

KANGAL ve GÜNEY KARAMAN KOYUNLARINDA FecB, FecX^G, FecX^H ALLELLERİNİN PCR-RFLP YÖNTEMİ KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI

(An Investigation of Presence of FecB, FecX^G, FecX^H Allele in Kangal and Güney Karaman
Sheep Using PCR-RFLP Method)

Taki KARSLI¹

Emine AH N¹

Bahar ARGUN KARSLI¹

Murat GÖKÇE EREN¹

Murat Soner BALCIO LU¹

¹ Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, 07070 Antalya

Geli Tarihi: 25.03.2011

Kabul Tarihi: 06.01.2012

ÖZET

Bazı koyun türlerinde tespit edilen majör gen allelleri ovulasyon oranını ve bir batıda doğan yavru sayısını artırmaktadır. Koyunlarda ovulasyon oranını etkileyen bu majör gen allelleri bir mutasyon sonucu oluşmuştur. Ovulasyon oranını artıran, bilinen bazı mutasyonlar Bone Morphogenetic Protein Receptor-IB/BMP-1B (FecB), Bone Morphogenetic Protein-15/BMP-15 (FecX^B, FecX^G, FecX^H, FecX^L, FecX^R, FecX^I) ve Growth Differentiation Factor-9/GDF-9 genleri üzerindedir. Bu çalışmada Türkiye'de yetiştirilen Kangal ve Güney Karaman koyunlarında FecB, FecX^G ve FecX^H allellerinin varlığını araştırmak amacıyla Kangal (42 örnek) ve Güney Karaman (29 örnek) koyunlarında toplam 71 örnek PCR-RFLP metodu kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuç olarak, incelenen 71 örnekte FecB, FecX^G ve FecX^H allelleri tespit edilememiştir. Sonuç olarak incelenen 71 örnekte FecB, FecX^G ve FecX^H allelleri tespit edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: BMP-1B, BMP 15, çoklu doğum, koyun

SUMMARY

Major genes increase ovulation rate and litter size in some sheep breeds. Alleles of these major genes affecting ovulation rate in sheep are the result of a mutations. Primary mutations that increase ovulation rate in sheep were located on Bone Morphogenetic Protein Receptor IB/BMP-1B (FecB), Bone Morphogenetic Protein 15/BMP-15 (FecX^B, FecX^G, FecX^H, FecX^L, FecX^R, FecX^I) and Growth Differentiation Factor 9/GDF-9 genes. In this study, the presence of FecB, FecX^G and FecX^H allele were investigated in Kangal and Güney Karaman sheeps reared in Turkey. In order to determine these allele in Kangal (n=42) and Güney Karaman (n=29) sheeps, a total 71 samples were analyzed by using PCR-RFLP method. As a result of examined in totally 71 samples FecB, FecX^H and FecX^G allele were not determined.

Key Words: BMP-1B, BMP 15, prolificacy, sheep

G R

Koyun yeti tiricili i Türkiye hayvanc,l , ve k,rsal ekonomi aç,s,ndan çok önemlidir. Türkiye 2009 y,l,ndaki yakla ,k 24 milyon koyun varl , ile Avrupa ve dünyada önemli paya sahiptir (3). TÜ Kœn 2009 y,l, verilerine göre Türkiye'de toplam k,r,m,z, et üretiminin % 17.3œi, sût üretiminin de % 6.1œi koyundan sa lanmaktadır (2).

Türkiye koyun varl ,n,n büyük bir bölümünü Akkaraman koyun ,rk, olu turmaktadır. Akkaraman koyun ,rk,n,n de i ik bölgelerde farklı,k gösteren varyeteleri mevcuttur. Bunlardan Kangal lokal bir tip olup, yo un olarak Sivas ve Malatya illerinde yeti tirilmektedir. Akkaraman ,rk,n,n di er bir varyetesi oldu u dü ünülen Güney Karaman (Karakoyun) ise Güney Toroslar bölgesinde yeti tirilmektedir. Güney Karamanlar genel olarak siyah, kahverengi, gri, beyaz veya siyah alaca renklidir (31). Göçer sistemle yeti tirilen Güney Karaman koyun ,rk, yok olma tehdidi alt,nda bulundu u için G,da Tar,m ve Hayvanc,l,k Bakanl , taraf,ndan gen kaynaklar,n,n korunmas, kapsam,na al,nan koyun ,rk,lar,ndand,r (1).

