

Kayseri Bölgesinde Yeti tirilen Hol tayn Sı ırlarında Kompleks Vertebral Malformasyon Hastalı ı Geninin Allel Frekansının Belirlenmesi*

Gevher Nesibe KULAKLI¹, Bilal AKYÜZ²

¹ Erciyes Üniversitesi Sa ık Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi Merkez Kampüs Talas Yolu Kayseri-TÜRK YE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni ABD, Kayseri-TÜRK YE

Özet: Kompleks vertebral malformasyon (CVM), Hol tayn sı ır ırkında görülen otozomal ve çekinik kalıtım ekli gösteren, öldürücü kalıtsal bir hastalıktır. Bu kalıtsal hastalık ilk olarak 1999 yılında Danimarka'da yeti tirilen Hol tayn'larda belirlenmiştir. Hastalık, homozigot hasta buza ılarda kompleks anomaliler, bacak eklemlerinde ve sırt omurlarında kemik deformasyonları ile karakterizedir. Ayrıca, homozigot yavrularda embriyonal ölümler, abort ve ölü do umlara da sebep olmaktadır. Bu çalı manın amacı, Kayseri ve civarında yeti tirilen ve sütçü ırklar içerisinde Türkiye'de en yüksek popülasyona sahip olan Hol tayn sı ır ırkına ait ineklerde, CVM hastalı ına neden olan mutant allelinin bulunup bulunmadı ının ara tırılmasıdır. Bu çalı mada kullanılan moleküler genetik testin, Türkiye'deki Hol tayn ırkına ait damızlıkların CVM yönünden taranmalarında kullanmak, veteriner hekimler ve yeti tiricilerin bu kalıtsal hastalıktan haberdar olmalarını sa lamaktır. Çalı manın materyalini, Kayseri ve civarında halk elinde yeti tirilen 150 ba Hol tayn ırkı di i sı ır olu turmu tur. ncelenen hayvanlardan alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile yapılmı tır. Yapılan bu çalı mada CVM allelinin varlı ı veya yoklu u, polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık büyüklü polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi kullanılarak ara tırılmaya çalı ılmı tır. Elde edilen PZR ürünleri *EcoT22* endonükleaz enzim ile kesilmi ve %2'lik agaroz jelde görüntülenmiştir. Bu çalı mada incelenen 150 ba Hol tayn ırkı sı ırda CVM ta ıyıcı bireylere rastlanmamı tır.

Anahtar Kelimeler: CVM, Hol tayn, PZR, RFLP

Determination of the Frequency of the Allele in the Gene Causing the Complex Vertebral Malformation in the Holstein Cows in the Kayseri Region

Summary: The complex vertebral malformation (CVM) is a hereditary lethal disease with an autosomal and recessive heredity in the Holstein cows. This hereditary disease was first determined in the Holstein cows in 1999 in Denmark. This disease is characterized with complex anomalies, bone deformations in the joints of extremities and vertebrae in calves with homozygous. Moreover, fetal deaths, abortions and stillbirths are seen in calves with homozygous. The purpose of this study was to determine the mutant allele causing the complex vertebral malformation (CVM) in Holstein, which is the largest population among the milked breed in the Kayseri region. In addition, this test can be adapted to screen the Holstein cows for CVM disorder for breeding purpose, and veterinarians and breeders can be informed of this hereditary disease. Client-owned animals used in this study consist of 150 female Holstein cows in the Kayseri region. Isolation of DNA with phenolchloroform extraction method was performed from blood samples taken from animals. In this study, the method of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was applied to determine the mutant allele causing the CVM. The products of PCR have been divided into small pieces by *EcoT22* endonuclease enzyme. Small pieces of PCR products were visualization in the 2% agarose gel. In the study none of the cows were determined with the CVM disorder.

