

Doğu Anadolu Kırmızısı ve Melezi Sığırların Büyüme Hormonu Geni Genetik Varyasyonunun İncelenmesi

Memiş ÖZDEMİR

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 25240 Erzurum, Türkiye (ozdemirm@atauni.edu.tr)

Geliş Tarihi : 05.09.2011

Kabul Tarihi : 18.01.2012

ÖZET : Bu çalışmada, Doğu Anadolu bölgesinde farklı çiftliklerde yetiştirilen yerli gen kaynağı olarak korunan Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) yerli sığır ırkı (N=76) ve melezlerinde (51) Büyüme Hormonu (bGH) geni *AluI* polimorfizmi incelenmiştir. Çalışmada *AluI* enzimi uygulanan sığır Büyüme Hormonu genine ait üç genotip (LL, LV ve VV) PCR-RFLP metodu kullanılarak tanımlanmıştır. L allel frekansı saf DAK'da 0.78, melezlerinde ise 0.79 olarak tespit edilmiştir. Üç genotipin dağılımı saf DAK'larda; LL %59, LV %37 ve VV %4, ve melezlerde ise LL %63, LV %33 ve VV %4 şeklinde olmuştur. İncelenen popülasyonların CHW dengesinde oldukları gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Büyüme Hormonu, *AluI* polimorfizmi, Doğu Anadolu Kırmızısı, Sığır, Gen kaynağı.

Investigation of Genetic Variation of Growth Hormone Gene on East Anatolian Red and Their Crosses

ABSTRACT : The aim of this paper was to genotype the *AluI* polymorphism of bovine growth hormone (bGH) gene on the 76 native resource EAR and 51 their crosses breeds reared from different farms over the East Anatolian region. Three genotypes (LL, LV and VV) of the bovine growth hormone gene digested with *AluI* enzyme were identified by Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) in the experiment. For native EAR and Crosses the frequency data of L allele were 0.78 and 0.79 respectively. Distribution of the three genotypes were for native EAR and their Crosses 59% (LL), 37% (LV) and 4% (VV), and 63% (LL), 33% (LV) and 4% (VV) respectively. The studied populations were in CHW equilibrium considering the genotype distribution.

Keywords: Growth Hormone, *AluI* polymorphism, East Anatolian Red, Cattle, Genetic resource

GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarında ırk alt grupları arasındaki genetik benzerliklerinin yada farklılıkların ölçülmesi çeşitli ıslah programlarının etkinliğini ölçmek için gereklidir. Çeşitli allel genlerin ve genotiplerin popülasyonlar arasında gösterdiği varyasyon ilgili gen, genotip frekanslarının bir fonksiyonu olarak incelenebilmektedir. Popülasyonlarda mevcut genetik varyasyonun araştırılması başarılı yetiştirme stratejilerinin geliştirilmesinde yetiştiricilere yardımcı olabilir (Özdemir ve Doğru, 2007).

Geçtiğimiz yarım yüzyıl içerisinde Türkiye'de çiftlik hayvanları gen kaynakları bakımından kayıplar olduğu bilinmektedir. Bu süreç günümüzde de artan bir ivme ile devam etmekte, farklı türlerden çeşitli genotiplerde hızlı bir azalma yaşanmaktadır. Oysa yerli ırklar yüzyıllardır yetiştirildikleri çevrenin kendine özgü koşullarına çok iyi uyum sağlamış, verimleri düşük olsa bile özgün nitelikleri olan, dayanıklı, kanaatkâr, yetersiz çevre koşullarında üreyebilen hayvanlardan oluşur. Yerli ırkların yok olması, taşıdıkları bu ayırtıcı özelliklerin de yok olması anlamına gelmektedir. Gelecekte bu özelliklerin hangisine gereksinim duyulacağı şimdiden tahmin etmek güç veya olanaksızdır. Kaldı ki bu gen kaynaklarının bugün saptanmamış olan olası özellikleri de ancak bunların varlıklarını sürdürebilmesi halinde elde tutulabilir (Ertuğrul vd., 2000).

