

Türkiye’de yetiştirilen beş sığır ırkında *MYF5* gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi

Detection of *MYF5* gene polymorphism with PCR-RFLP method in five cattle breeds breeding in Turkey

Cengiz ŞAHİN¹, Bilal AKYÜZ²

¹Talas İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Kayseri, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

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

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 04 Ekim 2016
Düzeltilme tarihi 09 Kasım 2016
Kabul tarihi 14 Kasım 2016

Anahtar Kelimeler:

Sığır
Genetik belirteç
MYF5
Polimorfizm

ÖZ

Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen Simental (SİM, n= 75), Holstein (HL, n=100), İsviçre Esmeri (ES, n=75), Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK, n= 40) ve Boz Irk (BI, n=40) sığırlarının *MYF5* gen polimorfizminin restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi (RFLP) metoduyla belirlenmesi amaçlanmıştır. *MYF5* allelle ve genotipleri elde edilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünlerine *TaqI* kesim enzimi ile muamele edilmesiyle belirlenmiştir. Çalışmada incelenen ırklar içinde en yüksek AA genotip frekansı DAK (0.20), en yüksek GG genotip frekansı BI (0.53) ve en yüksek AG genotip frekansı ise ES (0.53) ırkında görülmüştür. *MYF5* geni yönünden incelenen ırklar arasında en yüksek A allel frekansı DAK ırkında (0.43), en yüksek G allelinin frekansı ise BI’ta (0.73) bulunmuştur. Çalışma sonunda incelenen beş sığır ırkının da *MYF5* geni yönünden Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür.

ARTICLE INFO

Received 04 October 2016
Received in revised form 09 November 2016
Accepted 14 November 2016

Keywords:

Cattle
Genetic marker
MYF5
Polymorphism

ABSTRACT

The aim of this study was to detection of the *MYF5* gene polymorphism in Simmental (SIM, n=75), Holstein (HL, n=100), Brown Swiss (ES, n=75), East Anatolian Red (EAR, n=40) and Turkish Grey (TG, n=40) cattle breeds raised in Turkey through restriction fragment length polymorphism (RFLP) method. The *MYF5* alleles and genotypes were detected by digesting the polymerase chain reaction (PCR) products with *TaqI* endonuclease enzyme. Among the breeds examined for *MYF5* gene, the highest AA genotype frequency was found in the EAR cattle breed (0.20); the highest GG genotype frequency was found in the TG cattle breed (0.53) and the highest AG genotype frequency was found in the ES cattle breed (0.53). Among the breeds examined, the highest A allele frequency was found in the EAR cattle breed (0.43) whereas the highest G allele frequency was found in the TG cattle breed (0.73). At the end of the study, it was found that examined five cattle breeds were in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) in terms of *MYF5* gene.

1. Giriş

Zootekni biliminin en önemli uğraş alanlarından biri, yüksek genetik değere sahip damızlıkların başarılı bir şekilde seçimini sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi olmuştur. Ancak birçok çiftlik hayvanında generasyonlar arası süre çok uzundur. Bu durum ise yetiştiricilikte, klasik seleksiyon yöntemleri ile istenen genetik ilerlemenin elde edilmesini zorlaştırmaktadır.

Bu sorunun aşılmasında özellikle 90’lı yıllardan sonra çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde giderek artan moleküler genetik yaklaşımların yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Kovács ve ark. 2006). Dünyanın birçok bölgesinde kırmızı et ihtiyacı sığır ve domuzdan karşılanırken ülkemizde kırmızı et ihtiyacı hemen tümüyle sığır ve koyun gibi ruminantlardan

sağlanmaktadır. Türkiye’de yetiştirilen yerli sığır ırkları yetersiz et ve süt verimine sahip geç gelişen ırklardır. Artan nüfusla birlikte et ve sütte karşılaşılan talep artışı, yerli sığır ırklarının yüksek verimli kültür ırkları ile yer değiştirmesi ve yerli ırklarda yoğun düzensiz melezlemelere yol açmıştır. Bu durum ise yerli sığır ırklarını yok olma tehdidiyle karşı karşıya bırakmış ve bazı ırklarında yok olmasıyla sonuçlanmıştır (Ertuğrul ve ark. 2010). Yerli Kara ve Doğu Anadolu Kırmızısı gibi Türkiye’de en yaygın yetiştiriciliği yapılan yerli sığır ırkları da bu sorundan etkilenmişlerdir.

