

PAPER DETAILS

TITLE: Kayseri Bölgesinde Yetistirilen Holstayn Sigirlarinda Kompleks Vertebral Malformasyon Hastaligi Geninin Allel Frekansinin Belirlenmesi

AUTHORS: G N KULAKLI,B AKYÜZ

PAGES: 69-74

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/66168>

Kayseri Bölgesinde Yetiştirilen Holştayn Sığırlarında Kompleks Vertebral Malformasyon Hastalığı Geninin Allel Frekansının Belirlenmesi*

Gevher Nesibe KULAKLI¹, Bilal AKYÜZ²

¹ Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi Merkez Kampüs Talas Yolu Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootehni ABD, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Kompleks vertebral malformasyon (CVM), Holştayn sığır ırkında görülen otozomal ve çekinik kalıtım şekli gösteren, öldürücü kalıtsal bir hastalıktır. Bu kalıtsal hastalık ilk olarak 1999 yılında Danimarka'da yetiştirilen Holştayn'larda belirlenmiştir. Hastalık, homozigot hasta buzağılarda kompleks anomaliler, bacak eklemlerinde ve sırt omurlarında kemik deformasyonları ile karakterizedir. Ayrıca, homozigot yavruarda embriyonal ölümler, abort ve ölü doğumlara da sebep olmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Kayseri ve civarında yetiştirilen ve sütçü ırklar içerisinde Türkiye'de en yüksek popülasyona sahip olan Holştayn sığır ırkına ait ineklerde, CVM hastalığına neden olan mutant allelinin bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır. Bu çalışmada kullanılan moleküler genetik testin, Türkiye'deki Holştayn ırkına ait damızlıkların CVM yönünden taranmalarında kullanmak, veteriner hekimler ve yetiştiricilerin bu kalıtsal hastalıktan haberdar olmalarını sağlamaktır. Çalışmanın materyalini, Kayseri ve civarında halk elinde yetiştirilen 150 baş Holştayn ırkı dişi sığır oluşturmuştur. İncelenen hayvanlardan alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada CVM allelinin varlığı veya yokluğu, polimeraz zincir reaksiyonu-restriksion parçacık büyüklüğü polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi kullanılarak araştırılmaya çalışılmıştır. Elde edilen PZR ürünleri *EcoT22* endonükleaz enzim ile kesilmiş ve %2'lik agaroz jelde görüntülenmiştir. Bu çalışmada incelenen 150 baş Holştayn ırkı sığırdaki CVM taşıyıcı bireylere rastlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: CVM, Holştayn, 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

Giriş

Tüm dünyada süt endüstrisinde kullanılan ineklerin yaklaşık %70'i suni tohumlama yöntemi ile tohumlanmaktadır (11). Suni tohumlama uygulaması, süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Holştayn ırkının süt verimini birkaç on yıl içerisinde 15-20 litre artırmıştır (11). Suni tohumlama yöntemi hayvan başına verimi artırırken, aynı zamanda yetiştiriciliği yapılan ırklarda ırk içi genetik benzerliğin de

artmasına neden olmuştur (26). Irk içinde artan genetik benzerlik, bireylerin yaşama gücünü ve döler verimini düşüren kalıtsal hastalıkların hızla popülasyon içinde yayılmasına da sebep olmuştur (7, 20). Bu kalıtsal hastalıklar çok kısa sürede ülkeler hatta kıtalar aşarak tüm dünyaya yayılmıştır (17). Süt sığır yetiştiriciliğinde birkaç elit boğanın yaygın kullanımı mutant ve resesif iki allelin yavruların genotiplerinde bir araya gelme şansını artırmaktadır (20). Bundan dolayı, kalıtsal hastalıklara sebep olan mutant allellerin popülasyondan temizlenebilmesi ancak taşıyıcı bireylerin belirlenerek sürüden uzaklaştırılmasıyla sağlanabilir. Ekonomik açıdan bir sürünün tüm bireylerinin kalıtsal hastalıklar yönünden taranması zordur. Ancak, özellikle suni tohumlama ve embriyo nakli amacıyla kullanılan

Geliş Tarihi/Submission Date : 28.01.2011

Kabul Tarihi/Accepted Date : 14.03.2011

* TSY-10-2908 Proje Koduyla Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenen Aynı Adlı Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir.

damızlık adaylarının ırka özgü kalıtsal hastalıkları taşıyıp taşımadıklarının 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 fertliletiyi düşüren 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).

