış ve popülasyon Hardy- Weinberg dengesinde bulunmuştur.

70 Siyah-Alaca sığır ırkının exon 4'ü kapsayan 294 bp'lik *PRL* geni üzerinde yapılan çalışmada PCR-RFLP-*RsaI* polimorfizmi belirlenmiştir. Bu popülasyonda A-G lokusunu taşıyan kromozomların % 14'ü A ve % 86'sı G alleli olarak bulunmuştur yani A allelinin frekansı 0,14 ve G allelinin frekansı 0,86 olarak bulunmuştur. Siyah Alaca

sığırlarının genotip frekansları AA genotipi 0,0196, AG genotipi 0,2408 ve GG genotipi 0,7396 olarak bulunmuştur.

Esmer sığır ırkı populasyonunda 1 bireyde AA genotipi, 44 bireyde AG ve 21 bireyde GG genotipi olduğu görülmüştür. 66 Esmer sığır ırkının exon 4'ü kapsayan 294 bp'lik *PRL* geni üzerinde yapılan çalışmada PCR-RFLP-*RsaI* polimorfizmi belirlenmiştir. Esmer ırkı populasyonunda A-G lokusunu taşıyan kromozomların % 35'i A ve % 65'i G alleli olarak bulunmuştur yani A allelinin frekansı 0,35 ve G allelinin frekansı 0,65 olarak bulunmuştur. Esmer sığırlarının genotip frekansları AA 0,1225, AG 0,4550 ve GG 0,4225 olarak bulunmuştur. AG ve GG genotiplerinin frekansının birbirine yakın düzeyde olduğu görülmüştür.

Bu çalışmaya referans olan Brym ve ark. (2005)'de 186 Siyah Alaca ve 138 Jersey ırkından oluşan populasyonda exon 4'ü kapsayan 294 bp'lik *PRL* geni üzerinde yapılan çalışmada PCR-RFLP-*RsaI* polimorfizmi belirlemişlerdir. 186 Siyah Alaca sığır ırkında A alleli frekansının 0,113 ve G alleli frekansının 0,887 olduğunu ve 138 Jersey sığır ırkında A alleli frekansının 0,706 ve G alleli frekansının da 0,294 olduğunu gözlemişlerdir. Bu çalışmalarında AG genotipli sığırların en yüksek süt verimine sahip olduğunu, GG genotipli sığırların en yüksek yağ içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Elde edilen verileri bu çalışma ile kıyasladığımızda GG genotipi frekansı (0,7396) Siyah Alaca sığır ırkında diğer genotip frekanslarından oldukça yüksek bulunmuştur ve referans makaleye göre Siyah Alaca sığır ırklarının yüksek yağ içeriğine sahip olduğu söylenebilir. Esmer sığır ırkında ise AG genotip frekansı (0,4550) ile GG genotip frekansı (0,4225) değerleri birbirine oldukça yakın bulunmuştur.

Kaplan (2010) tarafından yapılan benzer bir çalışmada Yerli Anadolu Mandalarında ve Esmer Sığır ırklarında PCR-RFLP yöntemini kullanarak Prolaktin geni polimorfizmini belirlemişlerdir. 45 baş Anadolu Mandası ile 30 baş Esmer sığır ırkı materyal olarak kullanılmıştır. Prolaktin geni ile ilgili Yerli Anadolu mandalarında herhangi bir polimorfizme rastlamamışlardır. Bununla birlikte Esmer sığırlarda Prolaktin geniyle

ilgili polimorfizm tespit etmişlerdir. Esmer sığırlarda A allelinin frekansı 0,82 olarak belirlenirken G allelinin frekansı 0,18 olarak belirlenmiştir. Genotip frekansları ise AA genotipi için 0,63, AG genotipi için 0,37 olarak bulunmuştur. Esmer sığır ırklarında GG genotipli birey bulunamamıştır.

Alipanah ve ark. (2007b), yaptığı çalışmada 72 Rus Siyah Alaca ve 98 Kırmızı Alaca sığır ırklarında *PRL – RsaI* lokusunu belirlemişlerdir. Siyah Alaca ve Kırmızı Alaca ırklarının *PRL- RsaI* lokusu bakımından gen frekansları sırasıyla A; 0,71 ve 0,78 ve G; 0,29 ve 0,21 bulunmuştur. Prolaktin geninde A ve G alleli frekansı açısından fark bulunmamıştır. *PRL – RsaI* ve süt verimi ve süt yağı yüzdesi arasındaki önemli ilişkiler her ikisi içinde aynı gözlenmiştir.