Et veriminin en büyük göstergesi olan karkas ağırlığı ile ilişkili olan büyüme, doğum öncesi (prenatal) ve doğum sonrası

(postnatal) büyüme olmak üzere iki bölüme ayrılır. Kas gelişimi büyüme, olgunlaşma ve fonksiyonların gelişmesi sırasında embriyonun uterusu bağlanması hücrel artış ve özelleşmeleri kapsayan çok boyutlu olaylar zinciridir (Ujan ve ark. 2011a). Bu olay başlıca miyojenik belirleme (myogenic determinasyon-*MyoD*) gen ailesi tarafından kontrol edilir. *MyoD* gen ailesi miyojenik faktör 3 (*MYF3* veya *MyoD*), miyojenik faktör 4 (*MYF4*), miyojenik faktör 5 (*MYF5*) ve miyojenik faktör 6 (*MYF6*) olarak adlandırılan dört üyeden oluşmaktadır (Bhuiyan ve ark. 2009). *MYF5* ve *MYF6* genlerinin kas liflerinin uzaması ve büyümesi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Bhuiyan ve ark. 2009). Bunlardan *MYF5* sığırlarda doğum ağırlığı, sütten kesime kadar günlük ortalama canlı ağırlık artışı ve günlük canlı ağırlık artışı ile karkas ve et kalitesi ile ilgili olduğu (Chung ve ark. 2005; Seong ve ark. 2011), bu nedenle de *MYF5* geninin sığırlarda büyüme ve et kalite karakterleri için bir aday gen olabileceği bildirilmiştir (Li ve ark. 2004). *MYF5* geni, sığır karyotipinin otozomal beşinci (BTA-5) kromozomunda kodlanmaktadır (Li ve ark. 2002; Maak ve ark. 2006).

Yapılan literatür taraması sonucunda farklı sığır ırklarında et verimi ve et kalitesi yönünden markır olabileceği düşünülen *MYF5* gen polimorfizmi ile ilgili çalışma sayısının az olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, gerek Türkiye yerli sığır ırkları gerekse Türkiye’de yetiştirilen kültür ırkı sığırlarda *MYF5* geninin allelik yapılarının belirlenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen yerli sığır ırklarından Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) ve Boz İrk ile kültür ırkı sığırlardan Holstein, Simental ve İsviçre Esmerlerinde *MYF5* gen polimorfizminin PCR-RFLP metodu ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada, 75 baş Simental, 100 baş Holstein, 75 baş İsviçre Esmeri, 40 baş DAK ve 40 baş Boz İrk olmak üzere toplam 330 baş dişi ve erkek hayvan incelenmiştir. DNA izolasyonu Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında saklanan kanlar kullanılarak fenol-kloroform yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Sambrook ve ark. 1989). Ayrıca proje başvuru aşamasında Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 11.12.2013 tarih ve 13/157 karar nolu Etik Kurul Onayı alınmıştır.

İncelenen hayvanlarda *MYF5* genotiplerinin belirlenmesi için yapılacak PCR işleminde, ileri (forward) primer olarak: 5'