Key Words: CVM, Holstein, PCR, RFLP

Giri

Tüm dünyada süt endüstrisinde kullanılan ineklerin yakla ık %70'i suni tohumlama yöntemi ile tohumlanmaktadır (11). Suni tohumlama uygulaması, süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Hol tayn ırkının süt verimini birkaç on yıl içerisinde 15-20 litre artırmı tır (11). Suni tohumlama yöntemi hayvan ba ına verimi artırırken, aynı zamanda yeti tiricili i yapılan ırklarda ırk içi genetik benzerli inde de

artmasına neden olmu tur (26). Irk içinde artan genetik benzerlik, bireylerin ya ama gücünü ve döl verimini dü üren kalıtsal hastalıkların hızla popülasyon içinde yayılmasına da sebep olmu tur (7, 20). Bu kalıtsal hastalıklar çok kısa sürede ülkeler hatta kıtalar a arak tüm dünyaya yayılmı tır (17). Süt sı ırı yeti tiricili inde birkaç elit bo anın yaygın kullanımı mutant ve resesif iki allelin yavruların genotiplerinde bir araya gelme ansını artırmaktadır (20). Bundan dolayı, kalıtsal hastalıklara sebep olan mutant allellerin popülasyondan temizlenebilmesi ancak ta ıyıcı bireylerin belirlenerek sürüden uzakla tırılmasıyla sa lanabilir. Ekonomik açıdan bir sürünün tüm bireylerinin kalıtsal hastalıklar yönünden taranması zordur. Ancak, özellikle suni tohumlama ve embriyo nakli amacıyla kullanılan

Geli Tarihi/Submission Date : 28.01.2011

Kabul Tarihi/Accepted Date : 14.03.2011

* TSY-10-2908 Proje Koduyla Erciyes Üniversitesi Bilimsel Ara tırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenen Aynı Adlı Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmi tır.

damızlık adaylarının ırka özgü kalıtsal hastalıkları ta ıyıp ta ımadıklarının kesin olarak belirlenmesi, kalıtsal hastalıkların kontrol altına alınmasına yardımcı olabilir (1).

Kalıtsal hastalıklar, canlılardaki kalıtım materyalinde meydana gelen, ebeveynlerden yavruya aktarılan bozukluklar sonucu canlının sağlığını ve verimini olumsuz etkileyerek ya da embriyonik ölüme neden olarak fertliliteyi dü üren hastalıklar olarak tanımlanabilir (11). Kalıtsal hastalıklar, ya protein sentezinin bozulmasına ya da protein sentezinin tamamen durmasına neden olarak fenotipte ortaya çıkarlar (8). Veteriner hekimlikte, kalıtsal bir hastalığa neden olan genin moleküler düzeyde belirlenmesi, kalıtsal hastalık yönünden ari sürülere sahip olmak ve hastalığın sürüden eradikasyonunu sağlamak için büyük önem taşımaktadır (11).

Sı ırlarda görülen kalıtsal hastalıkların ço u otozomal resesif kalıtım ekli göstermektedir. Bu nedenle otozomal resesif kalıtım ekli gösteren genlerin belirlenmeden popülasyona yayılmaansı yüksektir (6). Ta ıyıcıların fenotipik olarak belirlenmesindeki zorluktan dolayı, bireyde varlığını kolayca belirlenebilen dominant kalıtım yolu izleyen veya X kromozomuna bağlı kalıtım yolu izleyen genlerle kar ıla tırıldı ında, otozomal resesif kalıtım ekli gösteren kalıtsal hastalıklar sı ır yeti tiriciliğinde daha önemlidir (19). Son elli yılda yaygın yeti tiricili i yapılan sı ır ırklarında 300 civarında kalıtsal bozukluk bildirilmi tir (2).

Kompleks vertebral malformasyon (CVM), Hol tayn sı ırlarında görülen otozomal çekinik kalıtım ekli gösteren, öldürücü kalıtsal bir hastalıktır (3, 22). Bu kalıtsal hastalık, sı ır karyotipinin üçüncü kromozomunda bulunan, UDP-N-asetilglukozamin tranporter proteinini kodlayan, SLC35A3 genin 559. nükleotid pozisyonunda bir guanin-timin yer de i imine neden olan nokta mutasyonu sonucu oluşmaktadır (15, 18, 24). Meydana gelen bu mutasyon, SLC35A3 proteininin 180. pozisyonunda bulunan valin amino asitinin fenilalanin'e (V180F) dönü mesine sebep olmaktadır (23, 25).

