



# Simental ırkı sığırlarda *STAT5A* ve *MYF5* gen polimorfizmleri ile süt verimi arasındaki ilişkinin araştırılması\*

## Investigation of the relationship between *STAT5A* and *MYF5* gene polymorphisms and milk yield in simental cattle breed

Osman Tufan ERTAN<sup>1</sup>, Bilal AKYÜZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik ABD, Kayseri

Sorumlu yazar (Corresponding author): B. Akyüz, e-posta (e-mail): bakyuz@erciyes.edu.tr

Yazar(lar) e-posta (Author e-mail): tufanertan@gmail.com

### MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 18 Eylül 2020  
Düzeltilme tarihi 30 Ekim 2020  
Kabul tarihi 26 Kasım 2020

#### Anahtar Kelimeler:

*MYF5*  
*RFLP*  
Simmental  
*STAT5A*  
Süt verimi

### ÖZ

Bu çalışmada Simental sığır ırkına ait toplam 202 hayvanda *STAT5A-AvaI* ve *MYF5-TaqI* polimorfizmleri ile günlük ve toplam süt verimi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. PZR tekniği ile çoğaltılan 215 bp uzunluğundaki *STAT5A* gen bölgesi *AvaI* restriksiyon enzimi ile kesilirken, 512 bp uzunluğundaki *MYF5* gen bölgesi *TaqI* enzimi ile kesilmiştir. Belirlenen *STAT5A-AvaI* ve *MYF5-TaqI* genotipleri ile günlük ve laktasyon süt verimleri arasındaki ilişki Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada incelenen Simental popülasyonunun *STAT5A-AvaI* ve *MYF5-TaqI* polimorfizmi yönünden Hardy-Weinberg (H-W) dengesinde olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonunda incelenen Simental ırkı sağmal ineklerde *STAT5A-AvaI* polimorfizmi yönünden CT genotipli sığırların hem birinci hemde ikinci laktasyonda diğer genotiplere göre daha yüksek süt verimine sahip oldukları belirlenmiştir. Buna karşın bu çalışmada incelenen Simental ırkı ineklerde *MYF5-TaqI* polimorfizmi ile günlük ve toplam laktasyon süt verimleri arasında ilişki olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, *STAT5A-AvaI* polimorfizminin, Simental sığır ırkında günlük ve toplam laktasyon süt verimlerinin iyileştirilmesi amacıyla yapılacak ıslah çalışmalarında kullanılabilmesi potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

### ARTICLE INFO

Received 18 September 2020  
Received in revised form 30 October 2020  
Accepted 26 November 2020

#### Keywords:

*MYF5*  
*RFLP*  
Simmental  
*STAT5A*  
Milk yield

### ABSTRACT

In this study, it is aimed to investigate the relationship between *STAT5A-AvaI* and *MYF5-TaqI* polymorphisms with daily and total lactation milk yields in a total of 202 animals belonging to Simmental cattle breed. Amplificated by PCR technique, 215 bp length of *STAT5A* gene region was digested with *AvaI* restriction enzyme, while 512 bp length of *MYF5* gene region was digested with *TaqI* enzyme. The relationship between the determined *STAT5A-AvaI* and *MYF5-TaqI* genotypes and milk yields was evaluated with One-Way Variance Analysis (ANOVA). It was determined that the examined Simmental cattle population was in Hardy-Weinberg (H-W) equilibrium in terms of *STAT5A-AvaI* and *MYF5-TaqI* polymorphisms. It was observed that cattle with CT genotype had higher milk yield in both first and second lactations than other genotypes for *STAT5A-AvaI* polymorphism. On the other hand, it was determined that there was no relationship between *MYF5-TaqI* polymorphism and milk yield. As a result, it is thought that the *STAT5A-AvaI* polymorphism could be used to improve daily and total lactation milk yields in Simmental cattle breed.

\*Bu makale 1. yazar Osman Tufan ERTAN'ın Yüksek Lisans Tezi'nden özetlenmiştir.

## 1. Giriş

Yakın zamana kadar çiftlik hayvanlarında yapılan ıslah çalışmalarında, klasik seleksiyon yöntemleri yoğun olarak uygulanmıştır. Ancak sığır gibi generasyonlar arası sürenin uzunluğu ve buna bağlı olarak genetik ilerlemenin yavaş olduğu türlerde hedeflenen ıslah başarısına ulaşmanın geç ve güç olması klasik seleksiyon yöntemleri için önemli bir

dezavantajdır. Diğer taraftan çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan kantitatif karakterlerin hemen hepsinin küçük etkili çok sayıda eklemeli etkiye sahip genler tarafından kontrol edilmeleri ve çevre faktörlerinden daha fazla etkilenmeleri, klasik seleksiyon uygulamalarında başarıyı düşürmektedir (Şahin ve ark. 2013). Genel olarak çiftlik hayvanları