Dybus ve ark. (2005), yaptığı çalışmada Prolaktin geni ekzon 3 *RsaI* polimorfizminin toplam 427 Siyah Alaca ve Jersey ineklerin süt verimleriyle ilişkilendirildiği çalışmada Siyah Alaca ve Jersey ırklarının genotip frekansları sırasıyla AA (0,7107 - 0,0919), AG (0,2851 - 0,4324) ve GG (0,0042 - 0,4757) olarak hesaplanmış ve ırklara göre gen frekansları ise sırasıyla A (0,8533 - 0,3081) ve G (0,1467 - 0,6919) olarak hesaplanmıştır. Çalışmada ırklar arasındaki genotip ve allel frekansları farklı bulunmuştur. İncelenen ırklarda tespit edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler önemsiz olarak bildirilmiştir.

Sonuç olarak çift kaslılık fenotipini en az 6 farklı mutasyon etkilemektedir. Bu mutasyonlardan 3. ekzon içinde yer alan nt938 (G→A) mutasyonu bu tez çalışmasında tespit edilmiştir. Çift kaslılığı etkileyen diğer mutasyonların ( 3 ekzon bölgesinde nt821 (del11), nt874(G→T) ve 2 ekzon bölgesinde nt419 (del7-ins10), nt610 (C→T), nt676 (G→T)) kültür ırkları içerisinde daha detaylı araştırılması faydalı olabilir. Ayrıca bu ırklarla çift kaslılık görülen Piedmentosa gibi ırkların melezlenmesi çalışmaları yapılarak et verimleri açısından daha fazla verim elde etmek mümkün olacaktır.

Prolaktin geni için ise AG genotipli sığırların en yüksek süt verimine sahip olduğu, GG genotipli sığırların en yüksek yağ içeriğine sahip olduğu bulunan mevcut literatür çalışmaları göz önüne alınarak kullanılan materyallerin verim kayıtları ile bulunan

sonuçlar kontrol edilerek frekansı yüksek bulunan hayvanlara damızlık olarak daha çok şans tanınabilir. Ayrıca bu sığır ırkları için prolaktin geni bakımından süt ve yağ verimini etkileyen diğer bölgelerin daha detaylı araştırılması ve verim kayıtları ile birlikte karşılaştırılması yarar sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akyüz, B., Ağaoğlu, O.K., Ertuğrul, O. 2012.** Genetic **polymorphism** of kappa-casein, growth hormone and **prolactin** genes in Turkish native cattle breeds. *International Journal of Dairy Technology*, 65 : 38-44.
- Alipanah, M., Kalashnikova, L., Rodionov, G. 2007a.** Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5, 3.
- Alipanah, M., Kalashnikova, L.A., Rodinov, G.V. 2007b.** Polymorphism prolactin loci in Russian cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6 (6): 813-815.
- Anonim, 2012a.** Myostatin gen şekli 3 ekzon 2 intron. <http://atensembl.arabidopsis.info/index.html> (Erişim tarihi: 26.05.2012).
- Anonim, 2012b.** Myostatin geninin negatif düzenleyici etkisinin kaldırılması aşamaları. <http://drugline.org/medic/term/myostatin/> (Erişim tarihi: 26.05.2012).
- Anonim, 2012c.** Belçika mavisı sığır ırkı. <http://eliteimpactlabs.com/articles/myostatin-inhibitor-do-myostatin-blockers-work> (Erişim tarihi: 13.04.2012).
- Anonim, 2012d.** Piedmontese sığır ırkı. <http://gullivestockllc.com/piedmontese-2.html> (Erişim tarihi: 13.04.2012).
- Anonim, 2012e.** Myostatin geninde meydana gelen mutasyonla birlikte etin yağ oranında meydana gelen değişiklik. <http://lakefarm.co.nz/why-piedmontese-are-so-unique/> (Erişim tarihi: 13.04.2012).
- Anonim, 2012f.** Abartılı kas gelişimi. <http://www.belcikamavisı.com/?pnum=7&pt=BE LÇİKA%20MAVİSİNİN%20İRK%20ÖZELLİKLERİ> (Erişim tarihi: 13.04.2012).
- Arık, M. 2012.** Kırmızı et üretimi ve tüketimi. [http://www.infovetdergi.com/et\\_uretimi\\_visad.html](http://www.infovetdergi.com/et_uretimi_visad.html) (Erişim tarihi: 26.05.2012).
- Arthur, P.F., Makarechian M. & Price M.A. (1988).** Incidence of dystocia and perinatal calf mortality resulting from reciprocal crossing of double-muscled and normal cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 29, 163–7.
- Arthur, P. F., Makarechian, M., Price, M. A., Berg, R.T. 1989.** Heterosis, maternal and direct effects in double-muscled and normal cattle: I. Reproduction and growth traits. *Journal of Animal Science*, 67, 902-10.
- Arthur, P.F. 1995.** Double muscling in cattle: a review. *Aust. J. Agric*, 46: 1493-1515.
- Ayala, F.J., Kiger, J.A. 1980.** *Modern Genetics*. The Benjamin/ Cummings Publishing Company. Menlo Park, California.
- Bellinge, R.H.S., Liberles, D.A., Laschi, S.P.A., Brien, O., Tay, G.K. 2004.** Myostatin and its implications on animal breeding: a review; *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 36:1-6.
- Ben-Jonathan, N., Mershon, J.L., Allen, D.I., Steinmetz, R.W. 1996.** Extrahypothalamic Prolactin: Distribution, Regulation, Functions, And Clinical Aspects. *Endocr. Rev.*, 17: 639-669.
- Boccard, R., Dumont, B.L. 1974.** Conséquences de l'hypertrophie musculaire héréditaire des bovins sur la musculature. *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 6:177-186.
- Bole-Feysot, C., Goffin, V., Edery, M., Binart, N., Kelly, P.A. 1998.** Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev*, 19:225–268.
- Brym, P., Kaminski, S., Wojcik, E. 2005.** Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. *J. Appl. Genet.*, 45:179–185.