Et, sût, döl verimi gibi kantitatif karakterler çok say,da genin etkilerine göre ekillenir. Yani kal,t,m, poligeniktir. Kantitatif karakterlerin temel kal,t,m,, ilgili genlerin etkileri toplam, ile aç,klanm, t,r (16). Ancak son y,llarda evcil hayvanlar,n verim özelliklerinin poligenik olmakla birlikte kimi majör gen etkilerinin de (poligen+majör gen) söz konusu oldu una ili kin bilgiler ilgi çekici

boyutlara ula m, t,r. Verim özellikleri için "majör genler" olarak adland,r,lan büyük etkili genlerin belirlenmesi ve kullan,m, genetik ilerleme oran,n,n art,r,lmas, için önemli potansiyel olu turmaktadır. Majör genler bir çift allel taraf,ndan determine edilmekte ve basit Mendel kal,t,m, izlemektedir (5).

Çiftlik hayvanlar,nda ekonomik önemi olan özelliklerle ilgili bilinen majör genler içerisinde, koyunlardaki döl verimi ile ilgili olanlar öne ç,km, durumdad,r. Koyunlarda çoklu do umu etkileyen majör genler bir mutasyon sonucunda olu mu tur. Çoklu do umu art,rd, , bilinen ba l,ca mutasyonlar,n Bone Morphogenetic Protein Receptor IB (BMPR-IB), Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP-15) ve Growth Differentiation Factor 9 (GDF-9) genleri üzerinde oldu u bildirilmi tir (8, 9).

Koyunlarda ovulasyon oran,n, ve buna ba l, olarak bir bat,nda do an yavru say,s,n, art,rd, , belirlenen ilk majör gen Avustralya Booroola Merinoslar,nda tespit edilen Booroola genidir. Booroola geni için heterozigot hayvanlarda ovulasyon oran, (koyun ba ,na) 1.5 kat, homozigot hayvanlarda ise 3 kat fazla olmaktadır. Ovulasyon oran,ndaki bu art, bir bat,nda do an yavru say,s,n, s,ras,yla %100 ve %150 art,rmaktadır (8). nsanda BMPR-IB gen bölgesinin baz dizilimi ile koyunlarda 6. kromozom üzerinde bulunan Booroola gen bölgesinin dizilimi ayn,d,r ve bu genin 746. nükleotidinde adenin ile guanin bazlar,n,n yer de i tirmesine ba l, olarak glutamin amino asiti yerine arginin amino asidi kodlanmaktadır. Koyunlardaki

BMPR-IB geninde meydana gelen bu nokta mutasyonu sonucu yeni oluşan allel fekonditeyi artırır, bu için FecB geni olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca ilk olarak Booroola koyunlarında tespit edildiği için Booroola geni de denilmektedir (25, 29, 32).

BMP-15 geni X kromozomu üzerinde haritalanmış ve şu ana kadar bu gen üzerinde farklı mutasyonlar sonucu meydana gelen altı allel belirlenmiştir. Bu alleller FecX^I (Inverdale), FecX^H (Hanna), FecX^G (Galway), FecX^B (Belclare), FecX^R (Rasa Aragonesa) ve FecX^L (Lacaune) olarak adlandırılmıştır (13, 24, 32). Bu allellerin hepsi fenotip üzerinde benzer etkilere sahiptir. BMP-15 genindeki herhangi bir allel için heterozigot hayvanlarda ovulasyon oranı bu alleli taşıyanlara göre 1-1.5 kat daha fazla olmaktadır. BMP-15 genindeki bu allellerden birini homozigot olarak taşıyan hayvanlarda ise çok sayıda follikül oluşur. Ancak folliküllerin gelişmemesinden dolayı, bu hayvanlar kısır olmaktadır. BMP-15 genindeki Hanna mutasyonuna BMP 15 geni üzerinde 67. pozisyonda C ile T arasındaki baz değişimi neden olur. Bu nükleotid değişimi ise glutamik asit (Glu) yerine stop kodunu oluşturarak proteinin vaktinden önce sonlandırılmasına neden olur. Galway mutasyonuna ise BMP-15 geninde 718. pozisyonda benzer olarak C ile T arasındaki baz değişimi neden olur. Bu nükleotid değişimi glutamin (Gln) yerine erken bir stop kodunu oluşturmasını sağlar (10, 13, 22).