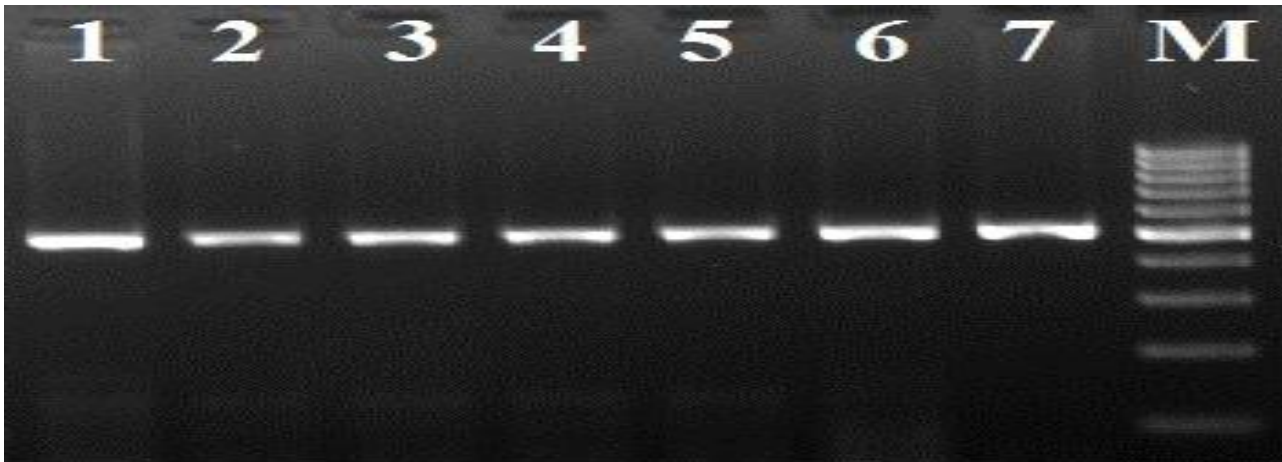
AGA GCA GCA GTT TTG ACA GC 3'; ters (reverse): 5' GCA ATC CAA GCT GGA TAA GG 3' (GenBank erişim numarası M95684) olacak şekilde Primer3 (version 0.4.0) program ile dizayn edilen bir primer seti kullanılmıştır. PCR karışımı toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde; 50 ng genomik DNA, 1 U Taq polimeraz (5 U/µl), 200 µM dNTP, 2.5 mM MgCl₂, 10 pM forward ve revers primer kullanılarak hazırlanmıştır. PCR protokolü ise, 94 °C’de 4 dakika tutulduktan sonra, bir döngüsü; 94 °C’de 30 saniye, 58 °C’de 60 saniye ve 72 °C’de 60 saniye olacak şekilde 38 döngü olarak yapılmıştır. Son döngüyü takiben tüpler 72 °C’de 4 dakika tutularak PCR işlemi sonlandırılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri % 2’lik agaroz jel üzerinde görüntülenmiştir. Görüntülenmenin sonunda 490 bp’lik bantların elde edildiği PCR ürünleri *TaqI* restriksiyon enzim ile kesilmiştir. Elektroforez sonunda jel fotoğrafları çekilerek incelenen her bireyin *MYF5* genotipleri kayıt edilmiştir. İncelenen örneklerde, bireylerin genotipik yapıları ve allel frekansları gen sayımı ile belirlenmiştir (Nei 1987). İstatistik analizler, PopGene32 programı kullanılarak otomatik olarak hesaplanmıştır (Yeh ve ark. 2000).

3. Bulgular

Yapılan PCR sonunda 490 bp’lik PCR ürünleri elde edilmiştir (Şekil 1). Elde edilen PCR ürünleri *TaqI* restriksiyon endonükleaz ile kesilmiştir.