yetiştiriciliğinde başarılı klasik seleksiyon uygulamaları sonucunda her yıl yaklaşık olarak %1-3 genetik ilerlemenin elde edildiği bildirilmiştir (Thornton 2010). Ancak sığır gibi uzun generasyon aralığına sahip türlerde daha da zor ve masraflı olması nedeniyle, klasik seleksiyon uygulamaları çoğunlukla erkek bireyler üzerinden yapılır. Bu işlemin boğa adayı başına en az beş yıllık verilerin takibi ve analizi ile en az 50 bin dolar maliyeti olduğu bildirilmiştir (Wiggans ve ark. 2017). Bu nedenle çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde klasik seleksiyon çalışmalarından bağımsız veya birlikte kullanılabilir, yüksek damızlık değere sahip damızlıkların yaş ve cinsiyetten bağımsız olarak başarılı bir şekilde seçilmesine olanak veren alternatif seleksiyon uygulamalarına ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla sığır (Ağaoğlu ve ark. 2020; Ardıçlı ve ark. 2019), koyun (Bayram ve ark. 2019), keçi (Işık ve ark. 2017) ve tavuk (Karslı ve ark. 2017) gibi farklı çiftlik hayvanlarında farklı verim veya hastalıklar için uygulanacak seleksiyon işleminde aday gen olabilecek farklı gen bölgelerindeki polimorfizmler PCR-RFLP yöntemiyle belirlenmiştir. Süt verim özelliklerinin genetik olarak iyileştirilmesi çalışmalarında, süt verimini doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen (büyüme, sütün üretilmesi ve indirilmesi, süt kompozisyonu, meme sağlığı) genlere özellikle ilgi duyulmaktadır.

Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 5A (Signal Transducers and Activators of Transcription 5A, STAT5A) proteini; canlılarda hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve programlı hücre ölümü olan apoptozis mekanizmalarında görev alan ve yedi üyeden oluşan STAT protein ailesinin bir üyesidir (Bao ve ark. 2010, Dario ve ark. 2011). Somatotropik aksinin bir üyesi olan ve meme bezi faktörü olarak da bilinen STAT5A proteini, meme bezi hücrelerinde süt proteinlerinin sentezlenmesinde görevli olan prolaktin ve büyüme hormonlarının etkilerini kontrol etmektedir. Bu nedenle STAT5A geninin meme bezininin laktasyona hazırlanması, laktasyonun başlaması ve devam etmesinde de önemli rolü bulunmaktadır (Dario ve ark. 2009a). Prolaktin ve büyüme hormonlarının görevlerini yerine getirmesindeki aracılık rolü nedeniyle STAT5A geninin çiftlik hayvanlarında süt ve et verimi özellikleri için potansiyel aday gen olduğu bildirilmiştir (Dario ve ark. 2009b; Bao ve ark. 2010).

Zigoton oluşumuyla başlayan hücre sayısındaki artışı ve hücrelerde farklılaşmayı içeren büyüme oldukça karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte, miyojenik faktör olarak adlandırılan dört üyeden (MYF3-6) oluşan miyojenik belirleme (myogenic determinasyon-MyoD) gen ailesi önemli görevler üstlenmektedir (Li ve ark. 2004). Bu ailede bulunan MYF5 geninin, kas liflerinin uzaması ve büyümesindeki önemli roller nedeniyle çiftlik hayvanlarında büyüme için potansiyel bir aday gen olabileceği bildirilmiştir (Li ve ark. 2004).

Yapılan literatür taramasında, Türkiye’de yetiştirilen Simental ırkı sığırlarda STAT5A ve MYF5 gen polimorfizminin ve bu polimorfizmler ile süt verim ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bağlamda Simental ırkı sığırlarda STAT5A ve MYF5 gen polimorfizmleri ile günlük, birinci ve ikinci laktasyon toplam süt verimleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Hayvan materyali ve verim kayıtları

Bu çalışmada, tamamı aynı işletmede bakılan, ikinci laktasyonunu bitirmiş ve süt verim kayıtları bulunan 202 baş Simental ırkı sağmal inek incelenmiştir. Çalışmada kullanılan her bir ineğin 1. ve 2. laktasyonuna ait 305 günlük süt verimi, laktasyon süresi, ortalama günlük süt verimi, genel sağlık durumları ve mastitise yönelik kayıtları tutulmuştur. Laktasyon süt verimi, ineğin günlük süt verimi ölçümleri toplanarak bulunmuştur.

### 2.2. PZR-RFLP analizi

Yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) için gerekli DNA’lar tüm kandan Sambrook ve ark. (1989) tarafından geliştirilen fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1) yöntemine göre izole edilmiştir.

215 bp uzunluğuna sahip STAT5A gen bölgesinin PZR yöntemiyle çoğaltılmasında Flisikowski ve ark. (2003)’nın bildirdiği primer seti (F: 5’-CTG CAG GGC TGT TCT GAG AG-3’ ve R: 5’-TGG TAC CAG GAC TGT AGC ACA T-3’) kullanılmıştır. PZR işlemi; 94°C’de 4 dakika ön denatürasyonu takiben, her bir döngüsü; 94°C’de 1 dakika, 64°C’de 1 dakika, 72°C’de 1 dakika olacak şekilde 34 döngü olarak yapılmıştır. Son döngüyü takiben son uzama için 72°C’de 15 dakika tutularak PZR sonlandırılmıştır. Bireylerin genotiplendirilmesi için 215 bp uzunluğuna sahip PZR ürünleri *AvaI* restriksiyon enzimi ile üretici firmanın talimatlarına göre kesime bırakılmıştır (Fermentas, ThermoFisherScientificInc., Waltham, MA, USA). Kesim işlemi sonunda CC genotipli bireylerde 181 ve 34 bp’lik iki fragment, CT genotipli bireylerde 215, 181 ve 34 bp’lik üç fragment, TT genotipli bireylerde 215 bp’lik tek fragmentin görülmesi beklenmiştir. STAT5A-*AvaI* polimorfizmi yönünden incelenen Simental ırkı ineklerin genotipleri %3’lük agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir.

