

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

Kayseri ve Civarında Yetiştirilen Holştayn, İsviçre Esmeri ve Simmental Sığır
İrklarında κ -Kazein, Büyüme hormonu ve Prolaktin Gen Polimorfizmlerinin
PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi

Proje No: TSA-09-751

Proje Türü
Araştırma

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Kaan M. İŞCAN
Veteriner Fakültesi Zootečni ABD

Araştırmacının Adı Soyadı

Bilal AKYÜZ

Veteriner Fakültesi Genetik ABD

Davut BAYRAM

Veteriner Fakültesi Zootečni ABD

Korhan ARSLAN

Veteriner Fakültesi Genetik ABD

Aralık 2011

KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	4
ABSTRACT	5
1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM	6
2. GENEL BİLGİLER	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	24
5.1. Kapa-Kazein (κ -CN)	25
5.2. Büyüme Hormonu (bGH)	28
5.3. Prolaktin (PRL)	29
6. TEŞEKKÜR	31
7. KAYNAKLAR	31

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarından Holştayn, Simmental ve İsviçre Esmer sığırlarının; daha önce bu ırklarda belirlenmemiş olan kapa-kazein (κ -CN), sığır büyüme hormonu (bGH) ve prolaktin hormonu (PRL) genlerinin allel yapılarının RFLP yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Projenin materyalini, Kayseri ve civarında halk elinde yetiştirilen 150 baş Holştayn, 50 baş Simmental ve 50 baş İsviçre Esmerleri oluşturmuştur. Kapa-kazein allellerinin belirlenmesinde uygulanan PZR işlemini takiben elde edilen PZR ürünleri *HindIII* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Prolaktin allellerinin belirlenmesinde uygulanan PZR işlemini takiben elde edilen PZR ürünleri *RsaII* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. İncelenen örneklerde büyüme hormonu genini allellelik yapılarının belirlenmesinde uygulanan PZR işlemini takiben elde edilen ürünleri *AluI* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kapa-kazein geni için incelenen ırklarda en yüksek AA genotip frekansı Holştayn ırkında, BB genotip frekansı İsviçre Esmerlerinde görülmüştür. Prolaktin geni için incelenen ırklarda en yüksek AA genotip frekansı Holştayn ırkında, BB genotip frekansı her üç ırkta da bir birine eşit bulunmuştur. En yüksek AB genotip frekansı ise İsviçre Esmeri ırklarında görülmüştür. Büyüme hormonu geni için incelenen ırklarda, en yüksek LL genotip frekansı İsviçre Esmerlerinde, VV ve LV genotip frekansları ise Simmental ırkında görülmüştür. İncelenen ırkların hepsinde L allelinin frekansı V alleleline göre yüksek bulunmuştur. Ancak Simmental ırkında V allelinin frekansı diğer ırklardan yüksek bulunmuştur. Çalışma sonunda incelenen ırkların PRL geni dışında diğer lokuslar yönünden HW dengesinde oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme hormonu; Kapa-kazein; Prolaktin; RFLP

ABSRTACT

The purpose of this work was to examine the kappa-casein (κ -CN), bovine growth hormone (bGH) and prolactin hormone (PRL) genes in Holstein, Simmental and Brown Swiss cattle breeds in Turkey cattle breeds which had not been investigated to RFLP allele structures in Turkey. The material of the project, 150 head of Holstein, 50 head Simmental and 50 head Brown Swiss cattle has formed that has been raised in Kayseri vicinity. In order to determine the kappa-casein alleles in PCR products, the PCR products were digested with *HindIII* endonuclease enzyme. In order to determine the PRL alleles in PCR products, the PCR products were digested with *RsaII* endonuclease enzyme. In order to determine the bGH alleles in PCR products, the PCR products were digested with *AluI* endonuclease enzyme. The AA genotypic frequency was the highest in the Holstein breed; the BB genotypic frequency was the highest in the Brown Swiss breed in κ -CN. The AA genotypic frequency was the highest in the Holstein breed; the BB genotypic frequency was found equal in four breeds; the AB genotypic frequency was the highest in the Brown Swiss breed in PRL locus. For bGH locus, the highest LL genotype frequency was determined in the Brown Swiss breed. The highest VV and LV genotype frequencies were determined in the Simmental breed. In this study, L allele frequency was higher than V allele in all breeds. End of the study, κ -CN and bGH loci were found H-W equilibrium. But HW equilibrium wasn't in PRL locus in examined all three breeds. Increased, the number of loci examined and the results of these performance and pedigree records of the animals combined with the need for more comprehensive studies concluded.

Key World: Growth hormone; Kappa-casein; Prolactin; RFLP

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Fenotipik özellikler ve üreme ile ilgili özellikler yönünden bir çiftlik hayvanı popülasyonunun genetik karakterizasyonu, yetiştiricilik açısından önemli bir avantajdır. Sürülerin genetik karakterizasyonu, yetiştirme stratejilerinin belirlenmesine, kullanılacak ırkların seçimine, genetik çeşitliliğin değerlendirilmesine yardımcı olur. Irk içindeki genetik çeşitliliğin azalması ırkın genetik ilerlemesini azaltır. Bu durum özellikle suni tohumlama ve embriyo transferi gibi yardımcı üreme tekniklerinin oldukça yaygın olarak kullanılması ile birlikte artmıştır. Bu uygulamalar yetiştiriciliği yapılan ırk içinde daha az sayıda damızlık kullanılmasına olanak vererek ırk içinde genetik çeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır. Bu nedenle damızlık olarak kullanılacak hayvanların verim özelliklerinin yanı sıra, kullanılması düşünülen damızlık ve damızlık adaylarının genetik yapısı hakkında bilgi sahibi olmak son dönemde önem kazanmıştır. Bu amaca yönelik olarak, fenotipten bağımsız olarak bireyin genetik yapısı hakkında bilgi veren, RFLP ve mikrosatelitler gibi moleküler markırlar kullanılmaktadır. Bu markırlar sığırların ve diğer çiftlik hayvanlarının evciltme yeri ve orijini, ırklar arası ilişki ve ilgili popülasyonların genetik karakterizasyonu çalışmalarında kullanılmaktadır. Ayrıca ebeveyn testinde ve ırk saflığının korunması amacıyla yapılan yetiştirme çalışmalarında da bu belirteç kullanılabilir. Süt ve et verimi üzerine önemli etkileri olduğu düşünülen belirteç genlerden κ -CN, bGH ve PRL hormonu genleri gibi belirteçler, yetiştiricilik açısından eldeki popülasyonun genetik karakterini yansıttığı için çok önemlidir.

