

Türkiye’de Yetiştirilen Holştayn Irkı Sığırlarda GHRH ve PRL Gen Polimorfizimleri ile Süt Verimi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Murat AKKAYA¹, Bilal AKYÜZ²

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Kayseri, ²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Kayseri

¹<https://orcid.org/0000-0001-8354-6516>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7548-9830>

✉: bakyuz@erciyes.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye’de yetiştirilen Holştayn ırkı sütçü sığırlarda büyüme hormonu salgılatıcı hormon (*GHRH*) ve prolaktin hormonu (*PRL*) genleri ile 305 günlük süt verimleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 150 baş sağmal Holştayn inek kullanılmıştır. *GHRH* genotiplerinin belirlenmesinde amacıyla yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen PCR ürünleri *HaeIII* enzimiyle, *PRL* genotiplerinin belirlenmesinde amacıyla yapılan PCR işlemi sonunda elde edilen PCR ürünleri ise *RsaI* enzimi ile kesilmiştir. *GHRH* ve *PRL* genotipleri ile günlük ve laktasyon süt verimleri arasındaki ilişki varyans analizi ile değerlendirilmiştir. *GHRH-HaeIII* polimorfizmi yönünden incelenen örneklerinde iki allel (A ve B) ile üç genotip (AA, AB ve BB) gözlenmiş, B allel frekansının (0.68), A allel frekansından (0.32) yüksek olduğu görülmüştür. *PRL-RsaI* polimorfizmi yönünden incelenen ineklerde iki allel (A ve B) ile üç genotip (AA, AB ve BB) gözlenmiştir. A allel frekansı 0.86, B allel frekansı ise 0.14 olarak bulunmuştur. Çalışma sonunda incelenen Holştayn ineklerde *GHRH-HaeIII* ve *PRL-RsaI* polimorfizimleri ile 305 günlük süt verimleri arasında istatistiksel olarak önemli ilişki olmadığı belirlenmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 22.02.2019

Kabul Tarihi : 18.04.2019

Anahtar Kelimeler

Holştayn

GHRH

PRL

RFLP

Süt verimi

Investigation of the Relationship between GHRH and PRL Genes Polymorphisms and Milk Yield in Holstein Cattle Breed Reared in Turkey

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the relationship between growth hormone, releasing hormone (*GHRH*) and prolactin hormone (*PRL*) genes polymorphisms and 305-day milk yield in Hostein dairy cattle reared in Turkey. Overall, 150 Hostein dairy cows was used for the study. In order to determine *GHRH* genotypes, obtained PCR products were restricted via *HaeIII* enzyme and to determine *PRL* genotypes, obtained PCR products were restricted via *RsaI* enzyme. The mean differences of 305-day milk yield among the genotype groups of *GHRH* and *PRL* genes were assessed by analysis of variance (ANOVA). Two alleles (A and B) and three genotypes (AA, AB and BB) for *GHRH-HaeIII* polymorphism were observed in examined Hostein cows. The frequency of the A and B alleles was found to be 0.32 and 0.68, respectively in examined Hostein cows. Two alleles (A and B) and three genotypes (AA, AB and BB) for *PRL-RsaI* polymorphism were observed. The frequency of the A and B alleles was found to be 0.86 and 0.14, respectively. Finally, *GHRH-HaeIII* and *PRL-RsaI* genotype effects on daily and lactation milk yield was not found to be significant in examined animals.

Research Article

Article History

Received : 22.02.2019

Accepted : 18.04.2019

Keywords

Hostein

Milk yield

GHRH

PRL

RFLP

To Cite : Akkaya M, Akyüz B 2019. Türkiye’de Yetiştirilen Holştayn Irkı Sığırlarda *GHRH* ve *PRL* Gen Polimorfizimleri ile Süt Verimi Arasındaki İlişkinin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(5): 763-771. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.530786.

GİRİŞ

Yüksek süt verimi ve kısa buzağılama aralığı, süt sığırlar işletmelerinin karlılığını artırmada oldukça önemlidir. Süt verimi, ortaya çıkmasında çevre etkisinin de önemli katkısı olan, düşük kalıtım derecesine sahip, poligenik kalıtım şekli gösteren kantitatif bir özelliktir. Dolayısıyla süt verimi için klasik seleksiyon yöntemleri ile hedeflenen genetik ilerlemenin elde edilmesi oldukça uzun ve masraflı çalışma gerektirmektedir. Bu tür özelliklerin ıslahında klasik seleksiyon yöntemlerinin uygulanmasından kaynaklanan sorunların aşılmasında moleküler markırlar yeni bir bakış açısı sunmaktadır (Erhardt ve Weimann, 2007). Küçük etkili birçok genin rol oynadığı kantitatif özelliklerin ortaya çıkmasında major etkili, basit Mendel kalıtım şekli izleyen ve kantitatif özelliklerin ıslahında kullanılabilmesi düşünülen bazı genler belirlenmiştir (Cemal ve Karaca, 2006). Çiftlik hayvanlarında “markır gen” olarak adlandırılan ve incelenen fenotiplerle ilişkisi ortaya konulan bazı genlerin, önemli verim özellikleri, sağlık ve refah özelliklerinin iyileştirilmesi çalışmalarında başarının artırılabilmesi düşünülmektedir.