*MYF5-TaqI* polimorfizmi için yapılan PZR işleminde primer olarak Şahin ve Akyüz (2017), tarafından önerilen F: 5’-AGAGCAGCAGTTTTGACAGC-3’; R: 5’-GCAATCCAAGCTGGATAAGG-3’ şeklinde bir primer seti kullanılmıştır. PZR işlemi hazırlanan karışımın 94°C’de 4 dakika ilk denatürasyon aşamasından sonra, her bir döngüsü; 94°C’de 30 saniye, 58°C’de 1 dakika, 72°C’de 1 dakika olacak şekilde 38 döngü olarak yapılmıştır. Son döngüyü takiben cihazdaki tüpler son uzama için 72°C’de 4 dakika tutularak PZR işlemi sonlandırılmıştır. PZR işlemi sonunda elde edilen 512 bp’lik PZR ürünleri, örneklerin genotiplerinin belirlenmesi için *TaqI* (Fermentas, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) kesim enzimi ile kesilmiştir. Elektroforez sonunda *MYF5-TaqI* polimorfizmi yönünden AA genotipli bireylerde 512 bp uzunluğunda tek fragment, AG genotipli bireylerde 512, 396 ve 116 bp uzunluğunda üç fragment, GG genotipli bireylerde ise 396 ve 116 bp uzunluğunda iki fragment gözlenmiştir. *MYF5-TaqI* polimorfizmi yönünden incelenen Simental ırkı ineklerin genotipleri %2’lik agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir.

### 2.3. İstatistik analiz

İncelenen örneklerin *STAT5A-AvaI* ve *MYF5-TaqI* polimorfizmleri yönünden genotipleri ile verim kayıtları kullanılarak istatistik analiz için veri seti oluşturulmuştur. Hazırlanan veri seti kullanılarak yapılan Q-Q plot, histogram grafiği ve Kolmogorov Smirnov testi ile verilerin normal dağılıma uygunluğu kontrol edilmiştir. İncelenen örneklerin *MYF5-TaqI* ve *STAT5A-AvaI* polimorfizmleri ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin istatistiksel önem kontrolü ise Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. İncelenen bireylerin süt verimlerinin tanımlayıcı istatistikleri, ortalama ve standart hata ile gösterilmiş ve istatistik analizlerde NCSS 9 programı kullanılmıştır (Apaydin ve ark. 2019).

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ve süt verimi arasındaki ilişki

Yapılan PCR işlemi sonrasında, başarılı bir şekilde elde edilen 215 bp'lik PCR ürünleri *AvaI* restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve incelenen örneklerin *STAT5A-AvaI* gen bölgesi yönünden polimorfik oldukları gözlemlenmiştir. Elde edilen RFLP bant profiline göre C allelinin tespitinde kullanılan 181 ve 34 bp uzunluğunda iki banttan 34 bp uzunluğundaki bant çok küçük olduğu için %3'lük agaroz jel elektrofrezinde görüntülenememiştir. Buna rağmen diğer bantların varlığı veya yokluğuna göre bireylerin genotipleri başarılı bir şekilde belirlenebilmiştir (Şekil 1).

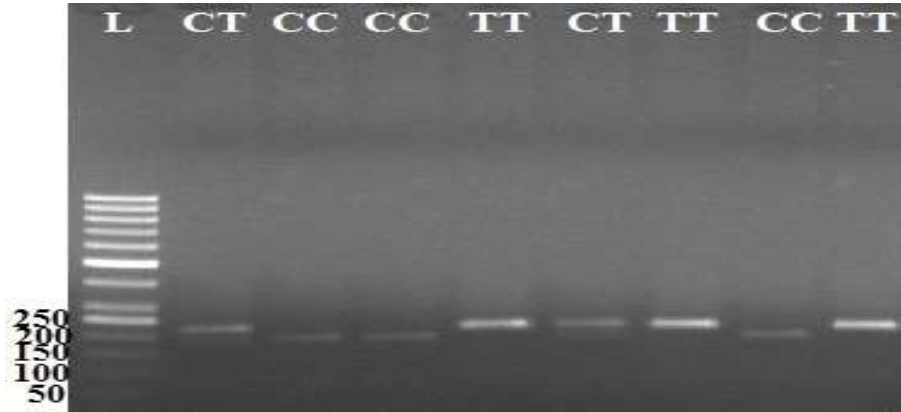
Çalışma sonunda *STAT5A-AvaI* polimorfizmi yönünden incelenen Simental ırkı ineklerde, TT genotipinin en az görülen (0.04) genotip, T allelinin ise en düşük frekanstaki allel olduğu (0.15); buna karşın CC genotipinin en çok görülen genotip (0.73), C allelinin ise en yüksek frekanstaki allel olduğu (0.85) belirlenmiştir. İncelenen Simental ırkı sığırların bu polimorfizm

yönünden Hardy-Weinberg (H-W) dengesinde oldukları görülmüştür (Çizelge 1).

Yapılan literatür taramasında bu çalışma dışında Simental ırkı sığırlarda *STAT5A-AvaI* polimorfizminin araştırıldığı sadece bir çalışmaya rastlanılmıştır (Çizelge 2). Romanya'da yetiştirilen Simental ırkı sığırların incelendiği çalışmada, TT genotipine hiç rastlanmamış, CC genotipinin ise en yaygın genotip olduğu bildirilmiştir (Coşier ve Croitoriu 2012). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da CC genotip frekansının (0.73) diğer genotiplerden yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ancak Coşier ve Croitoriu (2012) tarafından yapılan çalışmadan farklı olarak, Türkiye'de yetiştirilen Simental ırkı sığırlarda düşük frekansta (0.04) olsa da TT genotipinin bulunduğu görülmüştür. Dario ve ark. (2009a) ile Selvaggi ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmalar dışında, farklı sığır ırklarında yapılan çalışmalarda genel olarak TT genotipinin en az görülen genotip olduğu görülmüştür (Çizelge 2).