Türkiye’de Simmental ırkı yetiştiriciliğine Cumhuriyetin ilk yıllarında başlanmış sonra vazgeçilmiştir. Ancak 1970 yılından sonra tekrar başlanmıştır. İsviçre Esmeri yetiştiriciliğine 1925 yılında, Holştayn yetiştiriciliğine ise 1958 geçilmiştir (1). Bu tarihlerden sonra bu üç ırkın üretilmesi için değişik zamanlarda Avrupa’dan ve ABD’den boğa, düve, gebe düve ve sperm ithal edilmiştir. Bu ırklar Türkiye’de saf yetiştirildiği gibi düşük verimli yerli ırkların ıslahı için genetik materyal olarak da kullanılmıştır. Türkiye’de üretilen sütün önemli bir kısmını kültür ırkı sığırlar ve bunların melezlerinden elde edilmektedir. Ancak bu hayvanların

κ -CN, bGH ve PRL hormonu genlerindeki allellik yapılar hakkında çalışmalar yapılmamıştır. Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarından Holştyan, Simmental ve İsviçre Esmer sığırlarının; daha önce bu ırklarda belirlenmemiş olan κ -CN, bGH ve PRL hormonu genlerinin allel yapılarının RFLP yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Hayvan ıslahında, önemli verim özellikleri bakımından damızlık adaylarının genetik kapasitelerinin doğru olarak belirlenmesi için farklı seleksiyon yöntemleri uygulanmaktadır (29). Damızlık adaylarının gelecekteki verimlerinin doğru tahmin edilebilmesi, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğindeki en önemli ve en karmaşık konulardan biridir. Tüm seleksiyon yöntemlerinde asıl amaç, sonraki jenerasyonların ebeveyni olarak seçilmek istenen bir hayvanın genetik değerini daha yüksek bir doğrulukta tahmin edecek uygun bir yöntemin seçilmesidir (49). Jenerasyon aralığının uzunluğu nedeniyle, süt sığırı yetiştiriciliğinde mevcut konvansiyonel seleksiyon yöntemleri ile hızlı bir genetik ilerleme sağlayabilmek zordur. Bu nedenle jenerasyon aralığı uzun olan sığır, koyun, keçi ve at gibi çiftlik hayvanları türlerinde damızlık adaylarının daha kısa sürede ve daha yüksek doğrulukta belirlenebilmesine olanak verebilecek etkili yöntemler araştırılmaktadır.

Bu soruna son birkaç on yıldır geliştirilen ve artık veteriner hekimlikte de yaygın olarak kullanılmaya başlanan moleküler genetik yöntemlerin çözüm olabileceği düşünülmektedir (29). Özellikle 1980’li yılların ilk yarısında geliştirilen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi, 1990’lı yılların başından itibaren belirli lokuslar yönünden popülasyonlardaki polimorfizmlerin DNA düzeyinde belirlenmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Geliştirilen bu yöntem daha önce protein seviyesinde belirlenebilen genetik polimorfizmlerin nükleik asit seviyesinde belirlenmesine olanak vermiştir. Bu da çiftlik hayvanlarında biyokimyasal olarak belirlenmesi zor olan genetik varyasyonlar ile verimler arasındaki ilişkilerinin araştırılmasına imkan vermiştir.

Klasik seleksiyon yöntemleri ile sağlanabilen genetik ilerleme jenerasyon aralığı uzun olan türlerde yavaş olmaktadır. Ancak klasik seleksiyon yöntemleri ile farklı moleküler genetik yöntemlerin kullanıldığı markır (belirteç) destekli seleksiyon (MAS) metodunun birlikte kullanılması jenerasyon aralığının kılınmasına yardım edecektir. Bu da jenerasyon

aralığı uzun olan türlerde genetik ilerlemeyi hızlandırabilecektir. Bu sayede damızlık çiftlik hayvanlarından, yüksek verimli olanlar daha erken dönemlerde ve cinsiyete bağlı kalınsızın belirlenebilecektir. Moleküler belirteç olarak seçilen genlerdeki polimorfizmlere göre yapılacak seleksiyon uygulamalarının mevcut seleksiyon metotlarına bir alternatif olabileceği bildirilmektedir (39). Bu moleküler yöntem ile genetik belirteçlerin kullanımı seleksiyon çalışmalarının daha kesin ve daha etkili olmasını sağlayabilir (53). MAS yönteminde, farklı belirteç genleri kullanılarak yapılacak seleksiyon sonucunda daha hızlı bir genetik ilerleme sağlamak ve birim hayvandan elde edilmesi beklenen verim düzeyini artırmak hedeflenmektedir (49). MAS yöntemi ile çiftlik hayvanlarında elde edilecek genetik ilerleme hızının %15-30 oranında artırabileceği bildirilmiştir (37). Bishop ve ark. (1995), suni tohumlama ve embriyo nakli gibi yöntemlerin birlikte MAS yöntemi ile birlikte kullanılmasının sığırlarda jenerasyon aralığını 69 aydan 45 aya düşürebileceğini bildirmişlerdir (5).

Moleküler genetik yöntemlerin çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde kullanımı ile kantitatif özellik lokuslarındaki (quantitative trait loci, QTL) varyasyonlar ile et verimi, süt verimi, döl verimi ve süt kompozisyonu gibi önemli verimlerin arasındaki araştırılmaktadır (39). QTL üzerine yapılan çalışmalar sonucunda bu genlerin düzenleyici ve yapısal bölgelerindeki veya bu genlerin komşu dizinlerindeki varyasyonlar ile sığırlarda süt verimi, süt proteini, süt yağı miktarı ve sütün işlenmesi sonucu elde edilen ürünlerin miktarlarındaki farklılıklar arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (18). Genetik belirteç olarak seçilen genler, etkiledikleri fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar ile verim özellikleri arasında bir ilişkinin olup olmamasına göre seçilir (26). Son yıllarda allelik yapıları ve verim ilişkileri nedeniyle çiftlik hayvanlarında genetik belirteç olarak kullanılma potansiyeli olan bazı genler belirlenmiştir (18, 20). Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, moleküler belirteçler ve bu genlerdeki polimorfizmler ile farklı verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalarda artık önem kazanmaya başlanmıştır (20).

Süt verimi ile ilişkili ve damızlık adayının gelecekteki verimini tahmin etmeye yardımcı olabilme potansiyeli olan büyüme hormonu, prolaktin hormonu ve kapa kazein geni gibi genetik belirteç olmaya aday genler tanımlanmıştır. Aday gen olarak adlandırılan genler genel olarak süt verimi, canlı ağırlık artışı gibi kantitatif karakterler üzerine fizyolojik ve biyolojik etkilerinden dolayı seçilirler (53). Böyle genetik belirteçlerin kullanılması ile yapılacak süt

sığırı seçiminin klasik seleksiyon yöntemlerine göre %5 daha hızlı genetik iyileşmeye neden olabileceği bildirilmektedir (33).

Diğer taraftan fenotipik özellikler ve belirteç genlerdeki polimorfizimler ırkların karakterizasyonunda da kullanılmaktadır (25). Ayrıca genetik seçim ve farklı ırklar arasındaki evrimsel ilişkilerin açıklanmasında da aday genlerdeki genetik polimorfizimler önemli bir araştırma konusu olmuştur (44).