Sığırlarda, süt verimi üzerine etkili olduğu bildirilen birçok aday genin bulunduğu rapor edilmiştir (Jiang ve ark., 2010). Süt verimini iyileştirilmesi çalışmalarında en çok incelenen genler kapa-kazein ve beta-laktoglobulin gibi süt proteinlerini kodlayan genler olmuştur (Parmentier ve ark., 1999). Bunlardan sonra en çok ilgilenilen genler ise büyüme hormonu (GH) ve hipoz bezi transkripsiyon faktörü 1 (PIT1) gibi somatotropik aksiste bulunan hormon genleri olmuştur (Dybus ve ark., 2003; Dybus ve ark., 2005). Hipotalamik bir hormon olan büyüme hormonu salgılatıcı hormon (Growth Hormone Releasing Hormone, GHRH) büyüme hormonunun sentezinde, salgılanmasında ve hormonun etkilediği dokularda ki reseptörlere bağlanmasında görev almaktadır (Frohman ve ark., 1992). İlk olarak Baile ve Buonomo (1987) tarafından GHRH hormon uygulanmasının, meme bezi hücrelerinin metabolik aktivitesini arttırdığı ve dolayısıyla bu hormonla artan süt verimi arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir. Daha sonra sığırlarda, serum GHRH seviyesindeki artış ile süt verimindeki artış arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Løvendahl ve ark., 1991). Bu özellikleri nedeniyle GHRH’nu kodlayan genin süt verim özellikleri için bir aday gen olabileceği düşünülmüştür (Czerniawska-Piatkowska ve ark., 2011).

Hipofiz bezinden salgılanan, polipeptit yapıda bir hormon olan prolaktin (PRL) hormonunun meme büyümesi ve memenin gelişimi, süt üretimi, süt salınımının ve laktasyonun sürdürülmesi de dahil belirlenmiş 100’den fazla farklı fizyolojik sürece katkısının olduğu gösterilmiştir (Dybus ve ark.,

2005). Ayrıca PRL laktöz, lipitler ve diğer tüm ana süt bileşenlerinin sentezinde de görev aldığı gösterilmiştir (Miltiadou ve ark., 2017). Bu nedenle, PRL’yi kodlayan gen, süt verimi ve süt kompozisyon özellikleri için fonksiyonel bir aday gen olarak kabul edilmektedir (Patel ve Chauhan, 2017). Bu bilgiyi destekler şekilde yüksek süt verimine sahip sütçü ineklerde *PRL* geninin ekspresyon seviyesinin de yüksek olduğu bildirilmiştir (Yıldırım ve ark., 2018).

Yapılan literatür taramalarında, Türkiye’de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *GHRH* genotiplerinin ve bu genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Tüm dünyada en yaygın yetiştiriciliği yapılan ve en yüksek süt verimine sahip olması nedeniyle (Kaygısız ve ark., 2017), bu çalışmada Holştayn ırkına ait sütçü sığırlarda somatotropik aksiste bulunan *PRL* ve *GHRH* hormonlarını kodlayan genlerde bulunan *PRL-RsaI* ve *GHRH-HaeIII* polimorfizmleri ile 305 günlük süt verimleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Hayvan Materyali

Çalışmada Erciyes Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı’nın 14.06.2017 tarih 17/056 karar numarası ile UYGUNDUR raporu alınan, hepsi üçüncü laktasyonda olan 150 baş Holştayn ırkı dişi sığır incelenmiştir. Genetik analizler için gerekli DNA’lar çalışma materyali sığırlardan alınan kan örneklerinden fenol:kloroform (Sambrook ve ark., 1989) yöntemi ile elde edilmiştir.

PCR-RFLP İşlemi

İncelenen hayvanlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizmlerinin belirlenmesi için yapılacak PCR işleminde, Gen-Bank aksesyon numarası: AF242855 olan ve ileri (forward): 5’ GTA AGG ATG GCT CTG CCA GGT 3’; geri (reverse): 5’ TGC ATG ATG CTG TCC CTC TGG A 3’ olacak şekilde bir primer seti kullanılmıştır. PCR işlemi; 94 °C’de 5 dakika tutulduktan sonra 94 °C’de 1 dakika, 60 °C’de 1 dakika, 72 °C’de 1 dakika olacak şekilde 30 döngü olarak yapılmıştır. PCR işlemi son döngüyü takiben, tüpler 72 °C’de 5 dakika tutularak sonlandırılmıştır. PCR işlemi sonunda elde edilen 451 bp’lik PCR ürünleri *HaeIII* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Enzim kesim işlemi 37 °C’lik etüvde 4.5 saat bekletilerek yapılmıştır. Süre sonunda enzim inaktivasyonu için tüpler 65 °C’de 20 dakika tutulmuştur. İncelenen bireylerin *GHRH-HaeIII* polimorfizmi yönünden genotiplerinin belirlenmesi için %2’lik agaroz jel elektroforezi yapılmıştır

PRL-RsaI polimorfizmi yönünden incelenen

hayvanların genotiplenmeleri için yapılan PCR işleminde GenBank Aksesyon numarası DQ287249.1 olan ve ileri: 5' CGA GTC CTT ATG AGC TTG ATT CTT 3'; geri: 5' GCC TTC CAG AAG TCG TTT GTT TTC 3' olan bir primer seti kullanılmıştır. PCR işleminin; 94 °C'de 2 dakika tutulduktan sonra 94 °C'de 45 saniye, 60 °C'de 45 saniye, 72 °C'de 1 dakika olacak şekilde 35 döngü yapılmıştır. Son döngüyü takiben 72 °C'de 5 dakika tutularak PCR işlemi bitirilmiştir. PCR işlemi sonunda elde edilen 156 bp uzunluğundaki PCR ürünleri *RsaI* enzim kesimi için 37 °C'de 4.5 saat tutulmuştur. Enzimin inaktive olması için tüpler 80 °C'de 20 dakika tutulmuştur. İncelenen bireylerin *PRL-RsaI* polimorfizmi yönünden genotipleri %3'lük agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir.