Bu durum ise *Bos taurus*'tan köken alan farklı sığır ırklarında *STAT5A-AvaI* polimorfizmi yönünden genel durumları hakkında yorum yapmayı güçleştirmektedir. Ancak yapılan literatür taramasında farklı sığır ırklarında *STAT5A-AvaI* polimorfizminin araştırıldığı çalışma sayısının az olduğu görülmüştür (Çizelge 2). Bu nedenle farklı sığır ırklarında *STAT5A-AvaI* polimorfizminin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Yapılan istatistik analizler sonucunda 1. laktasyonda sağında geçen gün sayısı ve toplam süt verimi ile 2. laktasyonda günlük süt verimi ve toplam süt verimi bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). CT genotipli bireylerin incelenen özellikler yönünden diğer genotipli bireylere göre daha iyi oldukları görülmüştür (Çizelge 3).



Şekil 1. 215 bp'lik PCR ürünlerinin *AvaI* restriksiyon endonükleaz enzim kesim görüntüsü. L: 50 bp'lik DNA merdiveni (GeneRuler 50 bp DNA Ladder, Thermo Scientific, USA).

Figure 1. Image of *AvaI* restriction enzyme digestion of 223 bp PCR products; L: 50 bp DNA ladder (GeneRuler 50 bp DNA Ladder, Thermo Scientific, USA).

Çizelge 1. İncelenen Simental ineklerde *STAT5A-AvaI* ve *MYF5-TaqI* genotip ve allel frekanslar.

Table 1. Genotype and allele frequencies of *STAT5A-AvaI* and *MYF5-TaqI* in examined Simmental cows.

Gen	Genotip Frekansı			Allel Frekansı		Ki-kare Analizi ( $X^2$ )
	CC (Göz-Bek)	CT (Göz-Bek)	TT (Göz-Bek)	C	T	
<i>STAT5A</i>	0.73 (148-144.76)	0.23 (46-52.49)	0.04 (8-4.76)	0.85	0.15	3.084 <sup>ns</sup> (Sd= 1)
	AA (Göz-Bek)	AG (Göz-Bek)	GG (Göz-Bek)	A	G	
<i>MYF5</i>	0.10 (20-19.65)	0.43 (86-86.70)	0.48 (96-95.65)	0.31	0.69	0.0133 <sup>ns</sup> (Sd= 1)

Göz: Gözlenen frekans; Bek: Beklenen frekans; Sd: Serbestlik derecesi; ns: istatistiksel olarak önemsiz.

**Çizelge 2.** Farklı sığır ırklarında *STAT5A-AvaI* allel ve genotip frekansları.**Table 2.** Allele and genotype frequencies of *STAT5A-AvaI* in different cattle breeds.

İrk	Allel Frekansı		Genotip Frekansı			Literatür
	T	C	TT	TC	CC	
Simental	0.165	0.835	0.0	0.33	0.67	Coşier ve Croitoriu (2012)
Jersey	0.25	0.75	0.011	0.471	0.518	Dario ve Selvaggi (2011)
Jersey	0.73	0.27	0.516	0.419	0.065	Dario ve ark. (2009a)
Jersey	0.853	0.147	0.737	0.232	0.031	Selvaggi ve ark. (2013)
İsviçre Esmeri	0.81	0.19	0.666	0.286	0.048	Dario ve ark. (2009a)
İsviçre Esmeri	0.17	0.83	0.021	0.292	0.687	Selvaggi ve ark. (2009)
Holstein	0.14	0.86	0.018	0.24	0.742	Kıyıcı ve ark. (2018)
Holstein	0.69	0.31	0.379	0.621	0.00	Dario ve ark. (2009a)
Kırmızı-Beyaz Holstein	0.117	0.883	0.0	0.766	0.234	Kmieć ve ark. (2010)
Podolica	0.56	0.44	0.139	0.833	0.028	Dario ve ark. (2009b)
Boz İrk	0.14	0.86	0.025	0.225	0.72	Arslan ve ark. (2015)
Yerli Kara	0.28	0.72	0.193	0.182	0.625	Arslan ve ark. (2015)
Zavot	0.14	0.86	0.024	0.226	0.75	Arslan ve ark. (2015)
DAK	0.29	0.71	0.215	0.154	0.631	Arslan ve ark. (2015)
GAK	0.23	0.77	0.173	0.115	0.712	Arslan ve ark. (2015)

DAK: Doğu Anadolu Kırmızısı; GAK: Güney Anadolu Kırmızısı.

**Çizelge 3.** *STAT5A-AvaI* genotiplerine göre ortalama 305 günlük süt verim özelliklerinin istatistiksel karşılaştırılması (kg).**Table 3.** Statistical comparison of average 305 days milk yield traits according to *STAT5A-AvaI* genotypes (kg).