Siğirilerde görülen kalıtsal hastalıkların çoğu otozomal resesif kalıtım şekli göstermektedir. Bu nedenle otozomal resesif kalıtım şekli gösteren genlerin belirlenmeden popülasyona yayılma şansı yüksektir (6). Taşıyıcıların fenotipik olarak belirlenmesindeki zorluktan dolayı, bireyde varlığı kolayca belirlenebilen dominant kalıtım yolu izleyen veya X kromozomuna bağlı kalıtım yolu izleyen genlerle karşılaştırıldığında, otozomal resif kalıtım şekli gösteren kalıtsal hastalıklar siğir yetiştiriciliğinde daha önemlidir (19). Son elli yılda yaygın yetiştiriciliği yapılan siğir ırklarında 300 civarında kalıtsal bozukluk bildirilmiştir (2).

Kompleks vertebral malformasyon (CVM), Holştayn siğirilerinde görülen otozomal çekinik kalıtım şekli gösteren, öldürücü kalıtsal bir hastalıktır (3, 22). Bu kalıtsal hastalık, siğir karyotipinin üçüncü kromozomunda bulunan, UDP-N-asetilglukozamin tranporter proteinini kodlayan, SLC35A3 genin 559. nükleotid pozisyonunda bir guanin-timin yer değişimine neden olan nokta mutasyonu sonucu oluşmaktadır (15, 18, 24). Meydana gelen bu mutasyon, SLC35A3 proteininin 180. pozisyonunda bulunan valin amino asitinin fenilalanin'e (V180F) dönüşmesine sebep olmaktadır (23, 25).

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

Ghanem ve ark. (14) hastalık ilk olarak 1999 yılında Agerholm ve arkadaşları tarafından Danimarka'da yetiştirilen Holştaynlar'da belirlenmiştir. Daha sonra İngiltere, Çek Cumhuriyeti, Polonya ve Hollanda gibi Avrupa ülkelerinde CVM'li Holştayn buzağılarının görüldüğü bildirilmiştir (14, 26). Avrupa dışında ABD, Çin ve Japonya'daki Holştayn popülasyonlarında da CVM'ye neden olan mutant allelin varlığı bildirilmiştir (10). Bu kalıtsal hastalık ilk olarak Danimarka'da belirlenmesine rağmen şu anda Holştayn yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede bildirilmiştir (9).

Hasta yavruların pedigrileri incelendiğinde hepsinin 1974 yılında ABD'de doğan ve üstün verim özellikleri nedeniyle tüm dünyada suni tohumlama istasyonlarında yaygın olarak kullanılan Carlin-M Ivanhoe Bell isimli boğa ile akraba oldukları belirlenmiştir (4, 16, 21). Bu boğanın aynı zamanda CVM dışında yine Holştaynlarda önemli verim kayıplarına neden olan kalıtsal bir hastalık olan siğir lökosit bağlanma yetmezliği (BLAD) hastalığının taşıyıcısı olduğu da belirlenmiştir (5, 14, 25).

Bu çalışmada, Kayseri ve civarında yetiştirilen dişi Holştayn'larda CVM hastalığına neden olan mutant allelinin bulunup bulunmadığının polimeraz zincir reaksiyonu-restiriksiyon parçacık büyüklük polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın materyalini Kayseri'nin Bünyan ve Develi ilçelerinde yetiştirilen 150 baş damızlık dişi Holştaynlar oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan DNA'lar fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile edilmiştir.

İncelenen hayvanlarda mutant CVM allelini belirlemek için yapılan PZR uygulamasında Kepenek (17) tarafından önerilen ve baz 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 karışımla yapılmıştır.

Hazırlanan karışımın termal cyclus 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.