- Camper, S.A., Luck, D.N., Yao, Y., Woychik, R.P., Goodwin, R.G., Lyons, R.H., Rottman, F.M. 1984.** Characterization of The Bovine Prolactin Gene. *Dna* 3 :237-249.
- Charlier, C., Coppeters, W., Farnir, F., Grobet, L., Leroy, P., Michaux, C., Mni, M., Schwers, A., Vanmanshoven, P., Hanset, R., Georges, M. 1995.** The mh gene causing double-muscling in cattle maps to bovine Chromosome 2. *Mamm. Genome*, 6 788\_792.
- Chung, E.R., Rhim, T.J., Han, S.K. 1996.** Associations between PCR-RFLP markers of growth hormone and prolactin genes and production traits in dairy cattle. *Korean J. Anim. Sci.*, 38: 321-336.
- Citek, J., Rehout, V., Neubauerova, V. 2001.** Allele frequency at PRL (prolactin) and LGB (lactoglobulin beta) genes in Red cattle breeds from Central Europe and in other breeds. *Czech J. Anim. Sci.*, 46(10):433-438.
- Culley, G. 1807.** Observations on Livestock. 4th Edn. G. Woodfall: London.
- Doğrul, F. 1985.** Çeşitli koyun ırklarında transferin ve hemoglobin tiplerinin dağılımı üzerinde araştırma. *Etlik vet. Mikrob. Enst. Derg.*, 5:61-75.
- Dumont, B.L. 1982.** Hygiene et technologie de la viande fraiche. Editions du centre nationale de la recherche scientifique.5 quai. Anatole France, 75700 Paris, 33-57.
- Dunner, S., Miranda, M.E., Amigues, Y., Canon, J., Georges, M., Hanset, R., Williams, J., Ménéssier, F. 2003.** Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.*, 35 :103-118.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F. 1983.** İstatistik Metodları (I). A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 861. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Dvorak, J., Filistowicz, A., Hruska, D., Horák, P., Vrtková, I., Kúbek, A., Szulc, T., Pomichal, S. 2002.** The polymorphism of MSTN, PRNP and CSN3 genes in Charolais cattle. *Anim. Sci. Reps.*, 20:19-23.
- Dybus, A. 2002.** Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 20:203\_212.
- Dybus, A., Grzesiak, W., Kamieniecki, H., Szatkowska, I., Sobek, Z., Blaszczyk, P., Czerniawska-Piatkowska, E., Zych, S. Muszynska, M. 2005.** Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black and White and Jersey cattle. *Archives of Anim. Breed.*, 48 (2):149-156.
- Elmacı, C., Öner, Y. 2007.** Et sığırcılığında moleküler genetik yaklaşımlar. *Hayvansal Üretim*, 48(2): 45-48.
- Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., Nagy, G. 2000.** Prolactin: Struct Function, and Regulation of Secretion. *Physiological Reviews*, 80.
- Gerrard, D.E., Thrasher, K.H., Grant, A.L., Lemenager, R.P., Judge, M.D. 1991.** Serum-induced myoblast proliferation and gene expression during development of double muscled and normal cattle. *Journal of Animal Science*, 69, 317.
- Ghasemi, N., Zadehrahmani, M., Rahimi, G., Hafezian, S.H. 2009.** Associations between prolactin gene polymorphism and milk production in montebeliard cows. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 1 (3):048-051.
- Grisolia, A.B., Angelo, G.T., Porto, Neto, L.R., Siqueira, F., Garcia, J.F. 2009.** Myostatin (GDF8) single nucleotide polymorphisms in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, 8 (3):822-830.
- Grobet, L., Martin, L.J., Poncelet, D. 1997.** A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscled phenotype in cattle. *Nature Genetics*, 17:71-4.