İstatistik Analizler

İncelenen örneklerin *GHRH-HaeIII* ve *PLR-RsaI* polimorfizimleri yönünden allel, genotip frekansları ile Ki-kare analizleri, ücretsiz online hesaplama yapan "http://www.oege.org/software/hwe-mrca1.shtml" adresinde hesaplanmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Q-Q plot, histogram ve Kolmogorov Smirnov testiyle değerlendirilmiştir. *GHRH-HaeIII* ve *PLR-RsaI* polimorfizimleri yönünden belirlenen genotipler ile süt verimi arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önem kontrolü Tek Yönlü Varyans Analizi ile yapılmıştır. Süt verimlerinin tanımlayıcı istatistikleri ortalama ve standart hata ile gösterilmiştir. İstatistik analizlerde i NCSS 9 programı kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

GHRH-HaeIII Polimorfizmi ve Süt Verimi Arasındaki İlişki

PCR sonunda incelenen örneklerin hepsinde 451 bp'lik PCR ürünleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir.

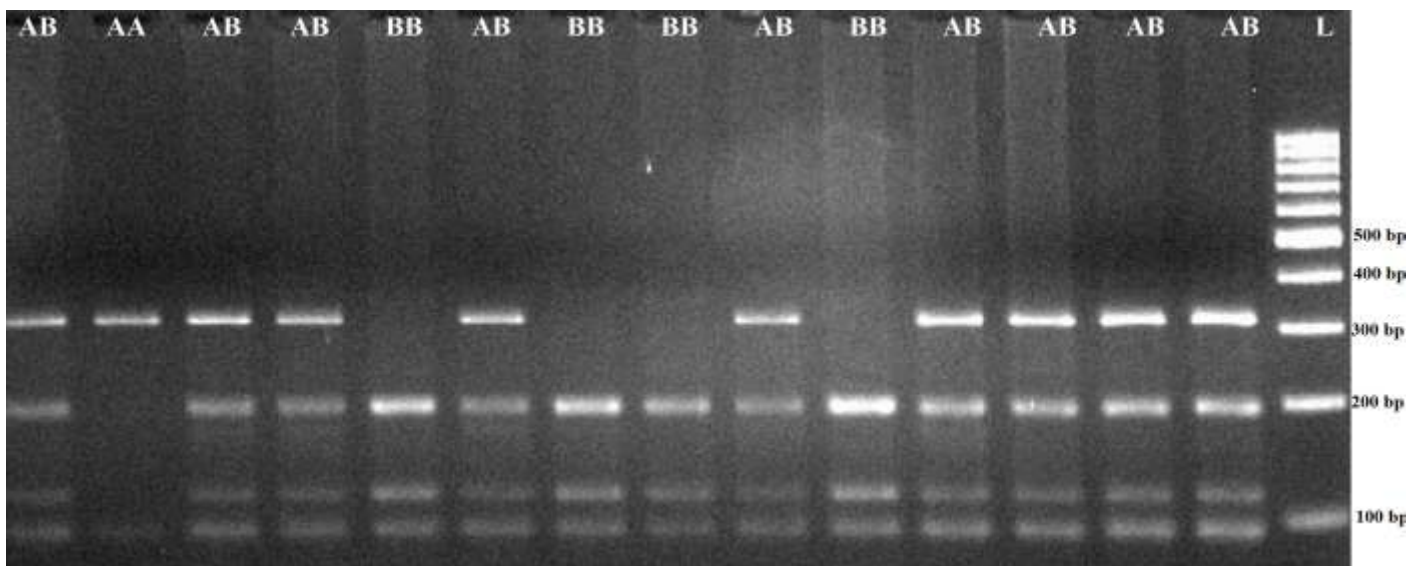
Elde edilen PCR ürünlerinin *HaeIII* enzimi ile kesimleri sonunda "AA" genotipindeki bireylerde 312, 94 ve 45 bp uzunluğunda üç bant, "BB" genotipindeki bireylerde 194, 118, 94 ve 45 bp'lik dört bant, "AB" genotipindeki bireylerde ise 312, 194, 118, 94 ve 45 bp'lik dört bantın görülmesi beklenmiştir. Elde edilmesi beklenen en küçük bant olan 45 bp'lik bantın görülmesi beklenmemiştir. Ancak bant sayısı ve bant büyüklüklerinin genotipleri ayırmada yeterli olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Çalışma sonunda incelenen örneklerde A allel frekansının en düşük (0.32), B allel frekansının ise en yüksek olduğu (0.68) belirlenmiştir. İncelenen Holştayn ırkı sığırların *GHRH-HaeIII* polimorfizmi yönünden Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 1).

Tüm laktasyon dönemlerinde *GHRH* genotipleri arasında günlük süt verim miktarları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$) (Çizelge 2).

Tüm laktasyon dönemlerinde *GHRH* genotipleri arasında laktasyon süt verim miktarları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$) (Çizelge 3).

Türkiye'de yetiştirilen 150 baş sağmal Holştayn ineğin incelendiği bu çalışmada, incelenen örneklerin *GHRH-HaeIII* polimorfizmi yönünden HW dengesinde oldukları belirlenmiştir. Bu durumda da Türkiye'de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizmi yönünden varyasyonun devam ettirdiği görülmüştür. Çalışmada incelenen Holştayn ırkı sığırlarda B allel frekansının (0.68), A allel frekansının (0.32) yüksek olduğu; AB genotip frekansının (0.46) diğer genotiplerden yüksek olduğu, AA genotip frekansının (0.087) ise en az olduğu görülmüştür.