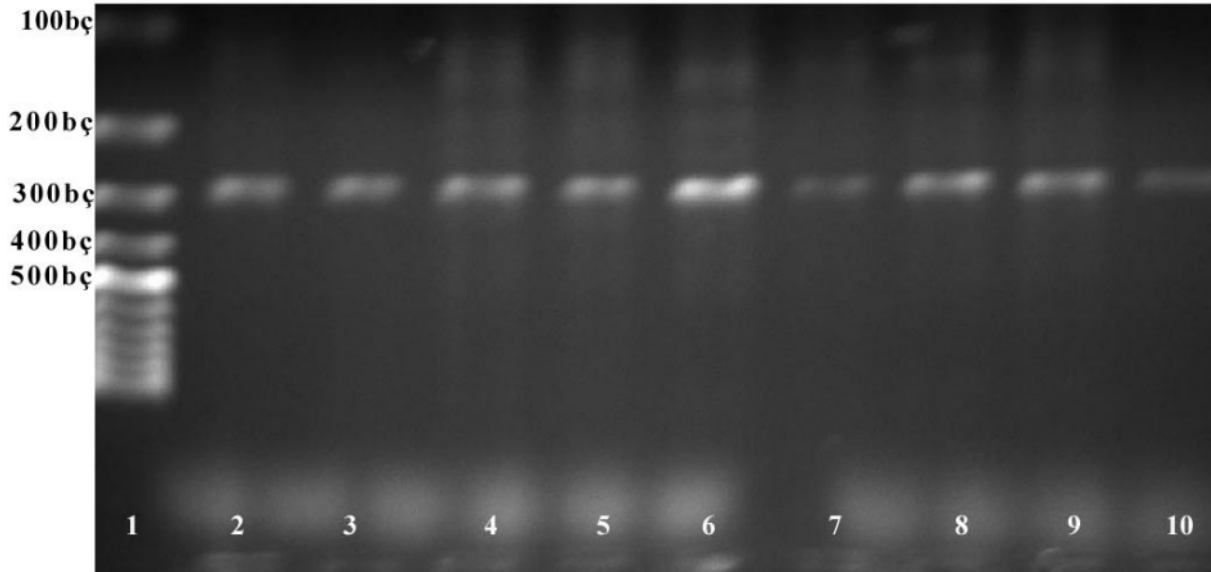
Bu işlem sonunda PZR' nin başarılı olduğu örneklerden 233 bç'lik tek bant elde edilmiştir. Bu tek bantın görüldüğü PZR ürünleri *EcoT22* restriksiyon endonükleaz enzim ile kesmek için +37 °C'de bir gece bekletildikten sonra enzimi inaktive etmek amacıyla karışım +65 °C'de 20 dakika tutulmuştur.

İşlem sonunda, homozigot normal bireylerde 233 bç'lik tek bir bant, taşıyıcılarda ise 233, 212 ve 21 bç'lik üç bantın görülmesi beklenmiştir.

Bulgular

Elde edilen 223 bç'lik PZR ürünlerinin *EcoT22* restriksiyon endonükleaz ile kesilmesi işlemi sonunda incelenen bireylere ait PZR ürünlerinin hiç birinin bu enzim ile kesilmediği gözlenmiştir. Dolayısıyla, incelenen bireylerin hiç birisinde CVM taşıyıcı bireylerde görülmesi beklenen 233, 212 ve 21 bç'lik üç bant görüntülenememiştir. İncelenen tüm bireylerde 233 bç'lik tek bant görülmüştür (Resim 1) ve tüm örneklerin homozigot normal olduğu belirlenmiştir.

önce taranması önemlidir. Özellikle, kalıtsal hastalıklar yönünden damızlık adaylarının genetik durumları, bu bireyler henüz yavru iken hatta embriyonal aşamada belirlenmesi damızlık seçiminde zaman kaybının önüne geçilmesine yardımcı olabilir. Kalıtsal hastalıklar, Türkiye'de verim kayıplarına neden olan hastalıklar arasında yetiştiriciler ve veteriner hekimler tarafından en az bilinenlerdir. Hayvancılıkta gelişmiş 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 çalışma yapan araştırmacılar bilgi sahibidir. Türkiye'de enfeksiyonlar ve beslenme bozuklukları ile karşılaştırılınca 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 düşürebilir (13).