Süt Verim Özellikleri	Genotipler			P Değeri (ANOVA)
	CC (n= 148) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	CT (n= 46) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	TT (n= 8) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	
<b>1. Laktasyon 305SV</b>	6204.04±89.94 <sup>ab</sup>	6529.76±163.35 <sup>a</sup>	5499.63±347.03 <sup>b</sup>	<b>0.03*</b>
<b>1. Laktasyon GSV</b>	19.84±0.29	20.62±0.53	17.82±1.03	0.094
<b>SGGS</b>	297.7±1.53 <sup>a</sup>	290.0±2.62 <sup>b</sup>	297.6±4.13 <sup>ab</sup>	<b>0.045*</b>
<b>2. Laktasyon 305SV</b>	7530.79±139.44 <sup>a</sup>	8106.96±268.71 <sup>b</sup>	6566.00±496.45 <sup>a</sup>	<b>0.03*</b>
<b>2. Laktasyon GSV</b>	24.64±0.460 <sup>a</sup>	26.6±0.881 <sup>b</sup>	21.5±1.628 <sup>a</sup>	<b>0.029*</b>
<b>SGGS</b>	309.6±2.251	311.6±3.955	311.6±4.524	0.901

305SV: 305 Günlük Toplam Süt Verimi; GSV: Ortalama Günlük Süt Verimi; SGGS: Sağında Geçen Gün Sayısı;  $\bar{x}$ : Aritmetik ortalama;  $S\bar{x}$ : Standart hata; \*: İstatistiksel olarak 0.05 düzeyinde önemli.

Yapılan literatür taramasında Simental ırkında bu polimorfizmle süt verim özelliklerinin araştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca *STAT5A-AvaI* polimorfizmi dışında, Simental ırkında *STAT5A* geni ile süt verim özelliklerinin araştırıldığı tek çalışmaya rastlanılmıştır (Coşier ve Croitoriu 2012). Araştırmacılar çalışmalarında Romanya'da yetiştirilen Simental ırkı sığırlarda belirlenen *STAT5A-Eco8II* polimorfizmi ile sütteki yağ oranı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.

Süt sığırlarında *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ile süt verim özelliklerinin araştırıldığı az sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Holstein ve Jersey ırklarında yapılan bazı çalışmalar öne çıkmaktadır. Bu çalışmaların birinde İran'da yetiştirilen Holstein ırkı sığırlarda TT genotipli bireylere rastlanılmamış, CT genotipli bireylerin sütteki protein ve yağ oranı açısından CC genotipli bireylerden daha iyi oldukları, süt verimi yönünden de CT genotipli bireylerin istatistiksel olarak önemli olmamasına rağmen süt verimi yönünden daha iyi oldukları bildirilmiştir (Sadeghi ve ark. 2009). Türkiye'de yetiştirilen Holstein ırkı ineklerde *STAT5A-AvaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir (Kıyıcı ve ark. 2018). Jersey ırkı sığırlarda yapılan bir çalışma sonunda CC genotipli bireylerin diğer genotiplilerden daha iyi oldukları bildirilmiştir (Dario ve Selvaggi 2011). Benzer şekilde İtalya'da yetiştirilen İsviçre Esmerlerinde TT genotipli birey sayısı çok az olduğu için analize katılmamış, CC genotipli bireylerin süt verimlerinin CT genotiplilerden daha iyi olduğu ve bu polimorfizmin süt sığırlarında dolaylı marker olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Selvaggi ve ark. 2009). Buna karşın toplamda 202 baş Simental ineğin incelendiği bu çalışmada incelenen örneklerde *STAT5A-AvaI* polimorfizmi yönünden üç genotipin de bulunduğu ve CT genotipli

hayvanların 1. ve 2. laktasyon toplam süt verimi yönünden diğer genotiplerden iyi oldukları belirlenmiştir. Farklı sığır ırklarında aynı polimorfizmin farklı sonuçlar vermesinin incelenen örnek sayısında, ırklarda gen ile bağlantılı genlerde farklı polimorfizmlerin bulunması, genin içindeki veya yakınındaki bölgelerdeki genin ekspresyonunu etkileyen olası farklı mutasyonlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan literatür taramasında *STAT5A* geninde, *STAT5A-AvaI* polimorfizmi dışında farklı polimorfizmler ile süt verim özelliklerinin araştırıldığı birkaç çalışmaya rastlanılmıştır. Bu çalışmaların birinde Çin'de yetiştirilen Holştaynlarda *STAT5A* geninde bulunan iki farklı polimorfizmle 305 günlük süt verimi ve sütteki yağ oranı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (He ve ark. 2012). Benzer şekilde Yunanistan'da yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda yapılan bir çalışmada da *STAT5A* geni ile düvelerde ilkine buzağılama yaşı ve süt verimi arasında ilişki olduğu, *STAT5A* geninin bu özelliklerin iyileştirilmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Oikonomou ve ark. 2011). Bir başka çalışmada ise Polonya'da yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda *STAT5A* geni ile süt verim özellikleri arasında ilişki bulunmadığı belirtilmiştir. Ancak Jersey ırkı sığırlarda *STAT5A* geninin süt verimi ile sütteki yağ ve protein oranları arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Brym ve ark. 2004). Dünya genelinde yetiştirilen kültür sığır ırklarının yanı sıra *STAT5A-MsII* polimorfizminin İtalyan yerli sığır ırklarından Podolica ırkında büyüme özellikleriyle (Selvaggi ve ark. 2016), Agerolese ırkında ise sütteki yağ ve protein oranı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Selvaggi ve ark. 2017). Bir başka İtalyan yerli sığır ırkı olan Agerolese ırkından *STAT5A-MsII* polimorfizm ile sütteki yağ ve protein oranları arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Selvaggi ve ark. 2017).