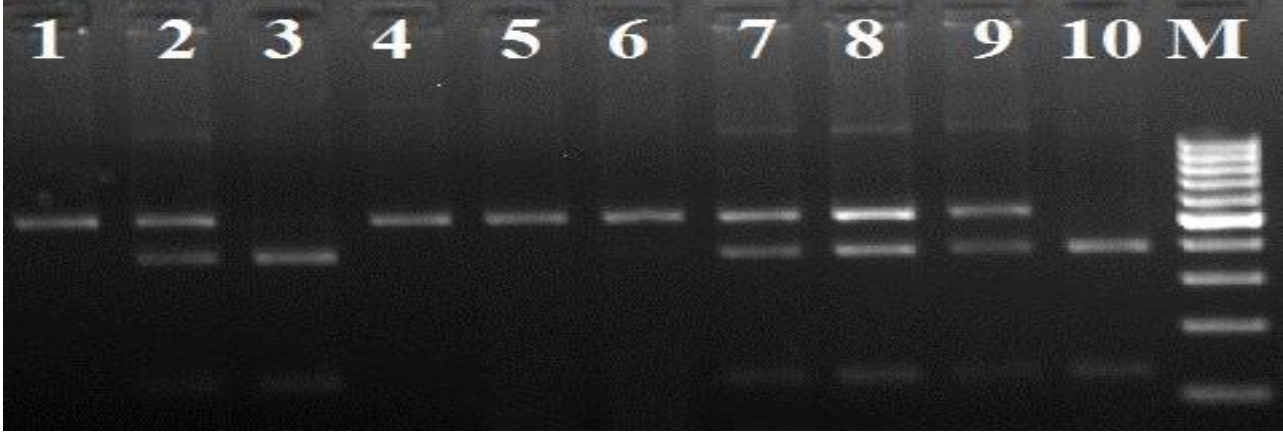
Yapılan enzim kesim işlemi sonunda “AA” genotipli bireylerde 490 bp’lik tek bant, “AG” genotipli bireylerde 490, 367 ve 123 bp’lik üç bant ve “GG” genotipli bireylerde ise 367 ve 123 bp’lik iki bant gözlenmiştir (Şekil 2).

Çalışma sonunda *MYF5* geni yönünden incelenen sığır ırkları arasında en yüksek AA genotip frekansının DAK ırkında, en yüksek AG genotip frekansının İsviçre Esmeri ırkında ve en yüksek GG genotip frekansının ise Boz İrkta olduğu bulunmuştur. İncelenen ırklarda en yüksek A allel frekansının DAK ırkta ve en yüksek G allel frekansının ise Boz İrk’ta olduğu görülmüştür. *MYF5* geni yönünden incelenen sığır ırklarının genotip ve allel frekansları Çizelge 1’de verilmiştir. Yapılan Ki-kare test sonuçlarına göre incelenen sığır ırklarının hepsinin *MYF5* lokusu yönünden Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) oldukları görülmüştür.



Şekil 1. 490 bp’lik PCR ürünleri, M: 100 bp’lik DNA merdiveni.

Figure 1. 490 bp PCR products, M: 100 bp DNA ladder.



Şekil 2. 1, 4, 5 ve 6; “AA” genotipili bireyler: 2, 7, 8 ve 9; “AG” genotipili bireyler: 3 ve 10; “GG” genotipili bireyler: M; 100 bp’lik DNA merdiveni.
Figure 2. 1, 4, 5 and 6; “AA” genotypes: 2, 7, 8 and 9; “AG” genotypes: 3 and 10; “GG” genotypes: M; 100 bp DNA ladder.

Çizelge 1. MYF5 geni yönünden incelenen sığır ırklarında genotip ve allel frekansları.

Table 1. Allele and genotype frequencies of MYF5 in examined cattle breeds.

Irk	MYF5			Allel Frekansı (%)		Ki-kare (X^2) HWE
	Genotip Frekansı (%)			A	G	
Simental	9 (0.12)	35 (0.47)	31 (0.41)	0.35	0.65	$X^2=0.03$ P=0.85 (Sd=1)
Holstein	7 (0.07)	50 (0.50)	43(0.43)	0.32	0.68	$X^2=2.22$ P=0.14 (Sd=1)
İsviçre Esmeri	7 (0.09)	40 (0.53)	28 (0.38)	0.36	0.64	$X^2=1.86$ P=0.17 (Sd=1)
DAK	8 (0.20)	18 (0.45)	14 (0.35)	0.43	0.57	$X^2=0.25$ P=0.62 (Sd=1)
Boz Irk	3 (0.07)	16 (0.40)	21 (0.53)	0.27	0.73	$X^2=0.00$ P=0.98 (Sd=1)

DAK: Doğu Anadolu Kırmızı; Sd: Serbestlik Derecesi.