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

Tartışma ve Sonuç

Bir süt sığırcılığı işletmesinde karlılık, işletmede bulunan damızlık hayvanların 305 gün sağılması ve her bir hayvandan yılda bir yavru alınması ile sağlanabilir. Bu nedenle, işletmede damızlık olarak seçilecek hayvanların verimlerini düşürecek enfeksiyonlar ve kalıtsal hastalıklar yönünden seçimden

Modern süt sığırı yetiştiriciliğinde, yüksek genetik değere sahip az sayıdaki seçkin boğadan elde edilen spermaların uluslar arası ticareti üzerine kurulmuş ıslah programları tüm dünyada artış göstermektedir. Suni tohumlama ve embriyo transferleri gibi gelişmiş üreme teknolojilerinin yaygın kullanılması sonucu tek bir boğa, tüm dünyada doğan

binlerce buzağının 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 yetiştiriciliğinde, yetiştiriciliği yapılan türlerde ve ırklarda görülen genetik bozuklukların yaygınlığı önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Sığır yetiştiriciliğinde, kalıtsal hastalıklar yetiştiriciliğin karlılığını düşüren önemli konulardan biridir. Yetiştirmede 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 taşıyıcıların kesin ve doğru olarak kısa sürede belirlemeye imkan veren yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir. Moleküler genetik analizler alanında yapılan ilerlemeler, doğumda veya yaşamın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkabilecek anomalilere neden olan mutasyonların belirlenmesine yardımcı etmektedir.

Birçok kalıtsal hastalığın kalıtım şeklinin resesif kalıtım yolu izlediği artık bilinmektedir (13). Holştaynlarda, resesif kalıtım şekli gösteren CVM hastalığının yayılmasında heterozigot damızlıkların rolü çok önemlidir. Heterozigot bireyler herhangi bir klinik belirti göstermeden yaşamlarını popülasyon içinde normal olarak sürdürürler. Heterozigot bireyin mutant alleli bir sonraki jenerasyona geçirme olasılıkları % 50'dir. Bu nedenle, taşıyıcı bireylerin belirlenerek damızlık sürülerden uzaklaştırılması veya olası taşıyıcı-taşıyıcı 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). Holştaynlarda CVM taşıyıcılarının belirlenmesi amacıyla değişik yöntemler geliştirilmiştir. Kalıtsal bozukluk olarak CVM'nin ilk olarak belirlenmesinden 2001 yılına kadar farklı RFLP metotları 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 başarmışlar ve inceledikleri 200 hayvandan 26'sının (% 13,0) CVM taşıyıcısı 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 Holştayn ırkı 144 baş damızlık boğanın CVM durumlarının PCR-SSCP yöntemini ile araştırmışlar ve incelenen hayvanlar arasında taşıyıcılara rastlamamışlardır. Chu ve ark. (10) Çin'de PCR-SSCP yöntemini kullanarak CVM hastalığının tanısı amacıyla bir çalışma yapmışlar ve 68 risk grubu boğada 10 (%14,7), 602 risk grubu inekte 282 (% 46,84) CVM taşıyıcı hayvan tespit etmişlerdir.