Majör genler tarafından sağlanan verim artırılmasından en üst düzeyde yararlanabilmek için öncelikle bu genlerin varlığı ve etki düzeyleri

gösterilmelidir. Ayrıca her bir bireyin söz konusu lokustaki genotipinin belirlenmesi ve çiftleşme planlarının buna göre yapılması gerekir (4).

Moleküler genetik alanındaki gelişmeler, ekonomik özelliklerin ortaya çıkmasını, sağlayan gen bölgelerinin veya majör genlerin tespitine olanak vermektedir. Bu durum, seleksiyon yapılacak özelliklerin erken dönemde tespit edilmesini sağlamaktadır. Hayvan sağlığında kullanılan bu genler hem dişi hem de erkek hayvanlarda, doğumdan hemen sonra saptanabilir. Bu durum seleksiyonla sağlanacak genetik ilerlemenin daha fazla olmasına olanak tanımakta ve Marker Destekli Seleksiyon (MAS = Marker Assisted Selection) olarak adlandırılmaktadır (26).

Majör genlerin moleküler temeli genellikle tek nükleotid değişimlerinin neden olduğu nokta mutasyonlardır. Nadir olarak BMP 15 genindeki FecX^R alleli gibi delesyon mutasyonu sonucu oluşan majör genlerde vardır. Eğer mutasyonu içeren bölgeyi çoğaltacak primerler ve mutasyonu tanıyan restriksiyon enzimi (RE) biliniyorsa nokta mutasyonların belirlenmesinde kullanılan en yaygın DNA marker yöntemi Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Uzunluk Parça Polimorfizmi (PZR-RFLP) metodudur.

Bu çalışmada, Kangal ve Güney Karaman koyunlarında FecB, FecX^H ve FecX^G allellerini tanımlamak, belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Ara t,rman,n hayvan materyalini olu turan Kangal koyunlar,na ait örnekler Kahramanmara ili Elbistan ilçesindeki i letmelerden, Güney Karaman koyunlar,na ait örnekler ise Antalya ili Manavgat ve Serik ilçelerindeki i letmelerden rasgele seçilerek toplanm, t,r.

Kan Örneklerinin Al,nmas,

DNA izolasyonu için kullan,lacak kan örnekleri Vena jugularisten steril tek kullan,ml,k i nelerle 10 ml'dik EDTAØ, tüplere al,nm, t,r. Al,nan kan örnekleri so uk zincirde Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Genetik Laboratuvar,na en k,sa sürede getirilmi ve DNA izolasyonu yap,lana kadar -20°CØde korunmu tur.

Genomik DNA zolasyonu

Genomik DNA, ticari bir DNA izolasyon kiti (Sigma Aldrich, USA) kullan,larak izole edilmi tir. Elde edilen DNAØdar,n kalitatif ve kantitatif özellikleri, spektrofotometre ve %1Ødik agaroz jellerde belirlenmi daha sonra DNAØdar 50 ng/µl olacak ekilde seyreltilmi tir.

PZR-RFLP lemi

PZR i lemi için daha önce yap,lan çal,malar incelenmi ve ÇizelgeØ de gösterilen primerler kullan,lm, t,r. DNAØdar bu

primerler ile PZRØda ço alt,ld, ,nda, FecB alleli için 190, FecX^H alleli için 240 ve FecX^G alleli için 141 baz çifti (bç) uzunlu unda bantlar,n elde edilmesi beklenmektedir. PZR i lemi ilk denatürasyon 95°CØde 5 dak, denatürasyon 95°CØde 40 sn, yap, ma FecB ve FecX^G alleli için, 62• CØde 40 sn, FecX^H alleli için 57•CØde 30 sn, uzama 72• CØde 45 sn, son uzama ise 72•CØde 5 dk olmak üzere 30 döngü olarak uygulanm, t,r. PZR reaksiyon kar, ,m, ve kullan,lan miktarlar Çizelge 2Øde gösterilmi tir.