### 3.2. MYF5-TaqI polimorfizmi ve süt verimi arasındaki ilişki

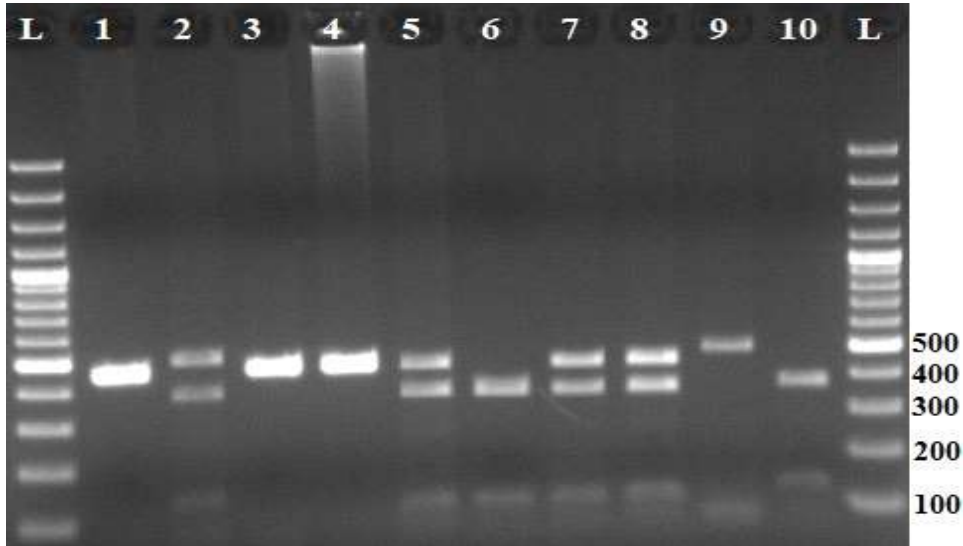
MYF5-TaqI polimorfizmi belirlenmesi için yapılan PCR işlemi sonrasında, elde edilen 512 bp'lik PCR ürünleri TaqI enzimiyle kesilmiş ve üç genotip elde edilmiştir (AA, AG ve GG). AA genotipli bireylerde 512 bp uzunluğunda tek bant, AG genotipli bireylerde 512, 396 ve 116 bp uzunluğunda üç bant ve GG genotipli bireylerde ise 396 ve 116 bp uzunluğunda iki bant gözlemlenmiştir (Şekil 2).

Çalışma sonunda MYF5-TaqI polimorfizmi yönünden incelenen örneklerde AA genotipinin en az görülen genotip olduğu (0.10), A allelinin en düşük frekansa sahip allel olduğu (0.31); GG genotipinin en çok görülen genotip (0.48), G allelinin ise en yüksek frekansa sahip allel olduğu (0.69) görülmüştür. İncelenen Simental ırkı sığırların bu polimorfizm yönünden H-W dengesinde oldukları saptanmıştır (Çizelge 1).

Literatür taramasında farklı sığır ırklarında MYF5-TaqI polimorfizminin araştırıldığı az sayıda çalışmanın olduğu görülmüştür. Simental ırkında ise MYF5-TaqI polimorfizminin araştırıldığı tek bir çalışmaya rastlanılmıştır. Gerek bu çalışmada incelenen örneklerde gerekse diğer çalışmada (Şahin ve Akyüz 2017) incelenen Simental ırkı sığırlarda A allel frekansının ve AA genotip frekanslarının daha düşük olduğu,

her iki çalışmada da yapılan Ki-Kare analizi sonunda Simental ırkı sığırların MYF5-TaqI polimorfizmi yönünden H-W dengesinde oldukları gözlemlenmiştir. Farklı sığır ırklarında MYF5-TaqI polimorfizminin incelendiği çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şahin ve Akyüz 2017, Kıyıcı ve ark. 2018). Ancak incelenen sığır ırkları arasında etçilik özelliği ile öne çıkan Türkiye yerli sığır ırklarından Doğu Anadolu Kırmızısı ırkında A allel frekansının diğer ırklara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Şahin ve Akyüz 2017). Farklı sığır ırklarında MYF5-TaqI polimorfizmi konusunda yeterli verinin olmamasına rağmen, mevcut veriler ışığında süt verimi daha iyi olan ırklarda A allel ve AA genotip frekansının düşük olduğu şeklinde bir spekülasyonun yapılabileceği düşünülmüştür. Fakat kesin karar için farklı sığır ırklarında daha çok çalışma yapılmasının gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışma sonunda incelenen Simental ırkı inekler MYF5-TaqI polimorfizmi ile 1. ve 2. laktasyon toplam ve günlük süt verimleri ile sağımda geçen gün sayısı yönünden genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Çizelge 4). İstatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememesine rağmen 1. ve 2. laktasyonda AA genotipli bireylerin incelenen özellikler yönünden daha iyi oldukları görülmüştür (Çizelge 4).



Şekil 2. 512 bp'lik PCR ürünlerin TaqI restriksiyon endonükleaz enzim kesim sonrası görüntüsü L: 100 bp'lik DNA merdiveni (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, Thermo Scientific, USA); 1, 3, 4, 9: AA genotipi; 2, 5, 7, 8: AG genotipi; 6, 10: GG Genotipi.

Figure 1. Image of TaqI restriction enzyme digestion of 512 bp PCR products; L: 100 bp DNA ladder (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, Thermo Scientific, USA); 1, 3, 4, 9: AA genotypes; 2, 5, 7, 8: AG genotypes; 6, 10: GG genotypes.