Şekil 1. *GHRH-HaeIII* genotipleri için %2'lik agaroz jel görüntüsü; L: 100 bp'lik DNA merdiveni

Çizelge 1. İncelenen Holştayn ırkı sağmal hayvanlarda *GHRH* ve *PRL* genotip ve allel frekansları

Gen	Genotip Frekansı			Allel Frekansı		Ki-kare analizi (HW)
	AA (Göz-Bek)	AB (Göz-Bek)	BB (Göz-Bek)	A	B	
<i>GHRH</i>	0.087 (13-15.04)	0.46 (69-64.91)	0.453 (68-70.04)	0.32	0.68	$\chi^2 = 0.59^{NS}$ P= 0.441 (SD=1)
<i>PRL</i>	0.72 (108-110.08)	0.273 (41-36.87)	0.007 (1-3.08)	0.86	0.14	$\chi^2 = 1.91^{NS}$ P= 0.166 (SD =1)

Göz: Gözlenen genotip sayısı; Bek: Beklenen genotip sayısı; SD: Serbestlik Derecesi

Çizelge 2. *GHRH-HaeIII* genotiplerine göre günlük süt verimlerinin ortalama ve standart hataları

Günlük süt verimi	Genotipler			P Değeri
	AA (n=13)	AB (n=69)	BB (n=68)	
1. laktasyon	23.28±1.22	23.12±0.51	23.23±0.46	0.985
2. laktasyon	25.42±1.19	25.35±0.48	25.28±0.45	0.990
3. laktasyon	25.10±1.26	24.64±0.49	24.80±0.42	0.916
Ortalama	24.60±0.88	24.37±0.48	24.44±0.43	0.980

Çizelge 3. *GHRH-HaeIII* genotiplerine göre laktasyon süt verimlerinin ortalama ve standart hataları

Laktasyon	Genotipler			P Değeri
	AA (n=13)	AB (n=69)	BB (n=68)	
1. laktasyon	8831.62±485.75	8879.96±190.73	9090.99±163.43	0.670
2. laktasyon	9696.00±494.70	9943.53±339.27	10034.75±222.77	0.830
3. laktasyon	10274.31±545.30	9560.29±241.64	9967.65±217.18	0.767
Ortalama	9600.64±440.02	9561.26±187.99	9697.79±167.19	0.863

Bu çalışma sonuçları ile uyumlu olarak, Polonya'da (Czerniawska-Piątkowska ve ark., 2008; Szatkowska ve ark., 2009) ve Endonezya'da (Rini ve ark., 2013) yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizminin araştırıldığı çalışmalarda AA genotipinin en az görülen genotip, BB genotipinin ise en yaygın genotip olduğu bildirilmiştir. Siyah-Beyaz Holştayn'lardaki sonuçlarla uyumlu olarak, Polonya'da yetiştirilen sütçü kırmızı-beyaz Holştaynlarda da BB genotip frekansının diğer genotiplerden ve B allel frekansının ise A allel frekansından yüksek olduğu bildirilmiştir (Kmiec ve ark., 2007). Yapılan literatür taramasında diğer ülkelerde yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak farklı sığır ırklarında *GHRH-HaeIII* polimorfizminin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan birinde bir başka sütçü ırk olan Jersey ırkı incelenmiş ve bu ırkta da Holştaynlar ile benzer şekilde BB genotipinin en yaygın genotip olduğu, AA genotipinin en az görülen genotip olduğu; B allel frekansının, A allel frekansından yüksek olduğu bildirilmiştir (Szatkowska ve ark., 2009). Bir başka çalışmada, yerli Polonya Siyah-Beyaz sığırları incelenmiş ve bu ırkta da BB'nin en yaygın genotip, AA genotipinin ise en az görülen genotip olduğu bildirilmiştir (Dybus ve Grzesiak, 2006). Sütçü sığır ırkları dışında Limozin ırkı etçi sığırlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada da BB genotipinin en

yaygın genotip (0.815) ve B allelinin de en yaygın allel (0.9) olduğu bildirilmiştir (Dybus ve ark., 2003). Ayrıca, *Bos indicus*'tan köken alan Nellore ve Canchim ırkı sığırlarda da B allel frekansının (0.810 ve 0.767 sırasıyla) A allel frekansından yüksek olduğu ve bu araştırma bulgularına benzer şekilde AA genotipinin en az görülen genotip olduğu bildirilmiştir (Curi ve ark., 2005). Gerek bu çalışma bulguları, gerekse diğer ülkelerde Holştayn ırkında yapılan çalışmalar göstermektedir ki AA genotip frekansı oldukça düşüktür. Diğer taraftan yetiştirilme amacı, kökeninden bağımsız olarak farklı sığır ırklarında AA genotipinin en az görülen genotip olması ve B allel frekansının, A allelinden yüksek olmasının Bovinae alt familyasının *Bos* cinsine özgü bir durum olduğu düşünülmektedir. Bu düşünceyi destekler şekilde, Konca ve Akyüz (2017) tarafından Bovinae alt familyasının *Bubalus* cinsine ait olan nehir mandası türünün Anadolu mandası ırkında *GHRH-HaeIII* polimorfizmi incelenmiş ve bu ırkta sadece AA genotipinin bulunduğunu bildirmiştir. Bir başka nehir mandası ırkı olan Mısır mandalarında da benzer şekilde sadece AA genotipinin bulunduğu bildirilmiştir (Othman ve ark., 2015).

Hipotalamik bir hormon olan ve somatoliberin olarak da adlandırılan GHRH'nun, sığırlarda kandaki büyüme hormonu (GH) konsantrasyonunu artırdığı (Lövendahl ve ark., 1991), artan GH seviyesinin de ineklerde süt verimini artırdığı bildirilmiştir (Dahl ve