PZR i lemi sonunda elde edilen PZR ürünleri, FecB allelini belirlemek için *AvaII* (G/GACC), FecX^H alleli için *AhII* (A/CTAGT), FecX^G alleli için *HinfI* (G/ANTC) restriksiyon enzimleri ile kesime b,rak,lm, t,r. Kesim i lemi 10µl PZR ürünü, 10U kesim enzimi, 2.5 µl enzim buffer ve 2.5 µl H₂O olmak üzere 15 µl hacminde, 37•CØde 3 saat olarak uygulanm, t,r. Kesim sonras,nda FecB allelini homozigot olarak bulunduran bireylerde 160 bç uzunlu unda tek bant, heterezigot bireylerde 190bç ve 160bç uzunlu unda iki bant bulunmas, gerekir. Bu alleli ta ,mayan bireylerde ise 190 bç uzunlu undaki PZR ürünleri kesilmeden kal,r. FecX^H alleli için kesim i leminden sonra normal bireylerde 240 bç uzunlu undaki PZR ürünleri kesilmeden kal,rken mutasyonu ta ,yan bireylerde 218 bç ve 22 bç uzunlu unda iki bant olmas, gerekir.

Çizelge 1. PZR için kullanılan primerler

Gen	Allel	Primer	Primer Sekans, (5' 3')	Kaynak
BMPR-IB	FecB	FB	CCAGAGGACAATAGCAAAGCA AA	9, 17
		RB	CAAGATGTTTTTCATGCCTCATCAACACGGTC	
BMP-15	FecX ^H	FH	TATTTCAATGACACTCAGAG	14, 30
		RH	GAGCAATGATCCAGTGATCCCA	
	FecX ^G	FG	CACTGTCTTCTTGTTACTGTATTTCAATGAGAC	14, 18
		RG	GATGCAATACTGCCTGCTTG	

Çizelge 2. PZR reaksiyon karışımı, miktar ve markalar,

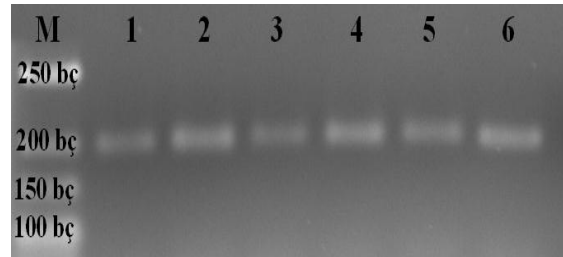
Bileşen	Miktar	Marka-Molarite
H ₂ O	32.8	
MgCl ₂	4µl	Bioron25mM
10X buffer	4µl	Bioron 25mM
dNTPs	5µl	Larova 2.5mM
F Primer	0.6µl	MWG 0.2 µmol
R Primer	0.6µl	MWG 0.2 µmol
Taq	1U	Bioron
DNA	3µl	~ 50 ng/ 1

FecX^G alleli için kesim işleminden sonra normal bireylerde 112 bp ve 29 bp uzunluğunda iki bant oluşurken mutasyona uğramış bireylerde 141 bp uzunluğundaki PZR ürünleri kesilmeden kalmaktadır.

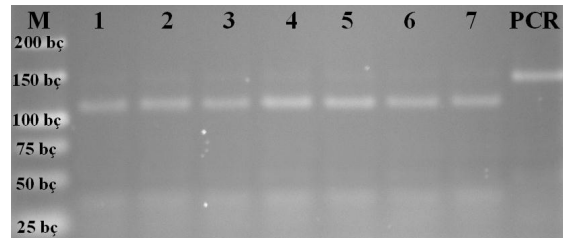
BULGULAR

PZR işlemi sonunda FecB alleli için 190 bp, FecX^G alleli için 141 bp ve FecX^H alleli için 240 bp uzunluğunda bantlar elde edilmiştir. FecB alleli için 190 bp uzunluğundaki bantlar *AvaII* restriksiyon enzimi ile kesime bırakılmış, ancak 160 bp uzunluğundaki bantlar elde edilememiştir (ekil 1). FecX^G alleli için 141 bp