- Grobet, L., Poncelet, D., Royo, L.J., Brouwers, B., Pirottin, D., Michaux, C., Menissier, F., Zanotti, M., Dunner, S. Georges, M. 1998.** Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double muscling in cattle. *Mammalian Genome*, 9:210–213.
- Hallerman, E.M., Theilmann, J.L., Beckmann, J.S., Soller, M., Womack, J.E. 1988.** Mapping of bovine prolactin and rhodopsin genes in hybrid somatic cells. *Anim. Genet.*, 19: 123–131.
- Hanset, R. 1991.** In breeding for disease resistance in farm animals, ed. Owen, J. B. (CAB International, Wallingford, U.K.), 467-478.
- Hocquette, J.F., Bas, P., Bauchart, D., Vermorel, M., Geay, Y. 1999.** Fat partitioning and biochemical characteristics of fatty tissues in relation to plasma metabolites and hormones in normal and double-muscling young growing bulls. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part A. Molecular and Integrative Physiology*, 122, 127–38.
- Horseman, N.D., Zhao, W., Montecino-Rodriguez, E., Tanaka, M., Nakashima, K., Engle, S.J. 1997.** Defective mammatopoiesis, but normal hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene. *EMBO J.*, 16: 6926–6935.
- Kaiser, 1888.** Über die sogenannten doppellendigen. Rinderrassenerhebung *Landwirtschaftliche Jahrbuch*, 17: 387-403.
- Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T.P., Bass, J.J. 1997.** Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Research*, 7: 910–6.
- Kaplan, S. 2010.** Yerli Anadolu mandalarında ve Esmir sığırlarında PCR-RFLP yöntemi ile prolaktin geni polimorfizminin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, KONYA.
- Karim, L., Coppeters, W., Grobet, L., Valentini, A., Georges, M. 2000.** Convenient genotyping of six myostatin mutations causing doublemuscling in cattle using a multiplex oligonucleotide ligation assay. *Animal Genetics*, 31: 396-399.
- Kaymakçı, M. 2006.** Üreme Biyolojisi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın no 503, Ders Kitabı: 263, 41s.
- Kelly, P.A., Djiane, J., Postel-Vinay, M.C., Edery, M. 1991.** The Prolactin/Growth Hormone Receptor Family. *Endocr. Rev.*, 12:235- 251.
- Kepenek, E.Ş. 2007.** Prl (prolactin), dgat1 (diacylglycerol acyltransferase-1) ve slc35a3 (bovine solute carrier family 35 member 3) genlerinin polimorfiziminin yerli sığır ırklarında incelenmesi ve Türk sığır ırklarının ıslahında uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi. O.D.T.Ü. Biyoloji Bölümü. ANKARA.
- Khatami, S.R., Lazebny, O.E., maksimenko, V.F., Sulimova, G.E. 2005.** Association of DNA polymorphisms of the growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black and White cattle. *Russian J. of Genetics*, 41 (2):167-173.
- Kieffer, K.M., Cartwright, T.C. 1980.** Double Muscling in Cattle, Technical Report No. B-1325. The Texas A&M University System, College Station, TX.
- Kronacher, C. 1934.** Genetik und Tierzuchtung. In (Eds E. Baur and M. Hartmann) *Handbuch der Vererbungswissenschaft*, 3:139.
- Leprovost, F., Leroux, C., Martin, P., Gaye, P., Dijane, J. 1994.** Prolactin gene expression in ovine and caprine mammary gland. *Neuroendocrinology*, 60:305- 313.