Kompleks vertebral malformasyon, homozigot buza ılarda embriyo ölümleri, abort, kongenital büyüme gerili i, metakarpofalangeal ve metatarsofalangeal eklemlerde ankiloz, kafatasından kuyruk sokumuna kadar uzanan omurga dizisinin boyun ve sırt omurlarında birden fazla omurun anatomik olarak eksikliği ve omurlarda yapı ma ile karakterizedir (10, 26). Bu klinik belirtilerden en önemlisi ve embriyo için ölümcül olanı omurga kısalığıdır (2). Homozigot yapıdaki fütusların %50' sinde kalp anomalisi de görülmektedir (25).

Ghanem ve ark. (14) hastalık ilk olarak 1999 yılında Agerholm ve arkadaşları tarafından Danimarka'da yeti tirilen Hol taynlar'da belirlenmiştir. Daha sonra İngiltere, Çek Cumhuriyeti, Polonya ve Hollanda gibi Avrupa ülkelerinde CVM'li Hol tayn buza ıların görüldü ü bildirilmi tir (14, 26). Avrupa dı ında ABD, Çin ve Japonya'daki Hol tayn popülasyonlarında da CVM'ye neden olan mutant allelin varlığı bildirilmi tir (10). Bu kalıtsal hastalık ilk olarak Danimarka'da belirlenmesine rağmen u anda Hol tayn yeti tiricili i yapılan birçok ülkede bildirilmi tir (9).

Hasta yavrularının pedigrileri incelendi inde hepsinin 1974 yılında ABD'de doğ an ve üstün verim özellikleri nedeniyle tüm dünyada suni tohumlama istasyonlarında yaygın olarak kullanılan Carlin-M Ivanhoe Bell isimli bo a ile akraba oldukları belirlenmiştir (4, 16, 21). Bu bo anın aynı zamanda CVM dı ında yine Hol taynlarda önemli verim kayıplarına neden olan kalıtsal bir hastalık olan sı ır lökosit balanma yetmezliği (BLAD) hastalığının ta ıyıcısı olduğu da belirlenmiştir (5, 14, 25).

Bu çalışmada, Kayseri ve civarında yeti tirilen di i Hol tayn'larda CVM hastalığına neden olan mutant allelinin bulunup bulunmadığının polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık büyüklük polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın materyalini Kayseri'nin Bünyan ve Develi ilçelerinde yeti tirilen 150 baş damızlık di i Hol taynlar oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan DNA'lar fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile izole edilmiştir.

İncelenen hayvanlarda mutant CVM allelini belirlemek için yapılan PZR uygulamasında Kepenek (17) tarafından önerilen ve bazı dizinleri F: 5'-CACAAATTTGTAGGTCTCACTGCA-3'; R: 5'-CGATGAAAAAGGAACCAAAAGGG-3', olan bir primer seti kullanılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu 14,3 µl dH₂O, 7,4 µl MgCl₂, 2 µl 10 x PCR buffer, 0,4 µl dNTP, her primerden 0,4 µl (20 nmol), 3 µl genomik DNA, 0,1 µl Taq polimeraz enzimi (5 U/ µl) olacak şekilde hazırlanan karışım yapılmıştır.

Hazırlanan karışımın termal cycleler cihazında önce 95 °C'de 10 dakika tutulduktan sonra her bir döngüsü; 95 °C'de 30 saniye, 56 °C'de 1 dakika ve 72 °C'de 30 saniye olacak şekilde 30 döngü yapılmıştır. Son döngüden sonra örnekler, 72 °C'de 10 dakika tutularak PZR işlemi tamamlanmıştır.