4. Tartışma ve Sonuç

Çin’de yetiştirilen *Bos taurus*’tan köken alan yerli sığır ırklarında MYF5 gen polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada, A allelinin incelenen ırklardan Jiaxian red ırkında 0.80; Nanyang ırkında 0.80; Qinchuan ırkında ise 0.86 olarak en yüksek frekansta olduğu bildirilmiştir. İncelenen her üç ırkta da AA genotipinin en yüksek frekansta olduğu ve GG genotipinin ise bulunmadığı bildirilmiştir (Ujan ve ark. 2011b). Benzer şekilde bir yerli Kore sığır ırkı olan Hanwoo sığır ile Avrupa orijinli etçi bir sığır ırkı olan Angus sığırlarında MYF5 gen polimorfizmi araştırılmış ve çalışma sonunda, Hanwoo sığır ırkında G allel frekansının (0.74), Angus ırkında ise A allel frekansının (0.51) yüksek olduğu; Hanwoo sığır ırkında GG (0.55) genotipinin, Angus ırkında ise AG genotip frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğu; yine Angus ırkında AA (0.29) frekansının GG genotipinden (0.26) yüksek olduğu bildirilmiştir (Seong ve ark. 2011). Benzer şekilde Macaristan’da Avrupa orijinli etçi bir sığır ırkı olan Charolais ırkında yapılan MYF5 gen polimorfizminin incelendiği bir çalışmada AG genotip frekansının (0.48) diğer iki genotipten yüksek olduğu, AA genotip frekansının ise (0.36) GG genotipinden (0.16) yüksek olduğu bildirilmiştir (Kišacová ve ark. 2009).

Bu çalışmalarla uyumlu bir şekilde Türkiye’de yetiştirilen Avrupa orijinli sığır ırklarından Simental, Holstein ve İsviçre Esmeri ırkları ile Ülkemizde yerli sığır ırklarından Boz Irk ve DAK sığır ırklarının incelendiği bu çalışmada, Boz Irk dışındaki dört ırkta da AG genotip frekansının diğer iki genotipe göre yüksek olduğu görülmüştür. Boz Irk’ta ise GG genotip frekansı (0.53) diğer iki genotipten yüksek bulunmuştur. MYF5-AA genotip frekansı incelenen beş ırkta da çok düşük bulunmuş, en yüksek AA genotip frekansı ise DAK ırkında (0.20) bulunmuştur. MYF5-GG genotip frekansı en düşük olarak incelenen ırklardan DAK (0.35) ırkında bulunmuştur. Çalışma

sonunda incelenen ırkların hepsinde MYF5-G allel frekansı A allelinden yüksek bulunmuştur. Bu durum ise yerli sığır ırklarının (DAK ve Boz Irk) MYF5 geni yönünden Avrupa orijinli sığır ırklarına benzedikleri göstermektedir.

Sığırlarda MYF5 geni polimorfizmi ve et verimi arasındaki ilişki ilk olarak Angus ırkında ortaya konmuştur (Li ve ark. 2004). Daha sonra, farklı sığır ırklarında da MYF5 gen polimorfizmi ve et kalite özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde Polonya’da yetiştirilen Angus, Charolais, Hereford, Limousin, Piedmontese, Simmental, Holstein ile Polonya Kırmızı sığırını ve Białogrzbieta olarak adlandırılan iki Polonya yerli sığır ırkında MYF5 geni ile bazı et verim özellikleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma sonunda incelenen dokuz ırktan sadece Holstein ırkında MYF5 geni ile musculus longissimus dorsi ağırlığı ve bu kastaki yağ miktarı arasında ilişkili olduğu bildirilmiştir (Robakowska-Hyzorek ve ark. 2010).