Türkiye'de yetiştirilen Holştaynlarda CVM allelinin belirlenmesine yönelik ilk çalışma, 2007 yılında Kepenek (17) tarafından 21 baş damızlık Holştayn boğa kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada incelenen hayvanlarda taşıyıcılara rastlanılmamıştır. Kepenek (17) tarafından yapılan bu çalışmada, incelenen örnek sayısının azlığı nedeniyle, elde edilen verilerin Türkiye Holştayn popülasyonunun CVM durumu hakkında bir bilgi vermek için yeterli olmadığı düşünülmüştür. Meydan ve ark. (19), 2007-2009 yılları arasında Ankara ve Şanlıurfa'daki mezbahalardan topladıkları 350 baş Holştayn örnekten 12'sinin CVM taşıyıcısı olduğunu ve incelenen örnekler içerisinde taşıyıcıların oranının % 3,4 olduğunu bildirmişlerdir. Bu oranın daha önce CVM taşıyıcılarının bulunduğu bildirilen Danimarka (% 31,0) (3), Polonya (% 24,8) (24), Japonya (% 32,5) (22), İsveç (% 23,0) (9), ve Almanya (% 13,2) (19) gibi ülkelerdeki ile karşılaştırıldığında çok düşük olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada ise, Kayseri ilinde yetiştirilen dişi 150 baş Holştayn incelenmiş ve taşıyıcı bireylere rastlanılmamıştır. Fakat, Türkiye Holştayn 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 Holştayn popülasyonunun CVM durumunun kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok ve farklı şehirlerdeki Holştaynlardan örneklerin incelenmesi gereklidir. Çünkü, CVM taşıyıcılarının belirlendiği ülkelerde, çok sayıda birey veya CVM klinik görünüm gösteren yavrulara sahip hayvanlar incelenmiştir (19, 25). Bu sayede Holştayn 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 oluşturmaları nedeniyle, örneklemin daha geniş bir alanı kapsadığı görülmüştür. Ancak, belirlenen CVM taşıyıcılarının oranının Avrupa ve ABD'dekinden düşük olduğu görülmüştür.

Bu nedenle, Türkiye'deki Holştayn popülasyonunda CVM allel frekansının belirlenmesinde daha çok örneğin bulunduğu ve Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetiştirilen Holştayn ırkına ait erkek ve dişi damızlık adaylarının taranmasına yönelik çalışmalar planlanmalıdır.

Bu araştırma, Türkiye Holştayn popülasyonunda CVM'ye sebep olan mutant allelin varlığının araştırılması ve ileride Türkiye'deki damızlıkların CVM yönünden taranabilmesi için rutin kullanımda uygulanabilir bir yöntemin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma sonunda incelenen bireyler arasında taşıyıcı bireylere rastlanılmamasına karşın, çalışmada kullanılan PZR-RFLP yönteminin ileride damızlıkların CVM alleli yönünden incelenmesinde kullanılabileceği düşünülmüştür.

Kaynaklar

- Ackermann MR, Kehrli ME, Morfitt DC, 1993. Ventral dermatitis and vasculitis in a calf with bovine leukocyte adhesion deficiency. *J Am Vet Med Assoc*, 202: 413-415.
- Agerholm S, Bendixen C, Andersen O, Arnbjerg J, 2001. Complex vertebral malformation in Holstein calves. *J Vet Diagn Invest*, 13: 283-289.
- 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.
- 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.
- Akyüz B, Ertuğrul O, 2006. Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Turkish native and Holstein cattle. *Acta Vet Hung*, 54: 173-178.
- Akyüz B, Ertuğrul O, 2008. Türkiye'de Holştayn ve yerli sığırlarda üridin monofosfat sentez eksikliğinin (DUMPS) belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 55: 57-60.
- Akyüz B, Bayram D, Ertuğrul O, İşcan KM, 2008. Türkiye' de yetiştirilen Holştayn ve bazı yerli sığırlar ırklarında Citrullinemia allelinin belirlenmesi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 5(1): 17-20.
- Başaran N. Tıbbi Genetik. (Altıncı Baskı), Bilim Teknik Yayınevi, İstanbul 1996; ss 49.
- Berglund B, Persson A, Stalhammar H, 2004. Effects of complex vertebral malformation on fertility in Swedish Holstein cattle. *Acta Vet Scand*, 45: 161-165.
- 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.
- 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.
- Distl O, 2005. The use of molecular genetics in eliminating of inherited anomalies in cattle. *Arch Tierz Dummerstorf*, 48(3): 209-218.
- Ghanem ME, Nakao T, Nishibori M, 2006. Deficiency of uridine monophosphate synthetase (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle. *Anim Reprod Sci*, 91: 45-54.
- 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.
- 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.
- Kehrli 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, $\beta 2$ integrin deficiency in young Holstein cattle. *Cornell Vet*, 82: 103-109.
- Kepenek EŞ. 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, Meglič 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, Yıldız 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, Nitani 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, Tahmoorepour 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.

Yazışma Adresi:

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