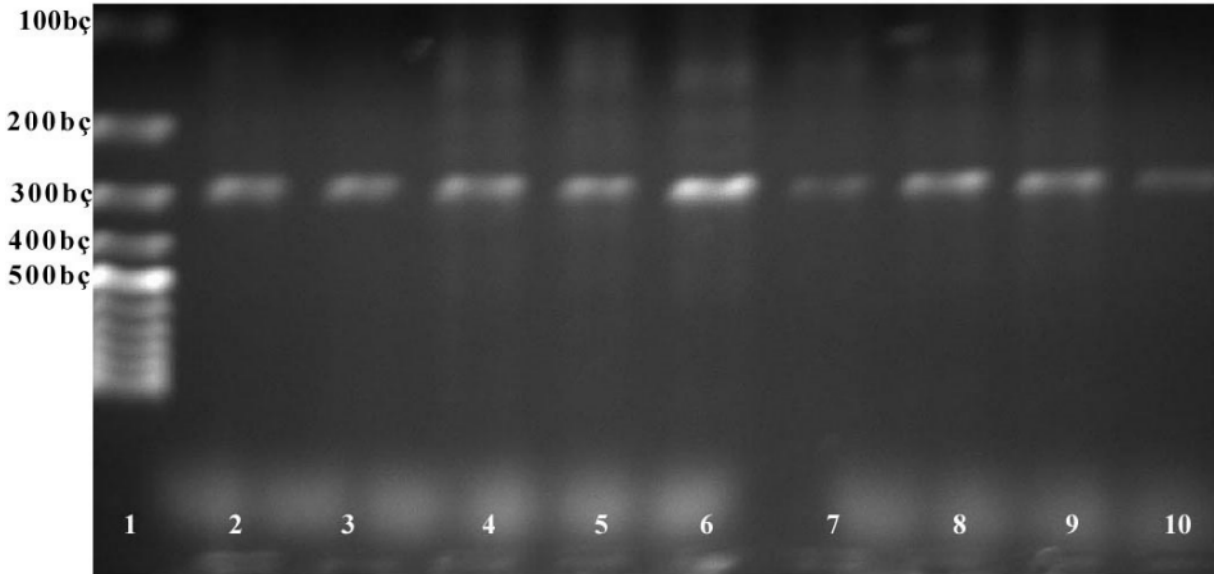
Bu i lem sonunda PZR' nin ba arılı oldu u örneklerden 233 bç'lik tek bant elde edilmiştir. Bu tek bantın görüldü ü PZR ürünleri *EcoT22* restriksiyon endonükleaz enzim ile kesmek için +37 °C'de bir gece bekletildikten sonra enzimi inaktive etmek amacıyla karı ım +65 °C'de 20 dakika tutulmu tur.

lem sonunda, homozigot normal bireylerde 233 bç'lik tek bant, ta ıyıcılarda ise 233, 212 ve 21 bç'lik üç bantın görülmüşü beklenmiştir.

Bulgular

Elde edilen 223 bç'lik PZR ürünlerinin *EcoT22* restriksiyon endonükleaz ile kesilmesi i lemi sonunda incelenen bireylere ait PZR ürünlerinin hiç birinin bu enzim ile kesilmedi i gözlenmiştir. Dolayısıyla, incelenen bireylerin hiç birisinde CVM ta ıyıcı bireylerde görülmüşü beklenen 233, 212 ve 21 bç'lik üç bant görüntülenememi tir. ncelenen tüm bireylerde 233 bç'lik tek bant görülmüşü tür (Resim 1) ve tüm örneklerin homozigot normal oldu u belirlenmiştir.