ark., 1993). Benzer şekilde etçi (Auchtung ve ark., 2001) ve sütçü (Bonneau ve ark., 1999) sığır ırklarında sentetik GHRH uygulamasının süt verimini artırdığı bildirilmiştir. Dolayısıyla bu çalışmada, GHRH'nu kodlayan gende bulunan ve *HaeIII* enzim kesimi ile belirlen polimorfizmle Holştayn ırkı sığırlarda günlük ve laktasyon toplam süt verimi arasında ilişki olabileceği düşünülmüştür. Ancak çalışma sonunda incelenen örneklerde, farklı laktasyon dönemlerindeki toplam süt verimi ve günlük süt verimi ile *GHRH-HaeIII* genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Bu çalışma bulgularıyla benzer şekilde, Polonya'da yetiştirilen ve hepsi üçüncü laktasyonda olan 881 baş Holştayn sığırında *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile 305 günlük süt verimi, sütteki yağ ve protein oranları ve verimleri arasında ilişki bulunamamıştır (Dybus ve Grzesiak, 2006). Polonya'da yetiştirilen Holştayn ırkı sütçü sığırlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile süt verimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir başka çalışmada, laktasyon süt verimi ile genotipler arasında bir ilişki bulunamamışken, BB genotipli bireylerin süt yağı oranı ve süt yağı miktarının diğer genotiplilerden yüksek olduğu bildirilmiştir (Szewczuk ve ark., 2008). Yine Polonya'da yetiştirilen 242 baş Holştayn ırkı sütçü ineklerde yapılan bir çalışmada *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı başka bir çalışmada, *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile süt verimi ve süt verim özellikleri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Szatkowska ve ark., 2009). Buna karşılık Kırmızı-Beyaz Holştayn'larda *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile süt verim özellikleri araştırıldığı bir çalışmada üçüncü laktasyonda, AA genotipli bireylerin süt verimlerinin diğer genotipe sahip hayvanlardan yüksek olduğu bildirilmiştir (Kmiec ve ark., 2007). Benzer şekilde Polonya'da

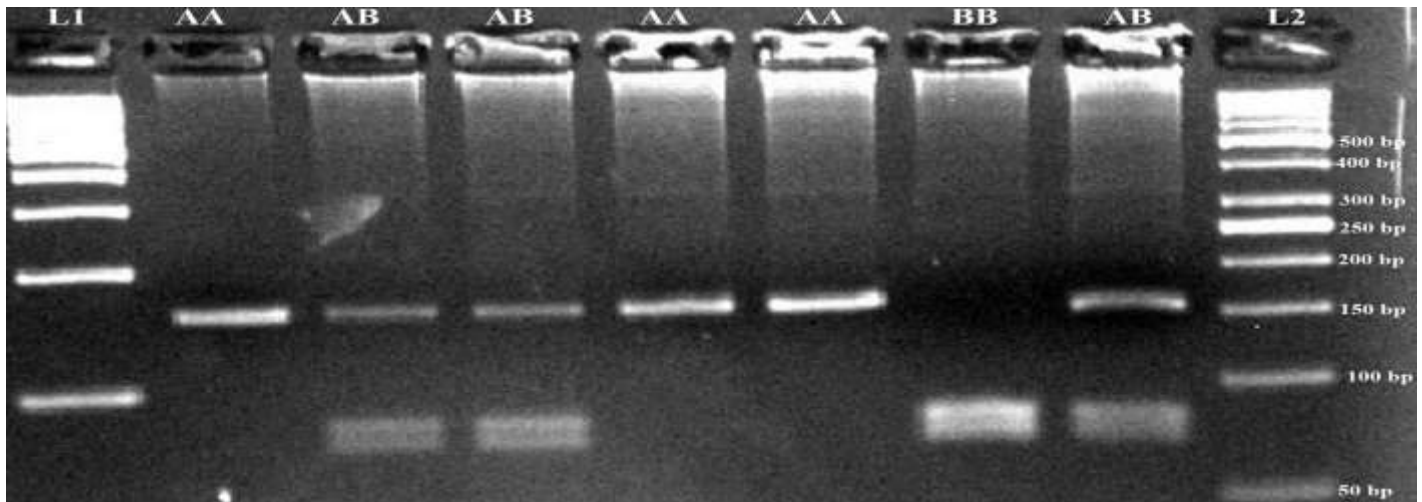
Holştayn ırkı sığırlarda *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile süt verim özellikleri araştırıldığı bir çalışmada, AA genotipli bireylerin diğer genotiplilere göre daha yüksek süt verimine sahip oldukları bildirilmiştir. Buna karşın AB genotipli bireylerden elde edilen sütlerin pıhtılaşma süresinin daha kısa olduğu ve bu sütlerdeki laktoz oranının diğer genotiplere göre %4.92 daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Czerniawska-Piatkowska ve ark., 2011). Benzer şekilde, bir başka sütçü sığır ırkı olan Jersey ırkında yapılan bir çalışmada ise AA genotipli bireylerin 2. ve 3. laktasyon süt verimlerinin diğer genotipli bireylerden düşük süt verimine sahip oldukları bildirilmiştir (Szatkowska ve ark., 2009).

PRL-RsaI Polimorfizmi ve Süt Verimi Arasındaki İlişki

Bu amaçla yapılan PCR sonunda incelenen örneklerin hepsinde 156 bp'lik PCR ürünleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Elde edilen 156 bp'lik PCR ürünlerinin *RsaI* enzimi ile kesilmesinden sonra "AA" genotipindeki bireylerde 156 bp uzunluğunda tek bant, "BB" genotipindeki bireylerde 84 ve 72 bp'lik iki bant, "AB" genotipindeki bireylerde ise 156, 84 ve 72 bp'lik üç bant elde edilmiştir (Şekil 2). Çalışma sonunda *PRL-RsaI* polimorfizmi yönünden incelenen örneklerde A allel frekansının en yüksek (0.86), B allel frekansının ise en düşük olduğu (0.14) görülmüştür.

İncelenen Holştayn ırkı sığırların *PRL-RsaI* polimorfizm yönünden HW dengesinde oldukları gözlenmiştir (Çizelge 1).

Tüm laktasyon dönemlerinde *PLR* genotipleri arasında hem laktasyon süt verim miktarları ve hem de günlük süt verimleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$) (Çizelge 4, 5).