Gen kaynağı olarak koruma altına alınmış olan yerli sığır ırklarımızdan, Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK), Boz ırk ve Kilis sığırı *tehdit altında*, Yerli Kara ve Zavot sığır ırkları ise *ağır tehdit altında* bulunan gen kaynaklarımız olarak bildirilmektedir (Ertuğrul ve ark., 2010). Doğu Anadolu Kırmızısı'nın özgün yapısı; yetiştirici tercihleri, hayvan transferleri, çeşitli ıslah programları gibi birçok yöntemle generasyondan generasyona değişime uğramakta ve Doğu Anadolu bölgesinin hakim sığır ırkını kaybetmeyle karşı karşıya bulunmaktayız. Öyle ki elde bulunan ve gen kaynağı olarak koruma altında tutulan ırkların saflığından bile şüphe duyulmaya başlanmaktadır. Bu da yerli gen kaynaklarının kaybolmasındaki artan risk karşısında bunlara dair en doğru genetik bilgiyi içerecek araştırma ve tanımlamaların yapılmasını kaçınılmaz kılmaktadır. Bu genetik varyasyonların bilinmesi sürünün ıslahı ve yönlendirilmesi hususunda da önemlilik arz etmektedir.

Sığırlarda Büyüme Hormonu (bGH) 19. kromozom üzerinde 5 ekzon ve 4 introndan oluşan kısımlarıyla 1793 baz çiftinden oluşmaktadır (Fries vd., 1993). Bu haritalama bilgisi, GH geni üzerindeki polimorfik yapıların tespiti ve bu polimorfik yapıların çeşitli verim unsurları üzerine etkilerinin incelenmesi ile ilgili çalışmaları başlatmıştır.

GH geninin ürünü olan GH, memelilerde doğum sonrası büyüme ve metabolizmanın ana düzenleyicisidir. GH, büyüme hızını, vücut kompozisyonunu, sağlığı, süt verimini ve bu işlemlerde görev alan birkaç genin ekspresyonunu düzenleyerek yaşlanmayı etkilemektedir (Ge vd., 2003). Bu nedenle GH geni çiftlik hayvanlarında süt üretimi, büyüme regülasyonu, karkas ve immun sistemi ile ilgili genetik markör tanımlamak için iyi bir aday gen olarak düşünülmüştür. (Yao vd., 1996; Ge vd., 2003).

bGH genindeki polimorfizmler sığırlarda birkaç verim özelliği ile; süt verimi ve kalitesiyle (Lucy vd., 1993; Lagziel vd., 1996; Sabour vd., 1997; Dybus, 2002; Pal vd., 2005; Kovacs vd., 2006; Zhou vd., 2006; Pawar vd., 2007; Sadeghi vd., 2008), büyümeyle (Rocha vd., 1992; Falaki vd., 1996; Unanian vd., 2000), dölvrim özellikleriyle (Mullen vd., 2011) ve karkas kompozisyonu ve kalitesiyle (Schlee vd., 1994a, b; Taylor vd., 1998; Lagziel vd., 1999; Grochawska vd., 2001) ilişkili olarak bildirilmiştir. bGH, doğum sonrası büyüme ve genel metabolizmada ayrıca laktasyonda önemli rol oynadığı için önemlidir. Mevcut bilgiler, besin kullanımında (Bauman, 1992), meme gelişiminde (Sejrsen vd., 1986) ve büyümede (Bass vd., 1991) bGH'nun çok önemli bir güce sahip olduğunu göstermektedir.

Mevcut çalışmada amaç, bazı işletmelerde koruma altında tutulan saf Doğu Anadolu Kırmızısı ırkı ve bölgede yetiştirilen Melezlerinin bGH geni *AluI* polimorfizmi genetik varyasyonunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemek, ırk gruplarına ait bGH geni bakımından genetik farklılıkları ortaya koymaktır.

MATERYAL VE METOD

Araştırmada gen kaynağı olarak yerinde koruma programında yer alan işletmelerden 54 baş ve Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden 22 baş olmak üzere toplam 76 baş saf Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) sığırın kan örneği ile Erzurum iline bağlı çeşitli köylerde yetiştirilen 51 baş Doğu Anadolu Kırmızısı Melezi sığırın kan örnekleri

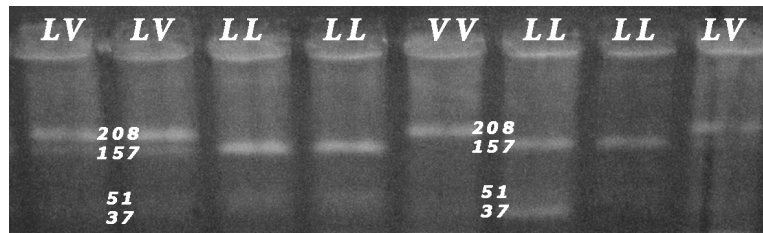
vakumlu K₃EDTA'lı tüplere alınmıştır. Genomik DNA, Purgene DNA izolasyon kiti (Gentra Systems, Minnesota, USA) vasıtasıyla elde edilmiş ve 4 °C'de saklanmıştır.