önce taranması önemlidir. Özellikle, kalıtsal hastalıklar yönünden damızlık adaylarının genetik durumları, bu bireyler henüz yavru iken hatta embriyonal a amada belirlenmesi damızlık seçiminde zaman kaybının önüne geçilmesine yardımcı olabilir. Kalıtsal hastalıklar, Türkiye'de verim kayıplarına neden olan hastalıklar arasında yeti tirciler ve veteriner hekimler tarafından en az bilinenlerdir. Hayvancılıkta geli mi ülkelerde, özellikle erkek damızlık adayları kendi ırklarında en yaygın görülen kalıtsal hastalıklar yönünden taranarak, damızlık kataloglarına bu kalıtsal bozukluklar yönünden genetik yapıları kaydedilir. Türkiye'de ise kalıtsal bozukluklar hakkında sadece konu ile ilgili çalı ma yapan ara tırcılar bilgi sahibidir. Türkiye'de enfeksiyonlar ve beslenme bozuklukları ile kar ıla tırılınca kalıtsal bozuklukların sebep oldukları verim kayıpları göz ardı edilmektedir. Bir gende meydana gelen mutasyon, yavrunun ölümüne veya döl tutma problemlerine neden olarak, birim hayvandan elde edilmesi hedeflenen verimi dü ürebilir (13).



ekil 1. 100 bç'lik DNA merdiveni, 2-10: 233 bç'lik homozigot normal bireylere ait *EcoT22* enzim kesim ürünleri.

Tartı ma ve Sonuç

Bir süt sı ırcılı ı i letmesinde karlılık, i letmede bulunan damızlık hayvanların 305 gün sa ılması ve her bir hayvandan yılda bir yavru alınması ile sa lanabilir. Bu nedenle, i letmede damızlık olarak seçilecek hayvanların verimlerini dü ürecek enfeksiyonlar ve kalıtsal hastalıklar yönünden seçimden

Modern süt sı ırcılı yeti tircili inde, yüksek genetik de ere sahip az sayıdaki seçkin bo adan elde edilen spermaların uluslar arası ticareti üzerine kurulmuş ıslah programları tüm dünyada artı göstermektedir. Suni tohumlama ve embriyo transferleri gibi geli mi üreme teknolojilerinin yaygın kullanılması sonucu tek bir bo a, tüm dünyada do an

binlerce buzaının babası olabilmektedir. Yapılan genetik iyileştirme ve seleksiyon çalışmalarının avantajları yanında, damızlık bir bireyde ortaya çıkarak verimi düşüren mutant allellerin frekansının popülasyon içinde hızla artmasına da neden olabilmektedir.

Çiftlik hayvanları yetiştiricilerinde, yetiştiricilerde yapılan türlerde ve ırklarda görülen genetik bozuklukların yaygınlığı önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Sıyr yetiştiricilerinde, kalıtsal hastalıklar yetiştiricilerin karlılığını düşüren önemli konulardan biridir. Yetiştirilmede kullanılan hayvanlarda görülecek anormal anatomik yapılar veya düşük verime neden olacak kalıtsal hastalıkların negatif etkileri nedeniyle, yetiştiriciler ve yetiştirici birlikleri bir ülkedeki mevcut damızlık popülasyonunda bu tür verim kayıplarına neden olan genlerin etkilerinin kontrol altında tutmaları gerekir. Örnek olarak, bir kalıtsal hastalık olduğu 1980'li yılların sonunda belirlenen BLAD'ın ABD ekonomisine yıllık kaybının beş milyon dolar olduğu bildirilmiştir (1). Bu nedenle, kalıtsal hastalıkların sebep oldukları verim ve ekonomik kayıpların en aza indirilmesi için yetiştiricilerin kesin ve doğru olarak kısa sürede belirlemeye imkan veren yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir. Moleküler genetik analizler alanında yapılan ilerlemeler, doğrudan veya yarı otomatik ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkabilecek anomalilere neden olan mutasyonların belirlenmesine yardımcı olmaktadır.

Birçok kalıtsal hastalığın kalıtım eklinin resesif kalıtım yolu izlediği artık bilinmektedir (13). Hol taynlarda, resesif kalıtım ekli gösteren CVM hastalığının yayılmasında heterozigot damızlıkların rolü çok önemlidir. Heterozigot bireyler herhangi bir klinik belirtiyi göstermeden ya amlarını popülasyon içinde normal olarak sürdürürler. Heterozigot bireyin mutant alleli bir sonraki jenerasyona geçirme olasılıkları % 50'dir. Bu nedenle, yetiştirici bireylerin belirlenerek damızlık sürülerden uzaklaştırılması veya olası yetiştirici-tayn çiftleştirmelerinin engellenmesi CVM'ye neden olan mutant allelin popülasyondan eradikasyonu için gereklidir.