Fakat Türkiye’de dahil olmak üzere gelişmekte olan ülkelerde, yerli sığır ırkları ile diğer ırkların karşılaştırılabilmesine olanak veren bilgiler (gen frekansları, gen çeşitliliği ve ırklar arasındaki farklılıkların belirlenmesi) ve kültür ırklarında verimler ile genetik belirteçlerin etkileri hakkında yapılan çalışmalar yetersizdir.

Araştırmacılar, son yıllarda sığırlarda genetik belirteç olarak seçilen aday genler ve bireylerin verim özellikleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmalarını artırmışlardır. Bu amaçla sığır yetiştiriciliğinde süt protein genlerinin polimorfik yapıları ve süt verimi arasındaki ilişkiler, sütün kimyasal kompozisyonu ve sütün teknolojik özellikleri arasındaki ilişkiler üzerine yoğunlaşmışlardır (33).

Tüm dünyada ki süt sığırı yetiştiriciliğinde yapılan seleksiyon çalışmalarında genel olarak süt verimi, süt komponentleri ve süt teknolojisi konuları üzerine odaklanılmaktadır (18). Süt verimi çevre faktörlerinden etkilenen ve çok sayıda genetik lokus tarafından kontrol edilen tipik poligenik bir karakterdir. Son yıllarda süt protein polimorfizmi ile süt verimini etkileyen fizyolojik ve biyokimyasal özellikler arasındaki ilişkide rolü olduğu bilinen bazı genler belirlenmiştir. Bu genlerde bulunan allelik varyasyonların sütün kompozisyonunu, kalitesini ve elde edilen sütteki bireysel farklılıkları etkileyebildiği bildirilmiştir. (3). Büyüme hormonu (growth hormone, GH) ve prolaktin (PRL) hormonu gibi bazı hormonlar ile kappa kazein (κ -CN) gibi süt proteinlerinin allelik yapıları ile süt verimi, süt komponentleri ve süt ürünlerinin elde edilmesi gibi özellikler arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (8, 29). Bu nedenle κ -CN, GH ve PRL genlerinin allelik yapılarının sığırlarda damızlık adaylarında laktasyon performansını tahminde aday gen olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (29).

Süt, içeriğinde bulunan yüksek kalitedeki protein, çeşitli mineral ve vitaminlerden dolayı gerek süt ve gerekse süt ürünleri olarak kullanılan, insanlarda beslenme için gerekli bir besin maddesidir. Sütü sadece süt olarak pazara sürmektense farklı şekil ve tatta süt ürünü olarak pazara sürmek çok daha karlıdır. Günümüzde, süt endüstrisi yüksek kalitede çok çeşitli süt ürünü üretme yeteneğine sahiptir. Ancak bu endüstride rakipler arasındaki rekabetten dolayı firmalar mevcut pazarda yerlerini kaybetmemek veya pazar paylarını artırmak için çaba göstermektedirler. Sütün fabrikalarda işlenmesinde süt komponentlerinin süt içindeki oranı ve süt proteinlerinin kompozisyonunun etkisi olduğu uzun süredir bilinmektedir.

Sütteki protein komponentlerinin oranı çevresel ve genetik faktörlerden dolayı bireysel farklılıklar göstermektedir. Önemli süt proteinlerini kodlayan genler süt protein kompozisyonunda gözlenen varyasyonların belirlenmesi için aday gen olarak düşünülmektedir. Sığır sütlerindeki protein oranı, süt proteinlerinin farklı genetik varyantları tarafından kısmen kontrol edilir (34).

Birçok ülkede süt sığırı yetiştiriciliğinde elde edilen sütün büyük bir kısmı peynir üretiminde kullanılmaktadır. Türkiye’de 2007 yılı itibariyle 11.279.340 ton süt elde edilmiştir (2). Kişi başına ortalama 5 kg peynir tüketilen Türkiye’de her yıl üretilen sütün %20’sinin peynir yapımında kullanıldığı bildirilmektedir. Hâlbuki AB’de kişi başına ortalama peynir tüketimi yaklaşık 15 kg’dır (51). Elde edilen peynirin miktar ve kalitesini, kullanılan süt miktarının yanı sıra, kullanılacak sütteki protein miktarı ve sütün pıhtılaşma durumu da belirler (55). Sütün pıhtılaşması, peynir yapımında temel işlemdir. Bu olay sütteki kazeinin çözünmez duruma geçerek parçalanmayan bir ağ örgüsü meydana getirmesidir (51). Sütün pıhtılaşma özelliklerine; sütteki total kazein konsantrasyonu, sütün kalsiyum pH’sı, süt proteinlerinin genetik polimorfizmi, laktasyon zamanı, laktasyon dönemi ve beslenme gibi birçok faktör etki etmektedir (51, 55). Bu durum gelişmiş batı ülkelerinde süt sığırı yetiştiriciliğinde kullanılan damızlık ve damızlık adaylarının seçiminde kullanılan ırklardan elde edilen sütler kullanılarak yapılan peynirin kalitesinin süt verimi ile birlikte damızlık seçiminde bir kriter olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Peynir kütlesinin büyük çoğunluğunu kazein oluşturduğu için peynir elde etmede kazein allellerinin önemi büyüktür. Bu özelliğinden dolayı kazein genlerinin sığırlarda ki seleksiyon çalışmalarında etkili bir araç olabileceği düşünülmüştür (9, 10, 38).

Ruminatlar arasında süt protein genleri en çok sığır ve keçilerde incelenmiştir. Hayvan yetiştiriciliğinde süt proteinindeki geniş genetik varyasyonlar, temel olarak sütün bileşenleri ve sütün mamulü ürünler üzerindeki etkileri bakımından önemlidir. Bu varyasyonlar, türün yabani veya ilkel ırklarında proteinleri oluşturan amino asit sırasının değişmesi ve/veya amino asidin ortadan kalkması sonucu oluşur. Diğer taraftan proteinleri kodlayan genlerde amino asit sırasında bir değişikliğe neden olmayan mutasyonlar ise ancak moleküler genetik yöntemlerle belirlenebilir. Sığır ve keçi yetiştiriciliğinde süt protein polimorfizmi çalışmaları genotip ve süt verimi arasındaki ilişkilerin araştırılması yanında ırk karakterizasyonu, biyolojik çeşitlilik araştırmaları ve evrim çalışmalarında kullanılmaktadır (10, 24).

Süt proteinlerinde genetik polimorfizm ilk olarak, 1955 yılında β -LG proteininde belirlenmiştir. Kazein proteinlerinden κ -CN'in A ve B allellerinin varlığı ise 1972 yılında belirlenmiştir (36). Daha sonra tüm dünyada β -LG ve κ -CN genlerine göre farklı sığır ırklarının genotiplerinin belirlenmesi ve bu protein sistemleri ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırılması yönünde çalışmalar yapılmıştır (52).