- Lewin, H. A., Schmitt, K., Hubert, R., Van Eijk, M. J., Arnheim, N. 1992.** Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics*, 13, 44-48.
- Li, J.T., Wang, A.H., Chen, P., Li, H.B., Zhang, C.S., Du, L.X. 2006.** Relationship between the polymorphisms of 5' regulation region of prolactin gene and milk traits in Chinese Holstein dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19 (4) : 459-462.
- Liron, J.P., Ripoli, M.V., De Luca, J.C., Peral- Garcia, P., Giovambattista, G. 2002.** Analysis of genetic diversity and population structure in Argentine and Bolivian Creole cattle using five loci related to milk production. *Genetics and Molecular Biology*, 25: 413-419.
- Loretz, C.A., Bern, H.A. 1982.** Prolactin and osmoregulation in vertebrates. *Neuroendocrinology*, 35: 292-304.
- Mahajan, V., Parmar, S.N.S., Thakur, M.S., Vaishali, G.S., Patel, M. 2012.** Prolactin gene polymorphism and its association with milk production in Malvi, Nimari and Frieswal cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*, 82 (4):388-391.
- Mcpherron, A.C., Lawler, A.M., Lee, S.J. 1997a.** Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- $\beta$  superfamily member. *Nature*, 387 : 83-90.
- Mcpherron, A.C., Lee, S.J. 1997b.** Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:12457-12461.
- Menissier, F. 1982a.** General survey of the effect of double muscling on cattle performance. In: muscle hypertrophy of genetic origin and its use to improve beef production (Ed. by J.W.B. King, F. Menissier). Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, 23-53.
- Menissier, F. 1982b.** Present state of knowledge about the genetic determination of muscular hypertrophy or the double muscled trait in cattle. In: muscle hypertrophy of genetic origin and its use to improve beef production (Ed. by J.W.B. King & F. Menissier), pp. 387-428. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague.
- Miceikiene, I., Peciulaitiene, N., Baltrenaite, I., Skinkyte, R., Indriulyte, R. 2006.** Association of cattle genetic markers with performance traits. *Biologija*, 1:24-29.
- Michaux, C., Van Sicheem-Reynaert, C.R. 1982.** Endocrinological studies on double muscled cattle: LH, GH, testosterone and insulin plasma levels during the first year of life. In: Muscle Hypertrophy of Genetic Origin and its Use to Improve Beef Production (Ed. by J.W.B. King, F. Menissier), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, 350-67.
- Miranda, M.E., Ménissier, F., Cañon, J., Vallejo, M., Boscher, M.Y., Dunner, S. 2002.** Myostatin gene polymorphism and double muscling expression in cattle breeds preliminary results. *Exploitation of Molecular Information in Animal Breeding*, 22-14.
- Mitra, A., Schlee, P., Balakrishnan, C.R., Pirchner, F. 1995.** Polymorphism at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 112: 71-74.
- Murai, I., Ben-Jonathan, N. 1987.** Posterior Pituitary Lobectomy Abolishes The Suckling-Induced Rise In Prolactin. (PRL): Evidence For A PRL Releasing Factor In The Posterior Pituitary. *Endocrinol*, 121: 205-211.
- Nei, M. 1987.** *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Nicoll, C.S., 1980.** Ontogeny and evolution of prolactin's functions. *FASEB J.*, 39:2563-2566.