Uygun primerlerle elde edilen PZR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi olarak tanımlanan PZR-RFLP yöntemi mutasyonların saptanması için güvenilir bir yöntemdir (14). Hol taynlarda CVM ta ıyıcılarının belirlenmesi amacıyla değişik yöntemler geliştirilmiştir. Kalıtsal bozukluk olarak CVM'nin ilk olarak belirlenmesinden 2001 yılına kadar farklı RFLP metodları mutant alleli taşıyan bireylerin belirlenmesinde kullanılmıştır (25).

Japonya'da Ghanema ve ark. (22) CVM tanısı için geliştirdikleri bir allel spesifik-PCR (AS-PCR) testi

ile yabancı tip ve CVM allelleri ayırt etmeyi başarımları ve inceledikleri 200 hayvandan 26'sının (% 13,0) CVM ta ıyıcısı olduklarını belirlemişlerdir. Ruoeæ ve ark. (24) özellikle büyük hayvan popülasyonlarında CVM'nin tanısının daha kolay yapılabilmesi amacıyla bilinen nokta mutasyonlarının tanısında kullanılabilecek bir single-stranded conformation polymorphism (SSCP) yöntemi geliştirmişlerdir. Rezaee ve ark. (23) İran'da yetiştirilen Hol tayn ırkı 144 baş damızlık buzaının CVM durumlarının PCR-SSCP yöntemini ile araştırılmışları ve incelenen hayvanlar arasında ta ıyıcılara rastlanılmamıştır. Chu ve ark. (10) Çin'de PCR-SSCP yöntemini kullanarak CVM hastalığının tanısı amacıyla bir çalışmaya başlamışları ve 68 risk grubu bozaında 10 (%14,7), 602 risk grubu ineekte 282 (% 46,84) CVM ta ıyıcı hayvan tespit etmişlerdir.

Türkiye'de yetiştirilen Hol taynlarda CVM allelinin belirlenmesine yönelik ilk çalışmaya, 2007 yılında Kepenek (17) tarafından 21 baş damızlık Hol tayn bozaa kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada incelenen hayvanlarda ta ıyıcılara rastlanılmamıştır. Kepenek (17) tarafından yapılan bu çalışmada, incelenen örnek sayısının azlığı nedeniyle, elde edilen verilerin Türkiye Hol tayn popülasyonunun CVM durumu hakkında bir bilgi vermek için yeterli olmadığı düşünülmüştür. Meydan ve ark. (19), 2007-2009 yılları arasında Ankara ve Anıurfa'daki mezbahalardan topladıkları 350 baş Hol tayn örnekten 12'sinin CVM ta ıyıcısı olduğu ve incelenen örnekler içerisinde ta ıyıcıların oranının % 3,4 olduğu bildirilmiştir. Bu oranın daha önce CVM ta ıyıcılarının bulunduğu bildirilen Danimarka (% 31,0) (3), Polonya (% 24,8) (24), Japonya (% 32,5) (22), sveç (% 23,0) (9), ve Almanya (% 13,2) (19) gibi ülkelerdeki ile karşılaştırıldığında çok düşüktüğü görülmüştür.

Bu çalışmada ise, Kayseri ilinde yetiştirilen dişi 150 baş Hol tayn incelenmiş ve ta ıyıcı bireylere rastlanılmamıştır. Fakat, Türkiye Hol tayn popülasyonunun oluşmasında gerek damızlık hayvan gerekse sperma ithal edilen ülkelerde bu kalıtsal bozukluğa neden olan mutant allele yüksek oranda rastlanılmıştır (14, 17, 25). Bu nedenle, Türkiye Hol tayn popülasyonunun CVM durumunun kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok ve farklı ehirlerdeki Hol taynlardan örneklerin incelenmesi gereklidir. Çünkü, CVM ta ıyıcılarının belirlendiği ülkelerde, çok sayıda birey veya CVM klinik görünüm gösteren yavrulara sahip hayvanlar incelenmiştir (19, 25). Bu sayede Hol tayn popülasyonlarında CVM'ye neden olan mutant allelin frekansı hakkında bilgi sahibi olunmuştur.