Gerek protein seviyesinde, gerekse DNA düzeyinde süt protein varyantlarındaki polimorfizmlerin belirlenmesi ve bu polimorfizmler ile ekonomik önemi olan özellikler arasındaki olası ilişkiler son yıllarda araştırmacılar için önemli bir çalışma alanı olmuştur. Araştırmacılar bazı süt proteinleri ve bunların farklı allelleri ile süt verimi, süt kompozisyonu ve üretilen peynir miktarı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Süt verimi üzerine etkilerinden dolayı süt proteinlerinin özellikle süt sığırı yetiştiriciliğinde genetik belirteç olarak kullanılabileceği ve böylelikle damızlık adaylarının genetik seçiminde kullanılma potansiyelinin olduğu bildirilmiştir (16).

Sığır sütünün %3-5'ini protein oluşturur. Süt proteininin %80'ini kazein ve %20'sini ise peynir altı suyu proteinleri oluşturmaktadır. Süt proteinleri, peynir üretiminde sütün koagülasyonun ve kesilmesinde önemli rol oynayarak elde edilecek peynirin miktarını belirlerler (9, 38, 48). Sütte α s1-CN (CSN1S1), β -CN (CSN2), α s2-CN (CSN1S2) ve κ -CN (CSN3) olarak adlandırılan dört kazein varyantı, peynir altı suyu proteinleri olarak da bilinen alfa laktoalbumin (α -LA-LAA) ve beta laktoglobulin (β -LG-LGB) olarak adlandırılan iki suda eriyebilen protein vardır (10, 48). Süt proteinlerinden, kazein varyantlarını kodlayan genler

sığır karyotipinin 6. kromozomunda yer almaktadır (3, 6). Kazein varyantlarını kodlayan gen kümesi, kazein lokusu veya kazein süper lokusu olarak adlandırılmaktadır (10, 48). Sütteki peynir altı suyu proteinlerinden α -LA sığır karyotipinin 5. kromozomunda, β -LG geni ise sığır karyotipinin 11. kromozomunda yer almaktadır (10).

En önemli süt proteini olan kazeinin varyantlarının her birinde hem protein seviyesinde hem de DNA seviyesinde farklı alleller belirlenmiştir (9, 38). Süt kazein allel polimorfizmi ve süt verim özellikleri (süt, yağ ve protein verimi ile yağ içeriği ve protein içeriği) arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (23). Kazein proteinlerinden κ -CN'in süt verimi, süt protein kompozisyonu ve sütteki yağ miktarı üzerine etkisi olduğu bildirilmiştir (8). κ -CN'in B allelinin protein verimi üzerinde olumlu etkisinin olduğunu bildiren çalışmalar vardır (52). Bazı araştırmacılar, daha iyi pıhtılaşma elde edilmesi ve pıhtılaşma süresinin kısaltmasını sağlayarak daha yüksek peynir elde edilmesine yardımcı olduğu için κ -CN-B allelinin A allelinden daha çok tercih edilebileceğini bildirmişlerdir (38). Hatta bu allellerin reproduktif performans üzerine etkisi olduğu bile bildirilmiştir (52).

Kapa-kazein, yapı ve allel çeşitliliği bakımından diğer kazein varyantlarında oldukça farklıdır. κ -CN geninin toplam büyüklüğü yaklaşık 13 kb'dir. Gendeki polimorfizmler, genin dördüncü ekzonunda lokalize olmuş ve çoğunlukla gende tek baz değişiklikleri sonucu oluşur (38, 48). κ -CN genindeki allelik yapı başlangıçta protein düzeyinde incelenmişken, şu anda DNA kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu temelli yöntemlerle tiplendirilmektedir. Bu sayede sığırlarda κ -CN geninin A, B, B2, C, E, F, F1, G, H, I, A(1) ve J olarak adlandırılan 12 alleli belirlenmiştir (16). Gerçek sığırlar dışında ilkel bir sığır türü olan yaklarda G1 olarak adlandırılan yeni bir allel belirlenmiştir. Bu allellerden çoğunun sadece birkaç sığır ırkında ve çok düşük frekansta bulunduğu belirlenmişken, A ve B allelleri hemen her sığır ırkında en yaygın görülen iki alleldir (27, 48). Bu iki allel birbirinden iki amino asit yer değiştirmesi ile ayrılırlar (20, 27, 38, 48). κ -CN-A allelinde, genin kodladığı proteinin 136. amino asidi threonine (ACC) ve yine bu genin kodladığı proteinin 148. amino asidi aspartik asittir (GAT) (48). κ -CN-B allelinde ise bu iki amino asit, bu amino asitleri kodlayan kodonlarda tek baz değişikliğine neden olan iki ayrı nokta mutasyonu sonucu threonine amino asidi, izolösin (ATC) amino asidine; aspartik asit amino asidi ise alanin (GCT) amino asidine dönüşmüştür (38).

κ -CN geninin A ve B allellerinin belirlenmesi pratik olarak önemlidir. κ -CN-B alleli ile sütteki protein ve yağ oranları ile peynir üretimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (27). Çünkü κ -CN-B allelini taşıyan sığırların sütleri daha iyi ısı dayanıklılığına sahiptir. Bu durumda peynir yapımında istenen özellikler olan daha kısa sürede pıhtılaşma, daha iyi kesilme ve farklı büyüklükte misel oluşumunu sağlar. κ -CN-BB genotipli hayvanların sütlerinden %10 daha fazla peynir elde edildiği bildirilmiş ve κ -CN-B allelin damızlık seçimi için birçok ülkede sığır yetiştirme programlarının parçası olmuştur (48). κ -CN-B allelinin süt pıhtılaşma oranının artırdığını ve genotipinde B alleli bulunan hayvanların sütleri kullanıldığında daha yüksek miktarda peynir elde edildiğini, E allelinin ise sütün pıhtılaşma özelliğini düşürdüğü için istenmediği bildirilmiştir (55). ABD’nde iki ayrı Holştayn sürüsünün süt verim özellikleri ve κ -CN lokusunun incelenmesinde B alleleline sahip hayvanların süt verimlerinin istatistiksel olarak diğer allellere sahip hayvanlarda daha yüksek olduğu görülmüştür (23). Süt verimi ve döl verimleri ile süt protein genlerindeki allelik yapılar arasındaki ilişkilerin incelendiği bir çalışmada, Macar-Holştayn ineklerinde α s1-, β - ve κ -CN ile β -LG lokuslarının farklı genotiplerinin hayvanların süt ve döl verimlerine etkilerinin incelenmiştir. Bu çalışma sonunda diğer süt protein lokuslarına göre κ -CN ve β -LG genotiplerinin süt verimi ve fertiliteye etkilerinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonunda ise κ -CN lokusunda A ve B allelleri yönünden heterozigot sığırların ilk laktasyonda ki süt verimlerinin homozigot olanlardan daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (29).