Çin’de yetiştirilen, *Bos taurus*’tan köken alan dört (Jiaxian red, Luxi, Nanyang ve Qinchuan) yerli sığır ırkında MYF5 geni ile sırt yağı kalınlığı, canlı ağırlık artışı, bel gözü kası ağırlığı, bel gözü kası genişliği, mermerleşme, lezzet ve su tutma kapasitesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma sonunda incelenen sığır ırklarında; MYF5 geni ile kesim ağırlığı, bel gözü kası ağırlığı, bel gözü kası genişliği ve et kalite özelliklerinden su tutma kapasitesi arasında ilişki olduğu, ancak sırt yağı kalınlığı, mermerleşme ve lezzet ile bir ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir (Ujan ve ark. 2011a). Ancak, Çin’de yetiştirilen Jiaxian red, Nanyang ve Qinchuan ırklarında yapılan bir başka çalışmada MYF5-AA genotipli bireylerin intramusküler yağlanma ve su tutma kapasitesi yönünden AG genotipinden daha üstün olduğu ve MYF5-A allelinin incelenen bu üç Çin yerli sığır ırkında et kalite özelliklerinin iyileştirilmesi için faydalı allel olabileceği bildirilmiştir (Ujan ve ark. 2011b). Benzer şekilde, bir yerli Kore sığır ırkı olan

Hanwoo sığır ırkında *MYF5* geni ile et verimi ve et kalitesi arasındaki ilişki araştırıldığı bir başka çalışmada; *MYF5* geninin sığırlarda et verimi ve et kalitesinin iyileştirilmesi çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir (Bhuiyan ve ark. 2009). Yine Hanwoo ırkında canlı ağırlık artışı ve *MYF5* gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada; *MYF5* geninde belirlenen polimorfizmler ile 12. ay canlı ağırlığı ve günlük canlı ağırlık artışı arasında ilişkili olduğu, ancak *MYF5* geni ile doğum ağırlığı ve altıncı ay canlı ağırlığı arasında ilişkili olmadığı belirlenmiştir (Chung ve ark. 2005). Benzer şekilde Hanwoo ırkına ait toplam 269 sığırdaki *MYF5* geni ile bu hayvanlarda ki kesim öncesi canlı ağırlığı, karkas ağırlığı, muskulus longissimus dorsi çapı, mermerleşme, doğum ağırlığı ve doğum sonrası bir aylık ağırlık arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma sonunda *MYF5* geninin AG genotipinin daha düşük altı aylık canlı ağırlık artışına, AA genotipinin ise daha ince bir sırt yağı kalınlığına neden olduğu belirlenmiş ve *MYF5* geni bu ırkta büyüme ve karkas özellikleri için aday gen olarak önerilmiştir (Seong ve ark. 2011). Charolais ırkında *MYF5* geninin süten kesim öncesi ve sonrası daha yüksek günlük canlı ağırlık artışı ile ilişkili olduğu bildirmiştir (Kišacová ve ark. 2009).

Kore’de yetiştirilen *Bos taurus* (Hanwoo, Angus, Simmental, Hereford ve Shorthorn) ve *Bos indicus*’tan (Brahman ve Red Chittagong) köken alan yedi farklı sığır ırkında *MYF5* geni ve et verimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada; *MYF5*-AA genotipli bireylerin GG genotiplilerden % 3.52 ve AG genotiplilerden ise % 3.70 daha yüksek canlı ağırlığa sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca AA genotipli bireylerin karkas randımanının diğer iki genotipten daha iyi olduğu bildirilmiştir (Chung ve ark. 2005). Türkiye’de yetiştirilen Simental, Holstein, İsviçre Esmeri, DAK ve Boz Irk’ta *MYF5*-*TaqI* polimorfizminin incelendiği bu çalışmada, incelenen ırklardan DAK ırkında *MYF5*-AA genotipinin diğer dört ırktan (0.20) yüksek bulunmasının, bu ırkın incelenen ırklar arasında yetiştiricilerin et verimini önde tuttuğu tek ırk olması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Çünkü DAK ırkı dışındaki ırklardan özellikle Avrupa orijinli Simental, Holstein ve İsviçre Esmeri ırklarında, yapılan ıslah çalışmalarında süt verimi ön planda tutulmaktadır. DAK ırkında ise et verimi ırkın en önemli verimi olduğu için yapılan yetiştiricilikte et verimi iyi olan bireylerin elde bulundurulmasının, bilinçsiz olarak AA genotip frekansının artırmış olduğu düşünülebilir. Ayrıca çalışmada incelenen ırkların *MYF5* geni yönünden polimorfik olmaları ve HW dengesinde olmaları nedeniyle, Türkiye’de sığır başına et veriminin artırılması amacıyla yapılacak çalışmalarda bu genin kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sığır yetiştiriciliğinde *MYF5* gen polimorfizminin özellikle et verimi ve et kalitesi için yapılacak seleksiyon çalışmalarında genetik belirteç olarak kullanılabileceği yönünde bildirimler vardır (Bhuiyan ve ark. 2009; Seong ve ark. 2011; Ujan ve ark. 2011b). Ancak *MYF5* genindeki farklı polimorfizmler ile et verimi ve et kalite parametreleri arasında ilişkilerin daha kesin olarak belirlenebilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu polimorfizmlerin, genetik çalışmalar ve düşük verimli yerli ırkların önemli verim özellikleri yönünden iyileştirilme çalışmaları için de kullanılabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Araştırma ekibi olarak bu araştırmayı destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerinin Birimine teşekkür ederiz. Bu araştırma Erciyes Üniversitesi EUBAP tarafından