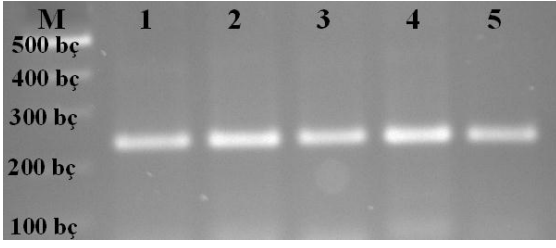
uzunluğundaki PZR ürünleri *HinfI* enzimi ile kesime bırakılmış, tır. Kesim sonunda 112 bp ve 29 bp uzunluğunda iki bant elde edilmiştir (ekil 2). FecX^H alleli için 240 bp uzunluğunda PZR ürünleri *AhlI* restriksiyon enzimi ile kesime bırakılmış, ancak 240 bp uzunluğundaki PZR ürünleri kesilmeden kalmış, tır (ekil 3). Sonuç olarak incelenen 71 örnekte FecB, FecX^H ve FecX^G allelleri tespit edilememiştir.



ekil 1. FecB alleli için PZR ürünlerinin *AvaII* restriksiyon enzimi ile kesimi (% 2 agaroz jel, M: DNA Marker-Fermentase-Kat.No: SM1191).



ekil 2. FecX^G alleli için PZR ürünlerinin *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesimi (% 400 agaroz jel, M: DNA Marker-Fermentase-Kat.No: SM1191)



ekil 3. FecX^H alleli için PZR ürünlerinin *AhII* restriksiyon enzimi ile kesimi (% 2 agaroz jel, M: DNA Marker-Bioron Kat.No:306005).

TARTI MA VE SONUÇ

Geçti imiz on y,lda koyunlarda döl verimi üzerine etkili majör genlerle ilgili yapılan çal, malar önemli ölçüde artm, t,r. Booroola Merinoslar,nda tespit edilen FecB alleli için DNA marker testi geli tirilmesi, hem bu genin ba ka koyun ,rk,lar,nda aranmas,na olanak sa lam, hem de ba ka majör genlerin DNA temelinde tespit edilebilece ini göstermi tir. Dünya üzerinde birçok koyun ,rk,nda (7, 12, 15, 18) ve son zamanlarda baz, keçi ,rk,lar,nda (14, 28, 30) majör genlerin varl, , moleküler olarak ara t,r,lm, t,r.

Booroola geni u ana kadar Booroola Merinosu, Garole, Javanese, Hu, Han ve Kendrapada koyunlar,nda (6, 9, 19, 21) tespit edilmi tir. BMP-15 geni ise Belclare, Cambridge, Romney, Han ve Rasa Aragonesa (6, 8, 13, 24) koyun ,rk,lar,nda tespit edilmi tir.

Önceleri sadece prolifik ,rk,larda bu genlerin varl, , ara t,r,lrken (7, 9, 19), son y,llarda prolifik olmayan ,rk,larda da ara t,r,lm, t,r (15, 18, 23). Kumar ve ark. (19) Garole koyunlar,nda baz, bireylerin tek kuzulamas,na ra men FecB ta ,y,c,s, oldu unu

saptam, t,r. Bunun sebebinin embriyo ölümleri, BMPR-IB geninin ifade edilememesi, besleme faktörlerine ba l, hormonal dengesizlik ve bilinmeyen çevre faktörleri olabilece ini belirtmi lerdir. Türkiye'de koyun yeti tiricili i genellikle meraya dayal, ve kötü çevre ko ullar,nda yap,lmaktad,r. Bu nedenle Türkiye'de yeti tiricili i yap,lan koyun ,rk,lar,nda çoklu do um oran, dü ük olsa bile, majör genler bak,m,ndan DNA düzeyinde incelenmesinde fayda görülmektedir. Booroola geninden farklı olarak BMP 15 geni homozigot hayvanlarda k,s,rl, a neden olmas, bak,m,ndan da ara t,r,lmal,d,r.