Buna rağmen süt verim özellikleri üzerine κ -CN genotiplerinin etkileri hakkında bildirilen sonuçlar çelişkilidir. κ -CN-B allelinin süt protein verimi ve süt içeriği üzerine olumlu etkisinden dolayı bir seçim kriteri olabileceğinin birçok çalışmada bildirilmesine rağmen B allelinin bu verim özellikleri ile ilişkisinin olmadığını bildiren çalışmalarda mevcuttur (52).

Çiftlik hayvanlarında süt protein polimorfizmlerinin incelendiği çalışmalardan sonra yoğun olarak incelenen bir diğer gen ise büyüme hormonu (bGH) genidir (26). Sığırlarda büyüme hormonunu kodlayan gen, sığır karyotipinin 19. kromozomunda lokalize olmuştur (14, 20, 29, 50). Bu hormonu kodlayan gen yaklaşık 1800 baz çifti uzunluğunda ve beş ekzon, dört introndan oluşur (56). Büyüme hormonu (GH); büyümenin düzenlenmesi, meme bezinin gelişmesi, laktasyonun başlaması, glukogenezis, lipolizisin aktive olması, kas gelişmesinin düzenlenmesi gibi oldukça çok fizyolojik olaya katılmaktadır (39, 53). Ayrıca embriyo

gelişimi, dişi ve erkek hayvanlarda gamet üretimi ve gametlerin olgunlaşmasını stimüle ederek gametogenesis sürecinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (14, 50). Sığırlarda GH postnatal hücre büyümesinin teşvik eder. Ayrıca GH, bireyin yediği yemlerden aldığı besinlerinden süt sentezinin aşamalarındaki fizyolojik işlemleri de kontrol eder (29).

Süt verimi, doğum sonrası büyüme ve gelişmedeki önemli rolünden dolayı bGH konsantrasyonu ve bu hormonu kodlayan gendeki allelik varyasyonlar araştırmacıların özel olarak dikkatlerini çekmiştir (27). Bu nedenle süt protein genlerine ilaveten bGH geninin büyüme, vücut kompozisyonu, metabolizmanın düzenlenmesi, lakyasyon ve meme bezinin gelişmesi olaylardaki rolünün fark edilmesinden dolayı çiftlik hayvanlarında bGH genindeki allelik varyasyon ve çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkiler yoğun olarak çalışılmıştır (44).

Sığırlarda GH geni ile özellikle süt verimi ve kalitesi (18), büyüme (53), karkas kompozisyonu ve kalitesi (22) gibi bazı verim özellikleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bGH geninin çiftlik hayvanlarında süt üretimi, büyümenin kontrolü, et verimi ve kalitesi ile ilgili bir belirteç gendir (45, 49). Bu etkilerinden dolayı süt ve et veriminin iyileştirilmesi yönünden yapılacak ıslah çalışmalarında iyi bir aday gen olabileceği düşünülmektedir (39).

Sığır büyüme hormonu, prolaktin (PRL) ve plasental laktogen (PL) olarak da bilinen korionik somatomammotropin (CS) hormonları gibi çok sayıda hemopoetik büyüme faktörlerinin de dahil olduğu somatolaktogenik hormonlar ailesinde peptit yapılı bir hormondur (26, 29). Ön hipofiz bezinde sentezlenen büyüme hormonu, 22 kDa büyüklüğünde tek zincirli polipeptit yapıda bir hormondur (19, 39). Hormonu oluşturan protein yapı iki disülfür köprüsü içeren 190 veya 191 amino asitten oluşur (20, 29, 50, 56).

Sığır GH geninde birkaç polimorfizm bulunmuştur (14, 20, 29). Mevcut polimorfizmler genin beşinci ekzonunda, üçüncü intronunda ve bunlara yakın bölgelerde bulunmuştur. Bu polimorfizmlerin gende birkaç allelik yapıyı oluşturduğu belirlenmiştir (15, 50).

Bunlardan ilki, genin 2141. pozisyonunda bir nokta mutasyonunun neden olduğu C→G yer değişimi sonucu oluşan polimorfizmdir (26, 29). Bu mutasyon, genin kodladığı proteinin 127. amino asidi olan lösinin'i (Leu) kodlayan kodonun (CTG) valin'i kodlayan (Val) kodona

(GTG) dönüştürür (39, 50). Meydana gelen bu baz değişikliği bGH lokusunda normalde var olan bir *AluI* enzim kesim bölgesinin ortadan kalkmasına neden olur. Bu enzimin kesip/kesmemesine göre bireylerin genotipleri belirlenir (27, 29, 39). Bu değişim ile bGH geninde “L” ve “V” olarak adlandırılan iki allel ortaya çıkmıştır (20). Bu mutasyonun bulunduğu bireylerde bGH geninin “V” alleli, mutasyonun olmadığı bireylerde ise bGH geninin “L” alleli bulunur (12, 56).

Büyüme hormonu geninde ki diğer bir polimorfizim ise genin üçüncü intronunda görülmüştür. Bu polimorfizmin genin üçüncü intronunun 1547. pozisyonunda bir C→T değişimine neden olan nokta mutasyonundan kaynaklanmaktadır (20). Meydana gelen bu mutasyon sonunda gendeki *MspI* restriksiyon endonükleaz enziminin tanıdığı bölgeyi ortadan kaldırır. Sonuçta *MspI*’nin tanıdığı bölgenin varlığı veya yokluğuna göre *MspI* (+) veya *MspI* (-) olarak adlandırılan iki allel ortaya çıkar (29, 56). Bundan başka genin 837. pozisyonunda bir T eklenmesi ve yine genini 838. pozisyonunda meydana gelen bir C→G yer değişimine neden olan iki sessiz mutasyon belirlenmiştir (20).

Şu ana kadar bGH geninde görülen polimorfizmler ile farklı sığır ırklarındaki et verimi özellikleriyle, bazı vücut ölçüleri, farklı yaşlarda canlı ağırlık artışı ve kandaki GH konsantrasyonu arasındaki ilişkisi incelenmiştir (15). Yapılan moleküler genetik çalışmalar sonunda süt verimi ve canlı ağırlık artışı gibi verim özellikleri ile bGH genindeki bazı polimorfizmler arasında ilişkinin olduğu bildirilmiştir (44, 53, 56).

Ancak, sığırlarda süt verimi, süt protein ve süt yağı oranları gibi verim özellikleri ile GH-*MspI* polimorfizmi arasında ilişki olmadığı yönünde çalışmalar da vardır. Aynı şekilde verim özellikleri üzerine bGH genindeki Leu/Val polimorfizminin etkilerini inceleyen çalışmalarda da farklı sonuçlar bildirilmiştir (18, 20).