Meydan ve ark. (19) tarafından yapılan çalışmada, araştırma materyalini mezbahalara getirilen hay-

vanların olu turması nedeniyle, örneklemin daha geni bir alanı kapsadı ı görülmü tür. Ancak, belirlenen CVM ta ıyıcılarının oranının Avrupa ve ABD'dekinden dü ük oldu u görülmü tür.

Bu nedenle, Türkiye'deki Hol tayn popülasyonunda CVM allel frekansının belirlenmesinde daha çok örne in bulundu u ve Türkiye'nin farklı bölgelerinde yeti tirilen Hol tayn ırkına ait erkek ve di in damızlık adaylarının taranmasına yönelik çalı ma lar planlanmalıdır.

Bu ara tırma, Türkiye Hol tayn popülasyonunda CVM'ye sebep olan mutant allelin varlı ının ara tırılması ve ileride Türkiye'deki damızlıkların CVM yönünden taranabilmesi için rutin kullanımda uygulanabilir bir yöntemle belirlenmesi amacıyla yapılmı tır. Çalı ma sonunda incelenen bireyler arasında ta ıyıcı bireylere rastlanılmamasına kar ın, çalı mada kullanılan PZR-RFLP yönteminin ileride damızlıkların CVM alleli yönünden incelenmesinde kullanılabilce i dü ünülmü tür.

Kaynaklar

1. Ackermann MR, Kehril ME, Morfitt DC, 1993. Ventral dermatitis and vasculitis in a calf with bovine leukocyte adhesion deficiency. *J Am Vet Med Assoc*, 202: 413-415.
2. Agerholm S, Bendixen C, Andersen O, Arnbjerg J, 2001. Complex vertebral malformation in Holstein calves. *J Vet Diagn Invest*, 13: 283-289.
3. Agerholm JS, Andersen O, Almskou MB, Bendixen C, Arnbjerg J, Aamand GP, Nielsen US, Panitz F, Petersen AH, 2004. Evaluation of the inheritance of the complex vertebral malformation syndrome by breeding studies. *Acta Vet Scand*, 45: 133-137.
4. Agerholm JS, Bendixen C, Arnbjerg J, Andersen O, 2004. Morphological variation of "complex vertebral malformation" in Holstein calves. *J Vet Diagn Invest*, 16: 548-553.
5. Akyüz B, Ertu rul O, 2006. Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Turkish native and Holstein cattle. *Acta Vet Hung*, 54: 173-178.
6. Akyüz B, Ertu rul O, 2008. Türkiye'de Hol tayn ve yerli sı ırlarda üridin monofosfat senteaz eksikli inin (DUMPS) belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 55: 57-60.
7. Akyüz B, Bayram D, Ertugrul O, can KM, 2008. Türkiye' de yeti tirilen Hol tayn ve bazı yerli sı ırlar ırklarında Citrullinemia allelinin belirlenmesi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 5(1): 17-20.
8. Ba aran N. Tıbbi Genetik. (Altıncı Baskı), Bilim Teknik Yayınevi, stanbul 1996; ss 49.
9. Berglund B, Persson A, Stalhammar H, 2004. Effects of complex vertebral malformation on fertility in Swedish Holstein cattle. *Acta Vet Scand*, 45: 161-165.
10. Chu Q, Sun D, Yu Y, Zhang Y, Zhang Y, 2008. Identification of complex vertebral malformation carriers in Chinese Holstein. *J Vet Diagn Invest*, 20: 228-230.
11. Citek J, Rehout V, Hajkova J, Pavkova J, 2006. Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic. *Vet Med Czech*, 51(6): 333-339.
12. Distl O, 2005. The use of molecular genetics in eliminating of inherited anomalies in cattle. *Arch Tierz Dummerstorf*, 48(3): 209-218.
13. Ghanem ME, Nakao T, Nishibori M, 2006. Deficiency of uridine monophosphate syntheses (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle. *Anim Reprod Sci*, 91: 45-54.
14. Ghanem ME, Akita M, Suzuki T, Kasuga A, Nishibori M, 2008. Complex vertebral malformation in Holstein cows in Japan and its inheritance to crossbred F1 generation. *Anim Reprod Sci*, 103: 348-354.
15. Ghanem ME, Suzuki T, Akita M, Nishibori M, 2009. *Neospora caninum* and complex vertebral malformation as possible causes of bovine fetal mummification. *Can Vet J*, 50: 389-392.
16. Kehrlı MK, Ackermann MR, Schuster DE, Van Der Maaten MJ, Schmalstieg FC, Anderson DC, Hughes BJ, 1992. Animal model of human disease, bovine leukocyte adhesion deficiency, 2 integrin deficiency in young Holstein cattle. *Cornell Vet*, 82: 103-109.
17. Kepenek E . 2007. Polymorphism of Prolactin (PRL), Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT-1) and Bovine Solute Carrier Family 35 Member 3 (SLC35A3) Genes in Native Cattle Breeds and its Implication for Turkish Cattle Breeding, PhD Thesis. University of Middle East Technique, Department of Biological Sciences. Ankara.