Türkiye'de konu ile ilgili u ana kadar yapılan çal, malarda Polat (27) Sak,z ve Sak,z X K,v,rc,k melezlerinde FecB allelini belirleyememi tir. Karsl, ve Balc,o lu (17) Akkaraman, Morkaraman, Da l,ç, vesi, Karaka ve Tuj koyunlar,nda FecB allelini tespit edememi tir. Bu çal, mada da benzer olarak FecB alleli tespit edilememi tir. Di er çal, malardan farklı olarak Kangal ve Güney Karaman koyunlar,n,n BMP 15 genindeki FecX^H ve FecX^G allellerini de ta ,mad, , gösterilmi tir.

Elde edilen sonuçlar Michailidis ve ark. (23) taraf,ndan Yunan Sak,z ve Florina koyunlar,nda FecB alleli, Kasariyan ve ark. (18) taraf,ndan ran Sangsari koyun ,rk,nda FecB ve FecX^G alleli, Kumar ve ark (20) taraf,ndan Marwari ve Bharat Merino koyunlar,nda FecB alleli ve Ghaffari ve ark. (11) taraf,ndan Shal koyunlar,nda FecB alleli için yapılan çal, malar,n sonuçlar,yla benzerdir.

Kumar ve ark. (19) Garole, Garole X Malpura melezi ve Malpura koyunlarında PZR-RFLP yöntemi kullanarak yaptıkları araştırmada Garole ve Garole X Malpura melezlerinde FecB allelini tespit etmiş ancak Malpura koyunlarında bu geni tespit edememiştir. Davis ve ark. (9) 13 ülkeden 21 koyun türünde FecB allelini aramış, ancak sadece Hu ve Han koyun türlerinde bu alleli tespit etmiştir. Chu ve ark. (6) Han koyunlarının hem FecB allelini hem de BMP 15 genindeki FecX^G allelini tanımlamış, göstermiştir. Kumar ve ark. (21) Hindistan'da yetiştirilen çeşitli türlerle yaptıkları çalışmada Kendrapada koyunlarında FecB allelini tespit etmiş, Garole, Malpura, Deccani, ve Kendrapada koyunlarında FecX^G allelini belirleyememiştir.

Bu araştırmada Güney Karaman koyunlarında 29 örnek, Kangal koyunlarında 42 örnek olmak üzere toplam 71 örnek üzerinde uygulanmıştır. Elbette örnek sayısının artması, bu allelleri bulma olasılığını artırır. Yapılan diğer çalışmalar örnek büyüklükleri bakımından karşılaştırıldığında büyük farklılıklar gözle çarpılmaktadır. Örneğin Michailidis ve ark. (23) tarafından Yunan Sakız ve Florina koyunlarında yapılan araştırmada 25 örnek, Kasariyan ve ark. (18) tarafından yapılan araştırmada ise 150 örnek kullanılmıştır. Davis ve ark. (9) tarafından Hu ve Han koyunlarında yapılan çalışmada sadece 12 örnekle FecB allelinin tespit edildiği düşünülecek olursa bu çalışmaların kullanılması yeterli olduğu söylenilebilir. Bu tip çalışmaların malarda örnek sayısının çok olması,

kadar araştırma yapılmış, özelliklerini yansıtan saf yetiştirilmiş bireyler kullanılması da önemlidir.

Türkiye'de yetiştirilen bazı yerli koyun türlerinde de ana kadar yapılan çalışmalarında herhangi bir majör genin varlığı tespit edilememiştir. Ancak bu çalışmaların yerli koyun türlerinin incelenen özellikler bakımından genetik yapılarının ortaya konulması bakımından önemlidir. Türkiye'de yetiştiricileri yönlendiren tüm koyun türleri için majör genler bakımından incelenmelidir. Bu genlerin tespit edilmesi durumunda döş verimi için yapılan çalışmaların malarda kullanılabilir. Bu genlerin tespit edilememesi durumunda ise bu genleri tanımlayan mevcut türlerin ya da spermaların ithal edilerek majör genlerin yerli türlere aktarılması düşünülebilir. Bu sayede yerli türlerin çoklu doyum oranlarının artması, buna bağlı olarak kasaplık kuzu üretimi yapan işletmelerin büyütülmesi ve yaygınlaştırılması sağlanabilir. Ancak bu işlem yapılırken yerli türlerin fizyolojik özellikleri ve yetiştirildikleri çevre koşulları göz önüne alınarak en uygun prolific tür seçilmelidir.