Prolaktin (PRL) hormonu, protein tabiatındaki hormonlar ailesindendir (28, 45). Hormon hipofiz bezinin ön lobundan salgılanması dışında merkezi sinir sistemi, immun sistem ve meme bezi hücrelerinde de hormonu kodlayan genin gen ekspresyonu gözlenmiştir (45).

Hipofiz bezinin ön lobundan salgılanan PRL hormonunun, çeşitli omurgalı türlerinde 300’den fazla aktivitede görev aldığı belirlenmiştir (3, 7, 45). Prolaktin hormonu, laktasyonun

başlatılması ve sürdürülmesi için gereklidir (19, 28). Prolaktin hormonu, memelilerde canlılarda sadece laktasyonu başlatmaktan değil aynı zamanda meme bezinin büyümesi ve laktogenezisden de sorumludur (3). Sığırlarda PRL hormonu meme alveollerinden süt proteinlerinin sentezi ve sekresyonu ve meme bezinin büyümesinin düzenlenmesinde görev alır (7). Ayrıca hormon üremenin, immunolojik reaksiyonların, vücuttaki sıvı dengesinin, hücrel büyümenin ve hücrelerin farklılaşmasının düzenlenmesinde de görev alır (19, 45).

Bu etkileri nedeniyle PRL geninin süt verimim özelliklerin etkileyen kantitatif özellik lokuslarına (QTL) ilişki analizlerinde iyi bir aday gen olabileceği görülmüştür (3, 7). Bu özelliklerinden dolayı sığırlarda bu genin süt verimi için potansiyel genetik belirteç olacağı düşünülmektedir (3, 28, 45). Beş ekzondan ve dört introndan oluşan prolaktin hormonunu kodlayan gen sığır karyotipinin 23. kromozomunda haritalandırılmıştır (7, 45). Bir çok memeli türünde, prolaktin hormonunun 197-199 amino asitten oluştuğu bildirilmiştir. Sığır PRL hormonu 199 amino asitten oluşmaktadır (19).

Ancak, sığırlarda PRL gen polimorfizmi hakkında henüz oldukça az bilgi vardır (27). Sığır PRL geni içinde birkaç polimorfizm bildirilmiştir (3, 7). Genin üçüncü ekzonunda 103. amino asidi kodlayan kodonda sessiz bir A-G değişimi belirlenmiştir ve bu değişimin olduğu bölgede bir *RsaI* polimorfizmine neden olmuştur (45). Şu ana kadar PRL geninin üçüncü ekzonunun *RsaI* restriksiyon polimorfizmi üç sığır ırkında, zebuda ve mandada çalışılmıştır (28). Sığır PRL geninin üçüncü ekzonunu kodlayan bölgenin *RsaI* enzimin ile kesilmesinden B ve b olarak adlandırılan iki allelik varyant belirlenmiştir (3).

Bu polimorfizmlerin genetik belirteç olarak kullanılabilmesi için prolaktin geninin varyantları ve süt performans özellikleri arasındaki olası ilişkilerin ortaya konulması için çalışmalar yapılmaktadır (7). İncelenen tür ve ırklarda PRL-*RsaI* polimorfizmleri ile süt verimi, süt yağı oranı ve süt protein içeriği arasında ilişkili olduğunu (45) ve olmadığını (28) bildiren çalışmalar vardır. Ancak sığırlarda süt verimi, süt kompozisyonu üzerine PRL geninin etkisinin ortaya çıkarılması için süt verim parametreleri ile *bPRL* geninin polimorfik varyantları arasındaki ilişkilerini üzerine daha çok araştırma yapılması gerekmektedir. Çünkü bu genin varyantlarının genetik ıslah çalışmaları ve yetiştiricilik için uygun test yönteminin geliştirilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir (28).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

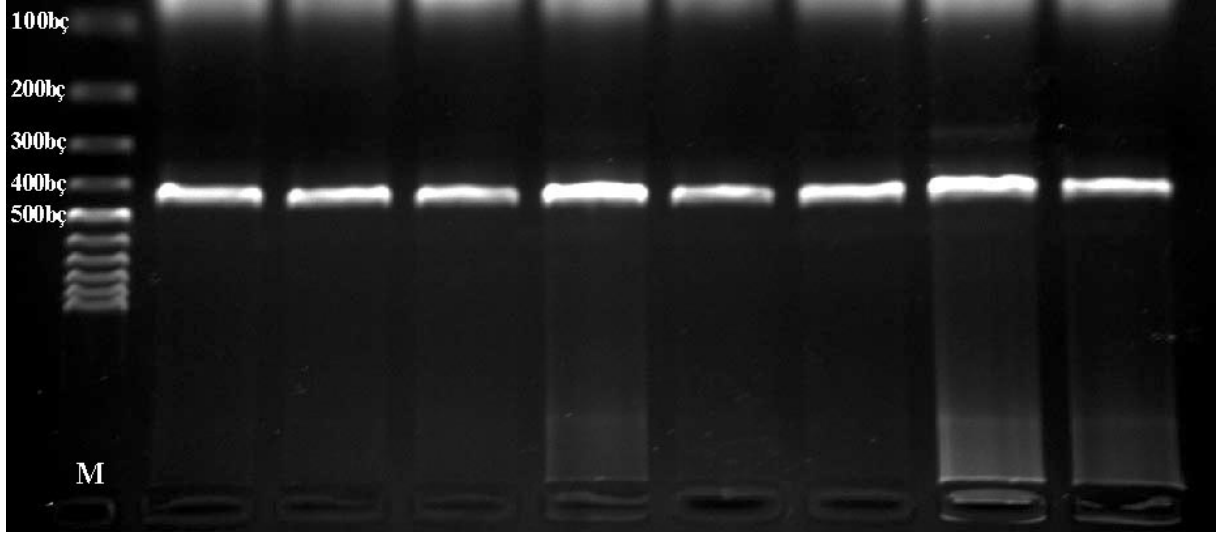
Projenin materyalini, Damızlık Sığır Yetiştiriciler Birliği ile Kayseri ve civarında halk elinde yetiştirilen 150 baş Holştayn (hepsi dişi), 50 baş Simmental (hepsi erkek) ve 50 baş İsviçre Esmerleri (hepsi erkek) oluşturmuştur. Her üç ırktan toplam 250 baş hayvan incelenmiştir. Bu ırklardan Holştayn, Türkiye’de süt üretiminde en yaygın kullanılan ırk olduğu için proje materyalinin büyük kısmını oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan hayvanlardan DNA izolasyonu için kan alınmıştır. Kan, vakumlu ve antikoagulanlı tüplerle Vena jugularis’ten tek kullanımlık steril iğnelerle alınmıştır. İncelenen hayvanlardan DNA için fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile izole edilmiştir. **Kapa kazein** allellerini belirlemek için yapılacak polimeraz zincir reaksiyonunda (PZR) primer olarak forward: 5' - GCT GAG CAG GTA TCC TAG TTA T - 3'; reverse: 5' - CTT CTT TGA TGT CTC CTT AGA G - 3', **bGH** için primer olarak: forward: 5' - GCT GCT CCT GAG GGC CCT TCG - 3'; reverse: 5' - GCG GCG GCA CTT CAT GAC CCT - 3', **PRL hormonu geni** için primer olarak: forward: 5' - CGA GTC CTT ATG AGC TTG ATT CTT - 3'; 5' - GCC TTC CAG AAG TCG TTT GTT TTC - 3' olacak şekilde üç primer seti kullanılmıştır. Her üç lokusa için PZR reaksiyonu; 1.5 µl DNA, 2 U Taq polimeraz, 50 µM dNTP Mix ve 0.2 µM her üç lokusa özgü forward ve revers primerler ilave edilerek toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde hazırlanan PZR karışımlarının termal cyclus cihazına yerleştirilmesi ile yapılmıştır. Kapa kazein allellerinin belirlenmesinde uygulanan PZR işlemi; 94 °C’de 5 dakika süren DNA denatürasyonundan sonra bir döngüsü 94 °C’de 40 saniye, 60 °C’de 40 saniye, 72 °C’de 40 saniye olacak şekilde 40 döngü yapılmıştır. Son döngüyü takiben 72 °C’de 10 dakika tutularak PZR işlemi bitirilmiştir. Yapılan PZR işlemi sonunda, 443 bp’lik bantların görüldüğü örneklerle ait PZR ürünlerinden 10 µl alınarak 5 U *HindIII* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim işlemi 37 °C’de 3 saat tutularak enzimin PZR ürünlerini kesmesi sağlanmıştır. Endonükleaz ile kesilen PZR ürünlerine %3’lük NuSieve agaroz jel (FMC) elektroforezi ile ayrılarak incelenen örneklerin κ -CN yönünden allelik yapıları belirlenmiştir. Prolaktin allellerinin belirlenmesinde uygulanan PZR işlemi; yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan PZR karışımlarının termal cyclus cihazına yerleştirilerek, 94 °C’de 4 dakika süren DNA denatürasyonundan sonra bir döngüsü 94 °C’de 30 saniye, 55 °C’de 30 saniye, 72 °C’de 30 saniye olacak şekilde 40 döngü yapılmıştır. Son döngüyü takiben 72 °C’de 10 dakika tutularak PZR işlemi bitirilmiştir. Yapılan PZR işleminin sonunda 156 bp’lik bantların görüldüğü örneklerle ait PZR ürünlerinden 10 µl alınarak 5 U *RsaII* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir.