- Ogden, A.L., 1961.** Biochemical Polymorphism in Farm Animals. *Animal Breeding*, 26 (2): 127- 137.
- Öner, Y., Elmaci, C. 2007.** Keçilerde süt proteinleri polimorfizmi. *Hayvansal Üretim*, 48 (2): 49-54.
- Öz, A. 2009.** Yerli sığır ırklarında myostatin gen polimorfizminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, ADANA.
- Özcan, N., Öz, A., Özcan, B.D. 2009.** Yerli Sığır Irklarında Myostatin Genine Ait III.Ekzon Bölgesinin G→T Polimorfizmi Bakımından Karşılaştırılması. 6.Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, 79- 84, ERZURUM.
- Öztabak, K., Ün, C., Tesfaye, D., Akıs, I., Mengi, A. 2008.** Genetic polymorphisms of osteopontin (OPN), prolactin (PRL) and pituitary-specific transcript factor-1 (PIT-1) in South Anatolian and East Anatolian Red cattle. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 58: 109\_112.
- Passarge, E. 2000.** Renkli Genetik Atlası. Nobel Kitabevi. 156- 158.
- Plaut, K., Bauman, D.E., Agerguard, N., Akers, R.M. 1987.** Effect of exogenous prolactin administration on lactational performance of dairy cows. *Domestic Anim. Endocrinol*, 4: 279-290.
- Rocha, L.J., Baker, J.F., Womack, J.E., Sanders, J.O., Taylor, J.F. 1991.** Statistical Associations Between Restriction Fragment Length Polymorphisms and Quantitative Traits in Beef Cattle. *J. Animal Science*, 70:3360-3370.
- Rollins, W.C., Tanaka, M., Nott, C.F.G., Thiessen, R.B. 1972.** On the mode of inheritance of double-musled conformation in bovines. *Hilgardia*, 41:433–55.
- Roth, M.S. 2007.** Genetics Primer for Exercise Science and Health. 124-127.
- Russell, D.H. 1989.** New aspects of prolactin and immunity: a lymphocyte-derived prolactin like product and nuclear protein kinase C activation. *Trends in Farmacological Science*, 10 : 40-44.
- Sacravarty, G., Vadodaria, V.P., Joshi, C.G., Brahmkhtri, B.P., Shah, R.R., Solanki, J.V. 2008.** Prolactin gene polymorphism and its association with economic traits in Kankerj cattle. *Indian J. Dairy Sci.*, 61(4):273–276.
- Shahin, K.A., Berg, R.T. 1985.** Growth patterns of muscle, fat and bone, and carcass composition of double musled and normal cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 65:279–93.
- Shibata, M., Ohshima, K., Kojima, T., Muramoto, T., Matsumoto, K., Komatsu, M., Aikawa, K., Fujimura, S., Kadowaki, M., 2003.** Nucleotide Sequence of Myostatin Gene and Its Developmental Expression in Skeletal Muscles of Japanese Black cattle. *Animal Science Journal*, 74: 383-390.
- Sifuentes-Rincón, A.M., Puentes-Montiel, H.E., Moreno-Medina, V.R., Rosa-Reyna, X.F. 2006.** Short Communication: Assessment of the myostatin Q204X allele using an allelic discrimination assay. *Genetics and Molecular Biology*, 29: (3) 496-497.
- Sifuentes-Rincón, A.M., Puentes-Montiel, H.E., Moreno-Medina, V.R., Rosa-Reyna, X.F., Rosales-Alday, J. 2007.** Frequency of the myostatin Q204X allele in Charolais breed beefcattle from northeast Mexico. *Téc Pecú Méx*, 45(1):85-92.
- Sinha, Y.N. 1995.** Structural Variants Of Prolactin: Occurrence And Physiological Significance. *Endocrine Rev*, 16: 354-369.
- Smith, J.A., Lewis, A.M., Wiener, P., Williams, J.L. 2000.** Genetic variation in the bovine myostatin gene in UK beef cattle: Allele frequencies and haplotype analysis in the South Devon. *Animal Genetics*, 31:306–309.