KAYNAKLAR

1. **Anonim** (2006): Hayvancılık desteklenmesi hakkında uygulama esasları tebliği (Tebliği No: 2006/9- <http://rega.basbakanlik.gov.tr/>, Erişim Tarihi: 29.06.2008).
2. **Anonim** (2009): (TÜİK-www.tuik.gov.tr, Erişim Tarihi: 22.02.2011).

3. **Anonim** (2009): (FAOSTAT-
<http://faostat.fao.org/>, Eri m Tarihi: 22. 02.
2011).
4. **Cemal** (1996): Çiftlik Hayvanlar,nda *Majör Genler Bunlar,n Belirlenmesi, Transferi ve Endüstriyel Kullan,m,*. Y. Lisans Tezi. Yüzüncü Y,l Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
5. **Cemal** , **Karaca O**, **Atay O** (1996): *Koyunlarda Döl Verimine Etkili Majör Genler.* Yüzüncü Y,l Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(4) 31-48.
6. **Chu MX, Liu ZH, Jiao CL, He YQ, Fang L, Ye, SC, Chen GH, Wang JY** (2007): *Mutation in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in small tailed Han sheep (Ovis aries).* Journal of Animal Science 85: 598-603.
7. **Davis GH, Galloway SM, Ross IK, Gregan SM, Ward J, Nimbkar BV, Ghalsasi PM, Nimbkar C, Gray DG, Inounu I, Tiesnamurti B, Martyniuk E, Eythorsdottir E, Mulsant P, Lecerf F, Hanrahan JP, Bradford GH, Wilson T** (2002): *DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation.* Biology of Reproduction, 66: 18696 1874.
8. **Davis GH** (2004): *Fecundity genes in sheep.* Animal Reproduction Science, 82-83, 247-253
9. **Davis GH, Balakrishnan L, Ross IK, Wilson T, Galloway SM, Lumsden JM, Hanrahan JP, Mullen M, Mao XZ, Wang GL, Zhao ZS, Zeng YQ, Robinson JJ, Mayrogenis AP, Papachristoforou C, Peter C, Baumung R, Cardyn P, Boujenane I, Cockett NE, Eythorsdottir E, Arranz JJ, Noter DR** (2006): *Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecX^l) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries.* Animal Reproduction Science, 92: 87696.
10. **Galloway SM, Mcnatty KP, Cambridge LM, Laitinen MPE, Juengell JL, Jok,ranta TS, McLaren RJ, Luiro K, Montgomery GW, Beattle AE, Davis GH, Ritvos O** (2000): *Mutations in an oocyte-derived Growth Factor Gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner.* Nature Genetics 25: 279-283.
11. **Ghaffari M, Javaremi AN, Rahimi G** (2009): *Detection of Polymorphism in BMPR-IB Gene Associated with Twinning in Shal Sheep using PCR-RFLP Method.* International Journal of Agriculture & Biology, 11: 97-99.
12. **Guan F, Liu, SR, Shi GQ, Yang LG** (2007): *Polymorphism of FecB gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development.* Animal Reproduction Science, 99: 44652
13. **Hanrahan JP, Gregan MS, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powel R, Galloway SM** (2004): *Mutation in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (Ovis aries).* Biology of Reproduction, 70: 900-909.
14. **Hua GH, Chen SL, Ai JT, Yang LG** (2008): *None of polymorphism of ovine fecundity major genes FecB and FecX was tested in goat.* Animal Reproduction Science, 108: 2796286.
15. **Jamshidi R, Kasariyan MM, Hafezeyan H** (2009): *Application of PCR-RFLP Teqnique to determine BMP 15 gene polymorphism in*