18. Logar B, Kavar T, Megli V, 2008. Detection of recessive mutations (CVM, BLAD and red factor) in Holstein bulls in Slovenia. *Journal of Central European Agriculture*, 9: 101-106.
19. Meydan H, Yildiz MA, Agerholm JS, 2010. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. *Acta Vet Scand*, 52: 56.
20. Mukhopadhyaya PN, Jha M, Muraleedharan P, Gupta RR, Rathod RN, Mehta HH, Khoda VK, 2006. Simulation of normal, carrier and affected controls for large-scale genotyping of cattle for factor XI deficiency. *Genet Mol Res*, 5(2): 323-332.
21. Nagahata H, Oota H, Nitanaï A, Oikawa S, Higuchi H, Nakade T, Kurosawa T, Morita M, Ogawa H, 2002. Complex vertebral malformation in a stillborn Holstein calf in Japan. *J Vet Med Sci*, 64(12): 1107-1112.
22. Nagahata H, Nishiyama T, Kanae Y, Higuchi H, Kawai K, Endoh D, Hayashi M, Kurosawa T, 2009. A retrospective survey of the prevalence of complex vertebral malformation carriers in 9 Holstein dairy herds in Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci*, 71(6): 793-795.
23. Rezaee AR, Nassiry MR, Valizadeh R, Tahmoorespour M, 2008. Study of complex vertebral malformation disorder in Iranian Holstein bulls. *World Journal of Zoology*, 2(2): 36-39.
24. Ruoeæ A, Kaminski S, 2007. Prevalence of complex vertebral malformation carriers among Polish Holstein-Friesian bulls. *J Appl Genet* 48(3): 247-252.
25. Schütz E, Scharfenstein M, Brenig B, 2008. Implication of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency DNA-based testing on disease frequency in the Holstein population. *J Dairy Sci*, 91: 4854-4859.
26. Thomsen B, Horn P, Panitz F, Bendixen E, Petersen AH, Holm LE, Nielsen VH, Agerholm JS, Arnbjerg J, Bendixen C, 2006. A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter causes complex vertebral malformation. *Genome Res*, 16: 97-105.

Yazı ma Adresi:

Doç. Dr. Bilal AKYÜZ
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Zootečni Anabilim Dalı, Mevlana Mah.
Barı Manço Cad. No. 1
Kocasinan/KAYSER
Tel: 0352 3380006-175
E-mail: bakyuz@erciyes.edu.tr