NCBI (National Centre for Biotechnology Information) GenBank dizilerinden (Genbank Giriş no: M57764) primer3 programı (Rozen ve Skaletsky, 2000) vasıtasıyla sığır Büyüme Hormonuna spesifik bir çift primer (5'-GTA GGG GAG GGT GGA AAA TG-3' ve 5'-TGA CCC TCA GGT ACG TCT CC-3') 245 bazçifti bölgeyi çoğaltmak için oluşturuldu. PCR reaksiyonu; 1 µM her bir Primer, 1 µl dNTP (D7595: Sigma, St. Louis, MO, USA), 0.5 U Taq DNA Polimeraz (D1806: Sigma, St. Louis, MO, USA), yaklaşık 200 ng DNA, 3µl 10x PCR Buffer (100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500mM KCl, 15 mM MgCl₂ ve 0.01% jelatin), 1µl 25 mM'lık MgCl₂ ve distile su ilavesiyle 30 µl hacimde gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyon şartları; 94 °C de 5 dk, 94 °C'de 45 s, 58 °C'de 45 s ve 72 °C'de 45 s 30 döngü, ve son olarak 72 °C'de 7 dk'dır. Çoğaltma işlemi tamamlanan ürünler sonraki adımda kullanılmaya kadar -20 °C'de depolanmıştır. 0.2 µl'lik ependorf tüp içerinden her bir PCR ürününün 7-10 µl'si 5 U *AluI* enzimiyle reaksiyona sokularak 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Her bir kesim ürünü %2'lik agaroz jelde 45 V'da 2 saat yürütülerek Etidyum Bromür varlığında UV ışıkta görüntülenmiştir.

Her bir sığır ırkına ait bGH allel gen frekansları sayılarak hesaplanmıştır. Genotip frekanslarının Castle Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testiyle incelenmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Toplam 245 baz çifti uzunluğundaki her bir PCR ürünü, *AluI* restriksiyon enzimi ile kesilerek bant sayılarına göre genotiplenmiştir. Teorik olarak VV genotipi 208 ve 37 bp, LL genotipi 157, 51 ve 37 bp ve heterozigot LV genotipi 208, 157, 51 ve 37 bp bantlara sahiptir. İncelenen her iki populasyonda da her üç genotip gözlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1: Agaroz jelde bGH geni *AluI* Genotipleri

bGH *AluI* polimorfizmi genotip ve allel gen frekansları Çizelge 1’de gösterilmiştir. İncelenen 127 sığıra ait genotip frekansları LL genotipi 0.61, LV genotipi 0.35 ve VV genotipi 0.04 şeklindedir.

Sığırların genelinde allel gen frekansları L geni için 0.78 ve V geni için 0.22 şeklindedir. Saf DAK sığırlarda bu allel gen frekansları değişmezken, Melezlerde sırasıyla 0.79 ve 0.21 olarak görülmüştür.

Çizelge 1: DAK ve Melezi Sığırlarda bGH/*AluI* Polimorfizmi Genotip Sayıları ve Gen Frekansları.

İrk Grupları	N	Genotip			Allel		X^2
		LL	LV	VV	L±SE	V±SE	
DAK	76	45	28	3	0.78 ±0.03	0.22 ±0.03	0.28 ns
DAK Melezi	51	32	17	2	0.79 ±0.04	0.21 ±0.04	0.03 ns
Genel	127	77	45	5	0.78±0.03	0.22±0.03	0.26 ns

İrklar arasında $X^2=0.15$ ns, L= lösin V= valin, ns: önemsiz ($P>0.05$), SE: Standart hata