Kesim işlemi 37 °C’de 3 saat tutularak, enzimin PZR ürünlerini kesmesi sağlanmıştır. Endonükleaz ile kesilen PZR ürünlerine %2,5’luk agaroz jel elektroforezi ile ayrılarak incelenen örneklerin prolaktin geni yönünden allelik yapıları belirlenmiştir. İncelenen örneklerde bGH genini allellelik yapılarının belirlenmesinde uygulanan PZR işlemi; yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan PZR karışımları termal cyler cihazına yerleştirilerek, 94 °C’de dakika süren DNA denatürasyonundan sonra bir döngüsü 94 °C’de 40 saniye, 60 °C’de 40 saniye, 72 °C’de 40 saniye olacak şekilde 40 döngü yapılmıştır. Son döngüyü takiben 72 °C’de 10 dakika tutularak PZR işlemi bitirilmiştir. Yapılan PZR işleminin sonunda 223 bp’lik bantların görüldüğü örneklere ait PZR ürünlerinden 10 µl alınarak 5 U *AluI* endonükleaz enzimi kesilmiştir. Kesim işlemi 37 °C’de 3 saat tutularak enzimin PZR ürünlerini kesmesi sağlanmıştır. Endonükleaz ile kesilen PZR ürünlerine %3’lük agaroz jel elektroforezi ile ayrılarak incelenen örneklerin büyüme hormonu geni yönünden allelik yapıları belirlenmiştir. Elektroforez işleminden sonra tanı için gerekli bantlar görüntülemek için jeller jel görüntüleme sisteminde ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir. İncelenen bireylerde, bireylerin genotipik yapıları ve allel frekansları gen sayımı ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

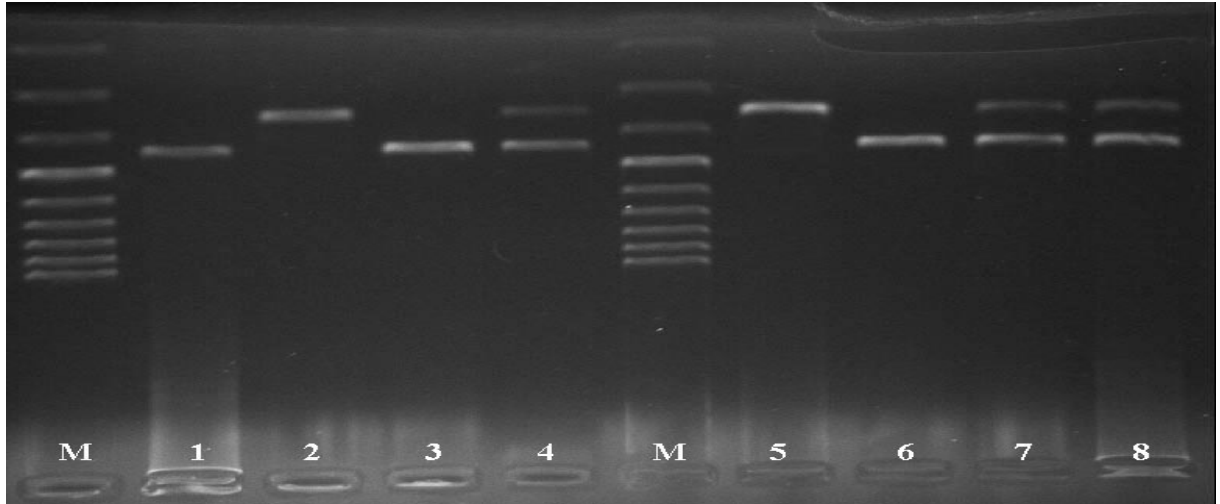
Yapılan PZR işlemleri sonunda incelenen örneklerde genotiplendirmesi yapılması planlanan lokuslara ait PZR ürünleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri uygun restriksiyon enzimi ile beklendiği şekilde kesilerek çalışmada kullanılan örneklerin her lokus için genotiplendirmesi yapılmıştır.