Çizelge 4. MYF5-TaqI genotiplerine göre ortalama 305 günlük süt verim özelliklerinin istatistiksel karşılaştırılması (kg).

Table 4. Statistical comparison of average 305 days milk yield traits according to MYF5-TaqI genotypes (kg).

Süt Verim Özellikleri	Genotipler			P Değeri (ANOVA)
	AA (n=20) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	AG (n=86) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	GG (n=96) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	
1. Laktasyon 305SV	64241.35±300.86	6248.63±117.23	6216.20±108.29	0.751
1. Laktasyon GSV	20.9±0.998	19.7±0.370	19.9±0.350	0.368
SGGS	293.8±3.823	295.8±1.971	296.5±1.925	0.831
2. Laktasyon 305SV	7666.20±387.39	7623.3±189.67	7615.4±177.45	0.993
2. Laktasyon GSV	25.1±1.270	25.0±0.622	24.9±0.587	0.983
SGGS	316.9±6.510	312.2±2.635	306.9±2.862	0.203

305SV: 305 Günlük Toplam Süt Verimi; GSV: Ortalama Günlük Süt Verimi; SGGS: Sağımda Geçen Gün Sayısı.  $\bar{x}$ :Aritmetik ortalama;  $S\bar{x}$ : Standart hata; \*İstatistiksel olarak 0.05 düzeyinde önemli P<0.05.

Sığırlarda canlı ağırlık ile süt verimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Lee ve Pollak 2002). Yapılan bazı çalışmalar sonunda *MYF5* geninin büyüme, doğum ağırlığı ve günlük canlı ağırlık artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark. 2017, Li ve ark. 2004).

Yapılan literatür taramasında sadece Holstein ırkında *MYF5-TaqI* polimorfizmi ile süt verimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmıştır (Kıyıcı ve ark. 2018). Söz konusu çalışmada Kıyıcı ve ark. (2018), Holstein ırkında GG genotipli ineklerin 305 günlük süt verimlerinin diğer genotiplilerden yüksek olduğunu bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada incelenen Simental ırkı sığırlarda *MYF5-TaqI* polimorfizmi ile 1. ve 2. laktasyon günlük ve toplam süt verimleri, sağımda geçen gün sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ) (Çizelge 4). İstatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememesine rağmen, Kıyıcı ve ark. (2018) tarafından elde edilen bulgulardan farklı olarak Simental ırkında AA genotipli bireylerin 1.ve 2. laktasyon süt verimlerinin diğer genotiplilerden yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 4). İki ırkta *MYF5-TaqI* polimorfizmi ve süt verimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesinin, her iki çalışmada da farklı ırkların incelenmesinden ve örnek sayısının nispeten az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ancak bu konuda daha çok örneğin incelendiği çalışmaların planlanması gerektiği düşünülmüştür.

#### 4. Sonuç

Türkiye’de yetiştirilen Simental ırkı sığırlarda ilk defa *STAT5A-AvaI* ve *MYF5-TaqI* polimorfizmleri ile süt verimleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada *STAT5A-AvaI* polimorfizminin günlük ve toplam süt veriminin artırılması için yapılacak seleksiyon çalışmalarında kullanılma potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak bu sonucun doğrulanması için daha çok örneğin incelendiği çalışmalarının yapılması gerektiği düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışmayı TYL-2019-8802 proje kodu ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ederiz.

#### Kaynaklar

Ağaoğlu ÖK, Akyüz B, Zeytinli E, Ağaoğlu AR (2020) Investigation of G+ 265C and G-1539A single nucleotide polymorphisms of toll-like receptor 4 gene (*TLR4*) in some cattle breeds raised in Turkey. *Slovenian Veterinary Research* 57(1): 25-31.

Apaydin N, Kemiksiz E, Akcay A (2019) Comparison of manuka honey (Manuka Nd, G) and etacridine lactate (Rivanol) applications in the treatment of infected wounds in cats. *Acta Scientiae Veterinariae* 47: 1-7.

Ardıçlı S, Ustüner H, Arslan Ö, Kandazoğlu O (2019) Variability of *CAPNI* g. 5709 C> G and *MYF5* g. 1911 A> G polymorphisms in beef cattle imported from Brazil to Turkey. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 59(2): 72-78.

Arslan K, Akyüz B, Ağaoglu OK (2015) Investigation of *STAT5A*, *FSHR*, and *LHR* gene polymorphisms in Turkish indigenous cattle breeds (East Anatolian Red, South Anatolian Red, Turkish Grey, Anatolian Black, and Zavot). *Russian Journal of Genetics* 51(11): 1088-1095.

Bao B, Zhang C, Fang X (2010) Association between polymorphism in *STAT5A* gene and milk production traits in Chinese Holstein cattle. *Animal Science Papers and Reports* 28(1): 5-11.

Bayram D, Akyüz B, Arslan K, Özdemir F, Aksel EG, Çınar MU (2019). *DGATI*, *CAST* and *IGF-I* gene polymorphisms in Akkaraman lambs and their effects on live weights up to weaning age. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 25(1): 9-15.

Brym P, Kamiński S, Rusc A (2004) New SSCP polymorphism within bovine *STAT5A* gene and its associations with milk performance traits in Black-and-White and Jersey cattle. *Journal of Applied Genetics* 45(4): 445-452.

Coşier V, Croitoriu V (2012) Research concerning the polymorphic expression of Pit-1 and *STAT5A* genes in cattle. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies* 69(1-2): 70-79.