Birçok araştırmacı inceledikleri ırklarda L gen frekansını daha yüksek olarak bildirmektedirler (Çizelge 2). DAK ırkında yapılan daha önceki çalışmalarda (Özdemir 2011; Özkan vd 2009;Yardibi

vd 2009), bGH *AluI* polimorfizminin farklı frekanslarda çıkmasının nedeninin popülasyon büyüklüğü ve örneklemeden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 2. Farklı ırklarda bGH geni *AluI* polimorfizmi allel gen frekansları

İrklar	L	V	Referans	İrklar	L	V	Referans
Angus	0.80	0.20	Chikuni vd (1991)	Guernsey	0.92	0.08	Lucy vd. (1993)
Angus	0.77	0.23	Vasconcellos vd(2003)	Hereford	0.78	0.22	Chikuni vd (1991)
Ayrshire	0.79	0.21	Lucy vd. (1993)	Holstein	0.93	0.07	Kovacs vd.(2006)
Ayrshire	0.71	0.29	Sabour vd. (1997)	Holstein	0.93	0.07	Lucy vd. (1993)
Bozırk	0.79	0.21	Özdemir (2011)	Holstein	0.90	0.10	Özdemir (2011)
Bozırk	0.87	0.13	Özkan vd (2009)	Holstein	0.84	0.16	Özkan vd (2009)
Brown Swiss	1.00	0.00	Lucy vd. (1993)	Holstein	0.75	0.25	Pawar vd (2007)
Brown Swiss	0.90	0.10	Özdemir (2011)	Holstein	0.91	0.09	Sabour vd. (1997)
Charolais	0.72	0.28	Kemenes vd(1999)	Holstein	0.94	0.06	Sadeghi vd (2008)
DAK	0.95	0.05	Özdemir (2011)	Holstein	0.92	0.08	Vukasinovic vd (1999)
DAK	0.84	0.16	Özkan vd (2009)	Jersey	0.56	0.44	Lucy vd. (1993)
DAK	0.43	0.57	Yardibi vd (2009)	Jersey	0.76	0.24	Sabour vd. (1997)
DAK	0,78	0,22	Mevcut çalışma	Simmental	0.71	0.29	Shlee vd (1994a)
GAK	0.44	0.56	Yardibi vd (2009)	Simmental	0.82	0.18	Vasconcellos vd (2003)

DAK:Doğu Anadolu Kırmızısı, GAK:Güney Anadolu Kırmızısı

İrk grupları arasında ve içinde bGH *AluI* polimorfizmi bakımından genetik denge söz konusudur. (Çizelge 1). Bu durum incelenen ırk gruplarının seleksiyon, akrabalı yetiştirme ve hayvan transferleri gibi dengeli bozucu durumlardan henüz önemli derecede etkilenmediğini göstermektedir.

bGH genotiplerinin ırk gruplarına homojen şekilde dağıldığı gözlenmiştir ($P>0.05$). Bölgede yetiştiriciliği yapılan DAK ırkının yıllarca yapılan melezleme çalışmalarına rağmen, büyüme hormonu geni polimorfizmi bakımından fazla bir değişimin olmadığı, ya da mevcut allel gen frekanslarının bu

melezleme çalışmalarından fazla etkilenmediği sonucuna varılabilir. Ancak bu durum melezlemede kullanılan kültür ırklarında bGH *AluI* polimorfizmi bakımından yakın allel gen frekansına sahip olmalarından da kaynaklanmış olabilir. Her ne kadar farklı ırklarla çeşitli melezleme çalışmaları sonucu bGH geni olarak frekans değişikliği olmasa da, eskiden bölgenin hakim sığırı olan saf DAK sığırlarının sayısının giderek azaldığı gözlerden kaçmamakta, ancak yerinde koruma ile küçük de olsa bu gen kaynaklarının yok olmasının önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Nitekim mevcut uygulamanın dahi

ileriki yıllarda homozigotlaşmaya yol açacağı gerçeği göz önüne alınmalı, her özgün genotipik yapıya sahip sığırın itina ile korunmasına hem kurumlar hem de yetiştiriciler olarak gereken özen gösterilmelidir.