(proje kodu TYL-2014-5253) desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Bhuiyan MSA, Kim NK, Cho YM, Yoon D, Kim KS, Jeon JT, Lee JH (2009) Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. *Livestock Science* 126: 292-297.
- Chung ER, Kim WT (2005) Association of SNP marker in IGF-I and MYF5 candidate genes with growth traits in Korean cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18: 1061-1065.
- Ertuğrul M, Dellal G, Elmacı C, Akın AO, Pehlivan E, Soysal Mİ, Arat S (2010) Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı. VII. Türkiye Ziraat Mühendisliği Kongresi Ankara, s. 179-198.
- Kišacová J, Kúbek A, Meluš V, Čanakyová Z, Řehout V (2009) Genetic polymorphism of MYF-5 and myostatin in Charolais breed. *Journal of Agrobiolgy* 26 (1): 7-11.
- Kovács K, Völgyi Csik J, Zsolnai A, Györkös I, Fésüs L (2006) Associations between the *AluI* polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Archives Animal Breeding* 49(3): 236-249.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Moore SS (2002) The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *Journal of Animal Science* 80: 1187-1194.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Hansen C, Moore SS (2004) Assessment of positional candidate genes MYF5 and IGF-I for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos taurus*. *Journal of Animal Science* 82: 1-7.
- Maak S, Neumann K, Swalve H (2006) Identification and analysis of putative regulatory sequences for the MYF5/MYF6 locus in different vertebrate species. *Gene* 379: 141-147.
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Robakowska-Hyzorek D, Oprzadek J, Zelazowska B, Olbromski R, Zwierzchowski L (2010) Effect of the g.-723G → T polymorphism in the bovine myogenic factor 5 (Myf5) gene promoter region on gene transcript level in the longissimus dorsi muscle and on meat traits of polish Holstein-Friesian cattle. *Biochemical Genetics* 48: 450-464.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Vol. 3, 2nd Edition., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold-Spring Harbor, New York.
- Seong J, Don Oh J, Cheong C, Lee KW, Lee HK, Suh DS, Gwang JJ, Do Park K, Kong HS (2011) Association between polymorphisms of Myf5 and POU1F1 genes with growth and carcass traits in Hanwoo (Korean cattle). *Genes & Genomics* 33: 425-430.
- Ujan JA, Zan LS, Ujan SA, Wang HB (2011a) Association between polymorphism of Myf-5 gene with meat quality traits in indigenous Chinese cattle breeds. *International Conference on Asia Agriculture and Animal*, Hong Kong, p. 50-55.
- Ujan JJ, Zan LS, Wang HB, Ujan SA (2011b) The effect of myogenic factor 5 polymorphism on the meat quality in Chinese *Bos taurus*. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 76(4): 373-377.
- Unanian MM, Barreto CC, Cordeiro CMT, Freitas AR, Josahkian LA (2002) Possible associations between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 45(3): 293-299.
- Yeh F, Yang RC, Boyle T (2015) Popgene (v.1.32), Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis, 2000. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe>, Accessed: 31 August 2015.