Şekil 2. 156 bp'lik PCR ürünlerinin *RsaI* enzim kesim görüntüsü; L1: 100 bp'lik DNA merdiveni; L2: 50 bp'lik DNA merdiveni.

Çizelge 4. *PRL-RsaI* genotiplerine göre günlük süt verimlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Günlük süt verimi	Genotipler			P Değeri
	AA (n=108)	AB (n=41)	BB (n=1)	
1. laktasyon	23.29±0.37	22.86±0.71	25.55	0.715
2. laktasyon	25.38±0.36	25.18±0.67	25.13	0.961
3. laktasyon	24.91±0.34	24.39±0.70	22.71	0.657
Ortalama	24.53±0.35	24.14±0.68	24.46	0.862

Çizelge 5. *PRL-RsaI* genotiplerine göre laktasyon süt verimlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Laktasyon süt verimi	Genotipleri			P Değeri
	AA (n=108)	AB (n=41)	BB (n=1)	
1. laktasyon	8970.98±132.90	8938.07±277.50	10297.00	0.672
2. laktasyon	9958.06±172.66	9997.12±319.89	9147.00	0.903
3. laktasyon	9991.12±176.12	9797.54±329.61	10855.00	0.767
Ortalama	9640.05±133.01	9577.58±270.82	10099.67	0.926

Yapılan literatür çalışmasında Türkiye’de yetiştirilen Holştayn ırkı sütçü sığırlarda *GHRH-HaeIII* ve *PRL-RsaI* polimorfizmleri ile 305 günlük süt verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada *GHRH-HaeIII* ve *PRL-RsaI* polimorfizmlerinin süt veriminin iyileştirilmesi çalışmaları için moleküler markır olarak kullanılabilme olanaklarının araştırılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada incelenen 150 baş sağmal Holştayn ineğin, *PRL-RsaI* polimorfizmi yönünden HW dengesinde olduğu görülmüştür. Çalışma sonunda Türkiye’de yetiştirilen Holştany ırkı sığırların *PRL-RsaI* polimorfizmi yönünden varyasyon gösterdikleri ve seleksiyon çalışmalarında bu polimorfizmin kullanılabilceğini düşünülmüştür. Çalışmada incelenen Holştayn ırkı sığırlarda A allel frekansının (0.86), B allel frekansından (0.17) yüksek olduğu; AA genotip frekansının (0.722) diğer genotiplerden yüksek olduğu, BB genotip frekansının (0.006) ise en az olduğu görülmüştür. Daha önce Türkiye’de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *PRL-RsaI* polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada da AA genotip frekansının en yüksek, BB genotip frekansının ise en düşük olduğu bildirilmiştir (Akyüz ve ark., 2013). Benzer şekilde Rusya (Tyul’kin ve ark., 2013), Polonya (Dybus ve ark., 2005), Vietnam (Thuy ve ark., 2018) gibi farklı ülkelerde yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *PRL-RsaI* polimorfizminin araştırıldığı çalışmalarda da AA genotip frekansının diğer genotiplerden, A allel frekansının ise B allelinden yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

Benzer şekilde, Holştayn ırkı dışında Red Pied (Alipanah ve ark., 2007), İsviçre Esmeri ve Simmental (Akyüz ve ark., 2013), Türkiye yerli sığır ırklarından Doğu Anadolu Kırmızısı, Boz İrk ve Güney Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara ırklarında da AA genotipi frekansını ile A allel frekansını yüksek bulunmuştur (Akyüz ve ark., 2012). Yapılan literatür taramasında *Bos taurus* köken alan sığır ırklarından sadece Jersey ırkında B allelinin

frekansının A allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir (Dybus ve ark., 2005). Diğer taraftan Hindistan’da yetiştirilen ve *Bos indicus* köken alan yerli sığır ırkında da BB genotip ve B allel frekansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Sodhi ve ark., 2011).

Memelilerde prolaktin hormonu, sütün üretimi ve laktasyonun devam etmesinde çok önemli görevleri bulunan bir hormondur. Diğer taraftan, prolaktin hormonunu laktasyonun devamı için gerekli besin maddelerinin temini için yem tüketimini artırdığı bildirilmiştir (Lacasse ve ark., 2015). Bu nedenle *PRL* geni süt verimi ve süt kompozisyonu için fonksiyonel bir aday gen olarak kabul edilmiştir (Miltiadou ve ark., 2017). *PRL-RsaI* polimorfizmi gerek polimorfizm gerekse süt verimi ile ilgili çalışmalarda en çok kullanılan polimorfizmdir. Bu nedenle Türkiye’de yetiştirilen 150 baş Holştayn sağmal inekteki *PRL* geni ile süt verimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bu çalışmada *PRL-RsaI* polimorfizmi kullanılmıştır. Ancak yapılan çalışma sonunda incelenen Holştayn ineklerin süt verim kayıtlarına göre, *PRL-RsaI* polimorfizmi ile laktasyon ve günlük süt verimleri arasında istatistiksel olarak bir ilişki bulunamamıştır. Bu çalışma bulgularına benzer şekilde Vietnam (Thuy ve ark., 2018), Rusya (Khatami ve ark., 2005), İran (Mehmannavaz ve ark., 2009) ve Polonya’da (Dybus ve ark., 2005) yetiştirilen Holştayn ırkı sütçü sığırlarda *PRL-RsaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin olmadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde Holştayn ırkı dışında Simmental ırkında (Mauriæ ve ark., 2017) yerli bir Rus sığır ırkı olan Yaroslavl ırkında (Khatami ve ark., 2005) ve İsviçre Esmeri ırkında (Chrenek ve ark., 1999) *PRL-RsaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir.