Sonuç olarak, incelenen ırk gruplarında allel gen frekanslarındaki mevcut polimorfizmin tespiti genetik çeşitliliğin ortaya konması bakımından önemlilik arz etmektedir. Ancak Büyüme Hormonu genine ilave olarak diğer polimorfik olduğu bildirilen genlerinde araştırılması ve bu genotipler ile sığırlara ait et ve süt gibi önemli verim özelliklerinin ilişkilendirilmesi ve ıslah amaçlı kullanılabilmesi için daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP Proje no:2009/45) Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir. Desteklerini esirgemeyen BAP çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR

Bass, J.J., Oldham, J.M., Hodgkinson, S.C., Fowke, P.J., Sauerwein, H., Molan, P., Breier, B.H., Gluckman, P.D. 1991. Influence of nutrition and bovine growth hormone (GH) on hepatic GH binding, insulin-like growth factor-I and growth of lambs. *J. Endocrinol*, 128(2):181-186.

Bauman, D.E., 1992. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.* 75 (12):3432-3451.

Chikuni K., Terada, F., Kageyama, S., Koishikawa, T., Kato, S., Ozutsumi, K., 1991. Identification of DNA sequence variants for amino acid residues 127 of bovine growth hormone using the polymerase chain reaction method. *Animal Science and Technology* 62, 660-666.

Dybus, A., 2002. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black-and-White cattle. *Arch. Tierz. Dummerstorf* 45 (5): 421-428.

Ertuğrul, M., Akman, N., Dellal, G., Goncağul, T., 2000. Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması ve Türkiye Hayvan Gen Kaynakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. Yayın No:38, Ankara.

Ertuğrul, M., Dellal G., Elmacı C., Akın O.A., Pehlivan, E., Soysal, M.İ., Arat, S., 2010. Çiftlik hayvanları genetik kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Kongresi. Ankara.

Falaki, M., Gengler, N., Sneyers, M., Prandi, A., Massart, S., Formigoni, A., Burny, A., Portetelle, D., Renaville, R., 1996. Relationships of polymorphisms for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 79(8):1446-1453.

Fries, R., Egen, A., Womack, J.E. 1993. The bovine genome map. *Mamm. Genome.* 4:405.

Ge, W., Davis, M.E., Hines, H.C., Irvin, K.M., Simmen, C.M. 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.*, 81:641-648.

Grochowska, R., Lunden, A., Zwierzchowski, L., Snochowski, M., Oprzadek, J., 2001. Association between gene polymorphism of growth hormone and carcass traits in dairy bulls. *Anim. Sci.* 72: 441-447.

Kemenes, P.A., Reginato, L.C.A., Rosa, A.J.M., Parker, I.U., Razook G.A., 1999. β -casein, κ -lactoglobulin and growth hormone allele frequencies and genetic distances in Nelore, Gyr, Guzer, Caracu, Charolais, Canchin and Santa Gertrudis cattle. *Genet. Mol. Biol.*, 22: 539-541.

Kovacs, K., Volgyi-Csik, J., Zsolnai, A., Gyorkos I. and Fesus, L., 2006. Associations between the *AluI* polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Archiv fur Tierzucht*, 49, 236-249.

Lagziel, A., Lipkin, E., Soller, M., 1996. Association between SSPC haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. *Genetics*, 142: 946-951.

Lagziel, A., Lipkin, E., Ezra, E., Soller, M., Weller, J.I. 1999. An *MspI* polymorphism at the bovine growth hormone (bGH) gene is linked to a locus affecting milk protein percentage. *Animal Genetics*, 30: 296-299.

Lucy, M.C., Hauser, S.D., Eppard, P.J., Krivi, G.G., Clark, J.H., Bauman, D.E., Collier, R.J., 1993. Variants of somatotropin in cattle- gene frequencies in major dairy breeds and associated milk-production. *Domestic Animal Endocrinology*, 10(4): 325-333. Abst.

Mullen, M.P., Lynch, C.O., Waters, S.M., Howard, D.J., O'Boyle, P., Kenny, D.A., Buckley, F., Horan B., Diskin, M.G. 2011. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and insulin-like growth factor-1 genes are associated with milk production, body condition score and fertility traits in dairy cows. *Genetics and Molecular Research* 10 (3): 1819-1830.

Özdemir, M., 2011. Determination of allele frequencies of growth hormone *AluI* polymorphism in Brown Swiss, Holstein, native East Anatolian Red and Turkish Grey breeds. *International Journal of Dairy Technology.* 64(3):350-352.

Özdemir, M., Doğru U., 2007. Genetik karakterizasyonda mitokondriyal DNA kullanımı. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. 38 (1) 105-111.