Dario C, Dario M, Ciotola F, Peretti V, Carnicella D, Selvaggi M (2009a) Analysis of *STAT5A/AvaI* gene polymorphism in four Italian cattle breeds. *Biochem Genetics* 47(9-10): 671-679.

Dario C, Selvaggi M, Carnicella D, Bufano G (2009b) *STAT5A/AvaI* polymorphism in Podolica bulls and its effect on growth performance traits. *Livestock Science* 123(1): 83-87.

Dario C, Selvaggi M (2011) Study on the *STAT5A/AvaI* polymorphism in Jersey cows and association with milk production traits. *Molecular Biology Reports* 38: 5387-5392.

Flisikowski K, Oprządek J, Dymnicki E, Zwierzchowski L (2003) New polymorphism in the bovine *STAT5A* gene and its association with meat production traits in beef cattle. *Animal Science Papers and Reports* 21(3): 147-157.

He X, Chu MX, Qiao L, He JN, Wang PQ, Feng T, Di R, Cao GL, Fang L, An YF (2012) Polymorphisms of *STAT5A* gene and their association with milk production traits in Holstein cows. *Molecular Biology Reports* 39(3): 2901-2907.

Işık R, Bilgen G, Koşum N, Kandemir Ç, Taşkın T (2017) Polymorphism in exon 7 of  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -LG) gene and its association with milk yield in Saanen goats. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, The Special Issue of Second International Balkan Agriculture Congress*, pp. 35-40.

Karşlı T, Balcıoğlu MS, Demir E, Fidan HG, Aslan M, Aktan S, Kamnı S, Karabağ K, Şahin E (2017) Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü’nde yetiştirilen yumurtacı saf tavuk hatlarında yumurta verimi ile ilişkili *IGF-I* ve *NPY* aday genlerindeki polimorfizmlerin belirlenmesi. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 5(9): 1051-1056.

Kıyıcı JM, Arslan K, Akyüz B, Kaliber M, Aksel EG, Çınar MU (2018) Relationships between polymorphisms of growth hormone, leptin and myogenic factor 5 genes with some milk yield traits in Holstein dairy cows. *International Journal of Dairy Technology* 72(1): 1-7.

Kim AR, Kim K M, Byun MR, Hwang JH, Park JI, Oh HT, Kim HK, Jeong MG, Hwang ES, Hong JH (2017) Catechins activate muscle stem cells by *MYF5* induction and stimulate muscle regeneration. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 489(2): 142-148.

Kmieć M, Kowalewska-Luczak I, Wojdak-Maksymiec K, Kulig H, Grzelak T (2010) *STAT5A/AvaI* restriction polymorphism in cows of Polish Red-and-White variety of Holstein Friesian breed. *Russian Journal of Genetics* 46(1): 81-85.

Lee C, Pollak EJ (2002) Genetic antagonism between body weight and milk production in beef cattle. *Journal of Animal Science* 80(2): 316-321.

Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Hansen C, Moore SS (2004) Assessment of positional candidate genes *MYF5* and *igf1* for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos taurus*. *Journal of Animal Science* 82: 1-7.

Oikonomou G, Michailidis G, Kougioumtzis A, Avdi M, Banos G (2011) Effect of polymorphisms at the *STAT5A* and *FGF2* gene loci

- on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows. *Research in Veterinary Science* 91(2): 235-239.
- Sadeghi M, Shahrabak MM, Mianji GR, Javaremi AN (2009) Polymorphism at locus of *STAT5A* and its association with breeding values of milk production traits in Iranian Holstein bulls. *Livestock Science* 123(1): 97-100.
- Sambrook J, Frisch FF, Maniatis T (1989) Spectrophotometric Determination of the Amount of DNA or RNA Appendix E: Commonly Used Techniques in Molecular Cloning. *Molecular Cloning: 3A Laboratory Manual, Second Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Selvaggi M, Dario C, Normanno G, Celano GV, Dario M (2009) Genetic polymorphism of *STAT5A* protein: relationships with production traits and milk composition in Italian Brown cattle. *Journal of Dairy Research* 76(4): 441-445.
- Selvaggi M, Tufarelli V, Pinto F, Centoducati G, Dambrosio A, Santacroce MP, Dario C (2013) Bovine *STAT5A* gene polymorphism analysis and its association with milk composition traits in Jersey cows. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* 3(4): 341-344.
- Selvaggi M, Albarella S, Dario C, Peretti V, Ciotola F (2017) Association of *STAT5A* gene variants with milk production traits in Agerolese cattle. *Biochem Genetics* 55(2): 158-167.
- Selvaggi M, D'Alessandro AG, Dario C (2016) Bovine *STAT5A* gene polymorphism and its influence on growth traits in Podolica breed. *Animal Production Science* 56(7): 1056-1060.
- Şahin Ş, Öner Y, Elmacı C (2013) Esmer ve Siyah Alaca ırkı sığırlarda bazı ekonomik özellikler ile ilişkili gen bölgelerinin PCR-RFLP tekniği ile incelenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi* 19: 235-244.
- Şahin, Akyüz B (2017) Türkiye'de yetiştirilen beş sığır ırkında *MYF5* gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. *Mediterranean Agricultural Sciences* 30(1): 35-38.
- Thornton PK (2010) Livestock production: Recent trends, future prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365: 2853-2867.
- Wiggans GR, Cole JB, Hubbard SM, Sonstegard TS (2017) Genomic selection in dairy cattle: the USDA experience. *Annual Review of Animal Biosciences* 5: 309-327.