Buna karşılık Jersey ırkı sığırlarda ilk üç laktasyon süt verileri ile *PRL-RsaI* polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada; birinci laktasyonda AB genotipli bireylerin süt verimleri diğer diğer genotiplerden yüksek bulunmuşken, ikinci ve üçüncü laktasyonda AA genotipli hayvanların süt

verimlerinin diğer genotiplerden yüksek olduğu bildirilmiştir (Dybus ve ark., 2005). Benzer şekilde Hindistan'da yetiştirilen Indian Frieswal olarak adlandırılan ve Holştayn ırkı ile bir *Bos indicus* ırkı olan Sahiwal melezlerinin incelendiği bir çalışmada, AA genotipli genotipli bireylerin laktasyon süt verimleri yönünden diğer genotipli bireylerden daha iyi olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark., 2014). Rusya'da yetiştirilen bir Siyah ve Kırmızı alaca (Black Pied ve Red Pied) sığırlarının incelendiği bir çalışmada, Siyah alacalarda AB genotipinin, Kırmızı alacalarda ise BB genotipinin süt verimi yönünden diğer genotiplerden daha iyi olduğu bildirilmiştir (Alipanah ve ark., 2007). Gerek Holştayn ırkı sığırlar, gerekse diğer sığır ırklarının incelendiği çalışmaların bulguları göz önüne alındığında *PRL-RsaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin ırka özgü olduğu düşünülmektedir. Çünkü Holştayn ırkında yapılan çalışmalarda *PRL-RsaI* polimorfizmi ile süt verimi arasında bir ilişki bulunamamışken, yukarıda da belirtildiği gibi farklı sığır ırklarında ilişki olduğunu bildirilmiştir. Dolayısıyla genin süt verimi ve süt verim özellikleriyle ilişkili olmadığı söylenemez, ancak Holştayn ırkında bu çalışmada incelenen polimorfizmin incelenen fenotiplerle ilişkili olmadığı söylenebilir. Bu düşüncüyü destekler şekilde Holştayn ırkı sığırlarda *PRL* geninde bulunan farklı SNP'lerin süt verimi ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir. Bunların birinde Çin'de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *PRL* geninin 3. ve 4. intronları arasında bulunan 7545 pozisyonunda görülen bir guanin-adenin değişimi sonucu oluşan SNP ile 305 gün süt verimi arasında genotipler arasında fark olduğu bildirilmiştir (Dong ve ark., 2013). Yine Çin'de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *PRL* geninin 4. ekzonunu 8398. pozisyonunda bulunan bir SNP yönünden BB genotipli bireylerin diğer genotiplerden daha yüksek süt verimine sahip oldukları bildirilmiştir (Hu ve ark., 2009).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, gerek bu çalışmanın bulguları, gerekse farklı ülkelerde yapılan çalışmalar göstermektedir ki *GHRH-HaeIII* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki, farklı popülasyonlarda farklı sonuçlar vermektedir. Bu durum ise *GHRH-HaeIII* polimorfizminin, sığırlarda süt verim özelliklerinin iyileştirilmesi çalışmalarında kullanılma seçeneğini düşürmektedir. Benzer şekilde, bu Türkiye'de yetiştirilen Holştayn ırkı sütçü sığırlarda *PRL-RsaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir. Yine de bu gende bulunan farklı SNP'lerin süt verimi arasındaki ilişkinin araştırılacağı çalışmalarda kullanılabileceği düşünülmüştür. Ancak her iki SNP ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin araştırılmasında daha

sağlıklı bir sonuca varmak için her genotipten çok sayıda bireylerin bulunduğu çalışmaların planlanmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı TYL-2017-7703 proje kodlu destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

- Akyuz B, Agaoglu OK, Ertugrul O 2012. Genetic polymorphism of kappa-casein, growth hormone and prolactin genes in Turkish native cattle breeds. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1): 38-44.
- Akyüz B, Arslan K, Bayram D, İşcan KM 2013. Allelic frequency of kappa-casein, growth hormone and prolactin gene in Holstein, Brown Swiss and Simmental cattle breeds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(3): 439-444.
- 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.
- Auchtung TL, Buchanan DS, Lents CA, Barao SM, Dahl GE 2001. Growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in beef cows divergently selected for milk production. *Journal of Dairy Science*, 79(5): 1295-1300.
- Baile CA, Buonomo FC 1987. Growth hormone-releasing factor effects on pituitary-function, growth, and lactation. *Journal of Dairy Science*, 70(2): 467-473.
- Bonneau M, Laarveld B 1999. Biotechnology in animal nutrition, physiology and health. *Livestock Production Science*, 59(2-3): 223-241.
- Cemal İ, Karaca O 2006. Çiftlik hayvanlarında major genlerin belirlenmesi ve genotip ayrımı. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1): 105-115.
- Chrenek P, Huba J, Oravcova M, Hetenyi L, Peskovieova D, Bulla J 1999. Genotypes of bGH and bPRL genes in relationships to milk production. *EAAP 50th Annual Meeting*, 22-26 Augst, Zurich.
- Curi RA, De Oliveira HN, Silveira AC, Lopes CR 2005. Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle. *Livestock Production Science*, 94(3): 159-167.
- Czerniawska-Piatkowska E, Szewczuk M, Zych S 2011. Association between genetic polymorphism of growth-hormone-releasing hormone and the yield, chemical composition and technological parameters of cow milk (brief report). *Archives Animal Breeding*, 54(3): 323-325.
- Dahl GE, Chapin LT, Moseley WM, Tucker HA 1993.