Özkan, E., Soysal, M.İ., Dinç, H., Sönmez, G., Okyar, M., Togan İ., 2009. Türkiye sığır ırklarında büyüme hormonu *AluI* ve *MspI* polimorfizminin PZR-RFLP yönteminin kullanılarak belirlenmesi. 6. Ulusal Zootehni Kongresi, 24-26 Haziran, Erzurum, 93-102.

Pal, A., Chakravarty, A.K., Bhattacharya, T.K., Sharma, A. 2005. Polymorphism of growth hormone gene and its association with expected milk production traits in dairy bulls. *J. Appl. Anim. Res.* 27(1): 29-33.

Pawar, R.S., Tajane, K.R., Joshi, C.G., Rank, D.N., Bramshtri, B.P., 2007. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. *Indian J. Anim Sci.* 77(9):884-888.

Rocha, J. L., Baker, J. F., Womack, J. E., Sanders, J. O., Taylor, J. F. 1992. Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and quantitative traits in beef cattle. *J. Anim.Sci.* 70: 3360-3370.

Rozen, S., Skaletsky, H.J., 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*, pp 365-386. Krawetz S, Misener S, eds. Totowa, NJ, USA: Humana Press, Source code available at <http://fokker.wi.mit.edu/primer3/>. (27/04/2005).

Sabour, M.P., Lin, C.Y., Smith, C. 1997. Association of genetic variants of bovine growth hormone with milk production traits in Holstein cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 114 : 435-442.

Sadeghi, M., Moradi Shahr-e-Babak, M., Rahimi G., Javaremi, A. N. 2008. Association Between Gene Polymorphism of Bovine Growth Hormone and Milk Traits in the Iranian Holstein Bulls. *Asian Journal of Animal Sciences*, 2:1-6.

Schlee, P., Graml, R., Rottmann, O., Pirchner, F. 1994a. Influence of growth hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 111: 253-256.

- Schlee, P., Graml, R., Schallenberger, E., Schams, D., Rottmann, O., Olbrich B.A., Pirchner F. 1994b. Growth hormone and insulin like growth factor I: concentration in bulls of various growth hormone genotypes. *Theoretical and Applied Genetics*, 88:497-500.
- Sejrsen, K., Foldager, J., Sorensen, M.T., Akers, R.M., Bauman, D.E. 1986. Effect of exogenous bovine somatotropin on pubertal mammary development in heifers. *J. Dairy Sci.* 69(6):1528-1535.
- Taylor, J. F., Coutinho, L. L., Herring, K. L., Gallagher Jr, D. S., Brenneman, R. A., Burney, N., Sanders, J. O., Turner, J. W., Smith, S. B., Miller, R. K., Savell, J. W., Davis, S. K., 1998. Candidate Gene Analysis of Gh1 for effects on growth and carcass composition of cattle. *Anim. Genet.* 29:194-201.
- Unanian, M. M., Barreto, C. C., Freitas, A. R., Cordeiro, C. M. T., Josahkian, L. A., 2000. Association of growth hormone gene polymorphisms with weight traits in Nelore breed. *Rev. Bras. Zootec.* 29:1380-1386.
- Vasconcellos, L.P.M.K., Tambasco, D.D., Pereira, A.P., Coutinho, L.L., Regitano, L.C.A. 2003. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. *Genetics and Molecular Biology.* 26(2):133-137.
- Vukasinovic, N., Denise, S.K., Freeman, A.E., 1999. Association of growth hormone loci with milk yield traits in Holstein Bulls. *Dairy Sci.* 82(4):788-794.
- Yardibi, H., Hosturk, G.T., Paya, I., Kaygısız, F., Çiftçioğlu, G., Mengi, A., Oztabak, K., 2009. Associations of growth hormone gene polymorphism with milk production traits in South Anatolian and East Anatolian Red cattle. *J Anim Vet Adv*, 8, 1040-1044.
- Yao, J., Aggrey, S.E., Zadworny D., Hayes, J.F., Kuhnlein, U. 1996. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single-strand conformation polymorphisms (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. *Genetics*, 144:1809-1816.
- Zhou, G., Zhu, Q., Jin, H.G., Guo, S.L., 2006. Genetic variation of growth hormone gene and its relationship with milk production traits in China Holstein cows. *Asian-Australasian J. of Anim. Sci.* 19(3):315-318.