- Sangsari sheep breed of Iran*. Journal of Animal Veterinary Advances, 8 (10) 1906-1910.
16. **Karaca O, Cemal , Atay O** (1996): *Hayvancılıkta Kimi Majör Genlerin Aktarım, Kullanım Olanakları*. Hayvancılık 96 Ulusal Kongresi 18-20 Eylül 1996, Ege Üniversitesi, Bornova, zmir. 728-732.
17. **Karslı T, Balçoğlu MS** (2010): *Türkiye’de Yetiştirilen Alt Yerli Koyun Irkında BMPR-IB (Booroola) Geninde FecB Allel Varlığı, n,n PCR-RFLP Yöntemiyle Araştırılması*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(6) 1033-1066.
18. **Kasariyan MM, Hafezeyan H, Sayahzadeh H, Jamshidi R, Asghari SR, Irajeyan GH, Buesagh H** (2009): *Genetic Polymorphism FecB and BMP15 Genes and Its Association with Litter Size in Sangsari Sheep Breed of Iran*. Journal of Animal Veterinary Advances, 8 (5) 1025-1031.
19. **Kumar S, Kolte AP, Mishra AK, Arora AL, Singh VK** (2006a): *Identification of the FecB mutation in Garole Malpura sheep and its effect on litter size*. Small Ruminant Research, 64: 305-310.
20. **Kumar S, Kolte AP, Singh VK** (2006b): *Twinning in Marwari and Bharat Merino ewes and its relationship with Booroola FecB mutation*. Indian Journal of Biotechnology, 5: 482-485.
21. **Kumar S, Mishra AK, Kolte AP, Dash SK, Karim SA** (2008): *Screening for Booroola (FecB) and Galway (FecXG) mutations in Indian sheep*. Small Ruminant Research, 80: 57661.
22. **McNatty KP, Smith P, Moore LG, Reader K, Lun S, Hanrahan JP, Groome NP, Laitinen M, Ritvos O, Juengel JL** (2005): *Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate*. Molecular and Cellular Endocrinology, 234: 57-66.
23. **Michailidis G, Avdi M, Pappa V** (2008): *Reproductive performance and investigation of BMPR-IB and BMP-15 gene mutations in Greek Chios and Florina sheep breeds*. Archiva Zootechnica, 11(1) 24-31.
24. **Monteagudo LV, Ponz R, Tejedor MT, Lavina A, Sierra I** (2009): *A 17 bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed*. Animal Reproduction Science, 110: 1396146.
25. **Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lenneluc I, Pisselet C, Riquet J, Monniaux D, Calebaut I, Cribu E, Thimonier J, Teyssier J, Bodin L, Cognie Y, Chitour N, Elsen JM** (2001): *Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes*. Proc Natl Acad Sci, 98, 5104-5109.
26. **Öner Y, Elmac, C** (2007): *Keçilerde Süt Proteinleri Polimorfizmi*. Hayvansal Üretim, 48 (2) 49-54.
27. **Polat YO** (2006): *Sakız koyun ırkında BMPR-IB geninde çoklu do uma neden olabilecek FecB alleli varlığı, n,n PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması*. Doktora tezi. Uludağ Üniv Sa İ, k Bil Enst, Bursa.
28. **Polley S, De S, Batabyal S, Kaushik R, Yadav P, Arora JS, Chattopadhyay S, Pan S, Brahma B, Datta T, Goswami SL** (2009):

- Polymorphism of fecundity genes (BMPR1B, BMP15 and GDF9) in the Indian prolific Black Bengal goat.* Small Ruminant Research, 85: 1226129.
- 29. Souza CJH, Macdougall C, Campbell BK, Mcneilly AS, Baird DT** (2001): *The booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type IB (BMPR1B) gene.* Journal Endocrinology, 169 (2) 1-6.
- 30. Tajangookeh HD, Shahneh AZ, Zamiri MJ, Daliri M, Kohram H, Javaremi AN** (2009): *Study of BMP-15 gene polymorphism in Iranian goats.* African Journal of Biotechnology, 8 (13) 2929-2932.
- 31. Tufan M, Akmaz A** (2001): *Güney Karaman (Karakoyun), Kangal-Akkaraman ve Akkaraman Kuzuları, Farklı Kesim ve Karkas Özellikleri.* Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25: 495-504.
- 32. Wilson T, Wu XY, Juengel JL, Ross IK, Lumsden M, Lord EA, Dodds KG, Walling GA, McEwan JC, O'Connell AR, McNatty KP, Montgomery GW** (2001): *Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells.* Biology of Reproduction, 64: 1225-1235.