- Galactopoietic effects of recombinant somatotropin and growth hormone-releasing factor in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76(6): 1550-1557.
- Dybus A, Kmiec M, Sobek Z, Pietrzyk W, Wisniewski B 2003. Associations between polymorphisms of growth hormone releasing hormone (GHRH) and pituitary transcription factor 1 (PIT1) genes and production traits of limousine cattle. *Archives Animal Breeding*, 46(6): 527-534.
- Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, Szatkowska I, Sobek Z, Blaszczyk P, Czerniawska-Piatrowska 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 Animal Breeding*, 48: 149-156.
- Dybus A, Grzesiak W 2006. GHRH/HaeIII gene polymorphism and its associations with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Archives Animal Breeding*, 49(5): 434-438.
- Erhardt G, Weimann C (2007). Use of molecular markers for evaluation of genetic diversity and in animal production. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 15(supl 1): 63-66.
- Frohman LA, Downs TR, Chomczynski P 1992. Regulation of growth hormone secretion. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 13(4): 344-405.
- Hu X, Lü A, Chen H, Gao X, Xu H, Zhang C 2009. Preliminary evidence for association of prolactin and prolactin receptor genes with milk production traits in Chinese Holsteins. *Journal of Applied Animal Research*, 36(2): 213-217.
- Jiang L, Liu J, Sun D, Ma P, Ding X, Yu Y, Zhang Q 2010. Genome wide association studies for milk production traits in Chinese Holstein population. *Plos ONE*, 5(10): e13661.
- Kaygısız A, Yılmaz İ, Koşum S 2017. Şanlıurfa ilinde Siyah Alaca ırkı sığırların yetiştirici şartlarında bazı adaptasyon özellikleri. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20(2): 133-136.
- 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*, 41(2): 167-173.
- Kmiec M, Kowalewska-Luczak I, Kulig H, Terman A, Wierzbicki H, Lepczynki A 2007. Associations Between GHRH/HaeIII restriction polymorphism and milk production traits in a herd of dairy cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(11): 1298-1303.
- Konca MA, Akyüz B 2017. Investigation of growth hormone releasing hormone, growth hormone and prolactin hormone gene polymorphism in Anatolian water buffalo. *Annals of Animal Science*, 17(4): 1053-1062.
- Lacasse P, Ollier S 2015. The dopamine antagonist domperidone increases prolactin concentration and enhances milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(11): 7856-7864.
- Løvendahl P, Woolliams JA, Sinnott-Smith PA 1991. Response of growth hormone to various doses of growth hormone releasing factor and thyrotropin releasing hormone administered separately and in combination to dairy calves. *Canadian Journal of Animal Science*, 71: 1045-1052.
- Mauriæ M, Mašek T, Beniæ M, Špehar M, Starèeviæ 2017. Effect of DGAT1, FASN and PRL genes on milk production and milk composition traits in Simmental and crossbred Holstein cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(7): 859-863.
- Mehmannavaz Y, Amirinia C, Bonyadi M, Tordhizi RV 2009. Effects of bovine prolactin gene polymorphism within exon 4 on milk related traits and genetic trends in Iranian Holstein bulls. *African Journal of Biotechnology*, 8(19): 4797-4801.
- Miltiadou D, Orford M, Symeou S, Banos G 2017. Identification of variation in the ovine prolactin gene of Chios sheep with a cost-effective sequence-based typing assay. *Journal of Dairy Science*, 100(2): 1290-1294.
- Othman OE, Abdel-Samad MF, El-Maaty NAA, Sewifty KM 2015. Genotyping and nucleotide sequences of growth hormone releasing hormone and its receptor genes in Egyptian buffalo. *British Biotechnology Journal*, 5(2): 62-71.
- Parmentier I, Portetellean D, Gengler N, Prandi A, Bertozzi C, Vleurick L, Gilson R, Renaville R (1999). Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection. *Domestic Animal Endocrinology*, 17: 139-148.
- Patel, JB, Chauhan JB 2017. Polymorphism of the prolactin gene and its relationship with milk production in Gir and Kankrej cattle. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 8(2): 167-170.
- Rini AO, Sumantri C, Anggraeni A 2013. GHRH/HaeIII polymorphism in dairy and beef cattle at national livestock breeding centers. *Media Peternakan*, 36(3): 185-191.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Second Edition, Cold-Spring Harbor, New York, USA, Volume 2, pp: 9.16-9.19.
- Singh U, Deb R, Alyethodi RR, Alex R, Kumar S, Chakraborty S, Dhama K, Sharma A 2014. Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 6(2): 49-58.
- Sodhi M, Mukesh M, Mishra BP, Parvesh K, Joshi BK 2011. Analysis of genetic variation at the prolactin-RsaI (PRL-RsaI) locus in Indian native cattle breeds (*Bos indicus*). *Biochemical Genetics*, 49(1-2): 39-45.
- Szewczuk M, Zych S, Chaberski R 2008. Effect of

- growth hormone-releasing hormone gene polymorphism (GHRH/HaeIII) on milk performance in Polish Holstein-Friesian cows. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, Sbornik Mendelovy Zemedelske A Lesnicke Univerzty V Brne*, 56(4): 177-182.
- Szatkowska I, Dybus A, Grzesiak W, Jedrzejczak M, Muszynska M 2009. Association between the growth hormone releasing hormone (GHRH) gene polymorphism and milk production traits of dairy cattle. *Journal of Applied Animal Research*, 36(1): 119-123.
- Thuy NTD, Thu NT, Cuong NH, Ty LV, Nguyen TTB, Khoa DVA 2018. Polymorphism of PIT-1 and prolactin genes and their effects on milk yield in Holštayn Frisian dairy cows bred in Vietnam. *Russian Journal of Genetics*, 54(3): 346-352.
- Tyul'kin SV, Akhmetov TM, Valiullina EF, Vafin RR 2013. Polymorphism of somatotropin, prolactin, leptin, and thyreoglobulin genes in bulls. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 3(3): 222-224.
- Yıldırım F, Özdemir S, Yıldız A 2018. Koçuş tarım işletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca (Holštayn) sığırlarda bazı süt verimi özellikleri ve ilişkili genlerin ekspresyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(3): 353-362.