- Sodhi, M., Mukesh, M., Mishra, B.P., Parvesh, K. 2011.** Analysis of Genetic Variation at the Prolactin-*Rsal*(PRL-*Rsal*) Locus in Indian Native Cattle Breeds (*Bos indicus*), *Biochem. Genet.*, 49:39–45.
- Sõpena Quesada, A., Blanco Cachafeiro, M.E. 1971.** Reproduction dela femmelle culardeen race Asturienne. In 22 em" Réunion annuelle, Fédératiön Européenne de Zootechnie, Paris-Versailles, July 1971, *Annalesde Génétique et de Sélection Animale*, 4:13.
- Soysal, M. İ. 1983.** Atatürk Üniversitesi Koyun Populasyonunun Bazı Kalıtsal Polimorfik Kan Proteinleri Bakımından Genetik Yapısı ve Bu Biyokimyasal Karakteristikler ile Çeşitli Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Erzurum.
- Stasio, L.D., Rolando, A. 2005.** A PCR-RFLP method for genotyping the myostatin locus in Piemontese cattle. *International Society for Animal Genetics*, 36:511–542.
- Strath, R.A., Thompson, J.R. 1981.** Reproduction in cattle displaying muscular hypertrophy, 60th annual feeders day report. Department of Animal Science, University of Alberta, Canada.
- Swatland, H.J., Kieffer, N.M. 1974.** Fetal development of the double muscled condition in cattle. *Journal of Animal Science*, 38:752–7.
- Switonski, M. 2002.** Molecular genetics in beef cattle a review. *Animal Sciences Papers and Reports*, 20 (1): 7–18.
- Udina, I.G. 2001a.** Polymorphism of Bovine Prolactin Gene: Microsatellites, PCR-RFLP. *Russian Journal of Genetics*, 37(4): 407-411.
- Udina, I.G., Turkova, S.O., Kostiuhenko, M.V., Lebedeva, L.A., Sulimova, G.E. 2001b.** Polymorphism of cattle prolactin gene: microsatellites, PCR-RFLP. *Genetika*, 37(4):511-6.
- Uytterhaegen, L., Claeys, E., Demeyer, D. 1994.** Effects of exogenous protease effectors on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility. *Journal of Animal Science*, 72: 1209–23.
- Vaiman, D. 1999.** The molecular genetics of cattle. In: *The genetics of cattle* (Eds: R.Fries and A. Ruvinski), CAB International.
- Vissac, B. 1968.** Etude du caractère culard. 11. Indicence du caractère culard sur la morphologie générale des bovins. *Annales de Zootechnie*, 17:77-101.
- Wallis, M. 1974.** The Primary Structure of Bovine Prolactin. *Fed. Euro. Biochem. Soc. Lett.*, 44: 205-208.
- Webb, E.C., De Smet, S., Van Nevel, C., Martens, B., Demeyer, D.I. 1998.** Effect of anatomical location on the composition of fatty acids in double-muscled Belgian Blue cows. *Meat Science*, 50, 45– 53.
- West, R.L. 1974.** Red to white fibre ratios as an index of double muscling in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 38:1165-75.
- Wiener, P., Smith, J.A., Lewis, A.M., Woolliams, J.A., Williams, J.L. 2002.** Muscle-related traits in cattle: the role of the myostatin gene in the South Devon breed. *Genetics Selection Evolution*, 34:221–32.
- Wiener, P., Woolliams, J.A., Frank-Lawale, A., Ryan, M., Richardson, R.I., Nute, G.R., Wood, J.D., Homer, D., Williams, J.L. 2009.** The effects of a mutation in the myostatin gene on meat and carcass quality. *Meat Science*, 83:127–134.
- Wriedt, C. 1929.** Die Vererbung des Doppellender-Kharacters die Rindern. *Zeitschrift fuer Induktive Abstammungs und Vererbungslehre*, 51:482-6.

**Zhang, R.F., Chen, H., Zhang, Z.F., Zhang, H.J., Yan, L.J., Bao, B. 2006.** Genetic variation of myostatin promoter in Nanyang cattle and yak. *Asian Network for Biotechnology in Animal Production and Health*, 10: 60-362.

**Zhou, G., Zhu, Q., Wu, Y., Jin, H. 2006.** Polymorphism of PRL gene and its relationship with milk production traits in cows. *J. J. Agric. Univ.*, 28 (1):80-83.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şule ŞAHİN  
Doğum Yeri ve Tarihi : KONYA 13.07.1985  
Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurumu ve Yılı)

Lise : Safranbolu Anadolu lisesi ( 1999-2003)

Lisans : Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi  
Ziraat Mühendisliği Zootekni  
(2004-2009)

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı (2009-2012)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : -

İletişim (e-posta) : sulesahin.zoo@gmail.com

Yayımları :

Karayaka, M.B., Şahin, Ş., Öner, Y., Keskin, A., Elmacı, C. (2008). Bursa Bölgesinde Yetiştirilen Siyah Alaca Sığırlarda Kalıtsal Faktör XI ve BLAD Hastalıklarının PCR-Tabanlı Yöntemler Kullanılarak Belirlenmesi. 4. Ulusal Öğrenci Kongresi, 353 pp. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 15-17 Mayıs 2008, Samsun.