Kappa kazein geni için yapılan PZR işlemi sonunda incelenen örneklerden 443 bç’lik tek bir bant elde edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. κ -CN lokusu için yapılan PZR sonunda elde edilen 443 bç'lik ürünler, M 100 bç'lik DNA merdiveni

Kappa kazein geni için *Hind*III endonükleaz enzim kesimi sonunda homozigot BB genotipte olan hayvanlarda 348 bç 95 bç'lik iki bant, AB genotipinde olanlarda ise 443, 348 ve 95 bç'lik üç bant ve homozigot AA genotipinde olanlarda ise 443 bç'lik tek bant gözlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. κ -CN geni için 443 bç'lik PZR ürünlerinin *Hind*III endonükleaz enzim kesiminin %3'lük NuSieve agaroz jel elektroforez görünümü. M 100 bç'lik DNA merdiveni; 1, 3 ve 6 AA (443 bç) genotipli bireyler: 2 ve 5 BB (348, 95 bç) genotipli bireyler: 4, 7 ve 8 AB (443, 348, 95 bç) genotipli bireyler

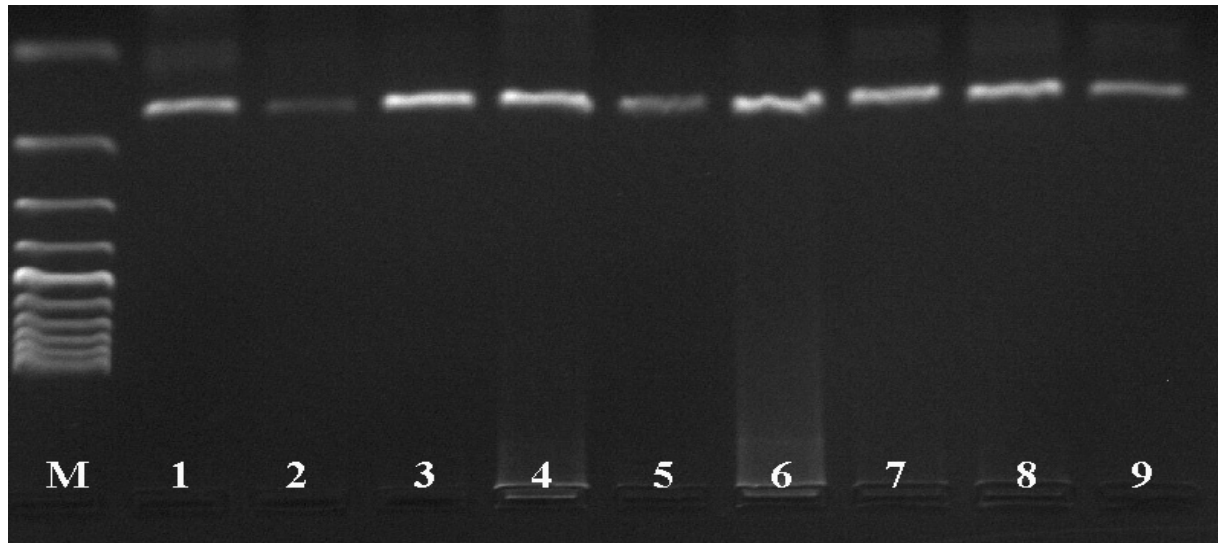
Kapa-kazein geni için incelenen örneklerle ait PZR ürünlerinin *Hind*III enzim kesimi sonucunda elde edilen bantlara göre en yüksek AA genotip frekansı Holştayn ırkında, BB genotip frekansı İsviçre Esmerlerinde, AB genotip frekansı ise Simmental ve İsviçre Esmeri ırklarında görülmüştür. İncelenen ırklara ait örneklerde A allelinin frekansı Simmental ve Holştayn ırklarında B alleleline göre yüksek bulunmuşken, İsviçre Esmerlerinde B allelinin frekansı A allelinden yüksek bulunmuştur. İncelenen ırklara ait genotip prevalansları ve allel frekansları Tablo 1’de verilmiştir. Allel frekansları sayım yolu ile elde edilmiştir. İncelenen ırkların κ -CN lokusu yönünden ki-kare test sonuçlarının istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Tablo 1. Türkiye’de yetiştirilen Simmental (Sim), İsviçre Esmeri (BS) ve Holştayn (HL) sığırlarında Kappa Kazein CSN3 lokusunun heterozigotluk derecesi, allele ve genotip frekansları.

İrk	Birey Sayısı	Genotip Frekansı			Allel Frekansı		X^2 (HW)	P
		AA(n) ^a	BB(n) ^a	AB(n) ^a	A	B		
Sim	50	0,54 (27)	0, 10 (5)	0,36 (18)	0,62	0,38	5,74	P>0,05
BS	50	0,18 (9)	0,28 (14)	0,36(27)	0,45	0,55	0,413	P>0,05
HL	150	0,69 (104)	0,05 (8)	0,26 (38)	0,82	0,18	3,017	P>0,05

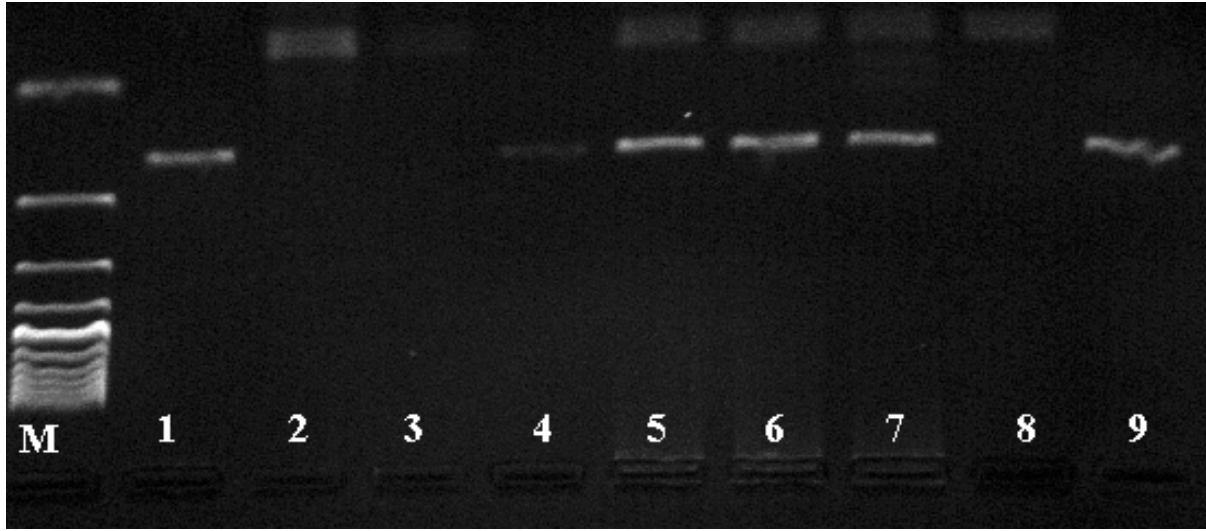
^a κ -CSN genotiplerindeki birey sayısı

Prolaktin geni için yapılan PCR işlemi sonunda incelenen örneklerden 156 bç’lık tek bir bant elde edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. PRL lokusu için yapılan PCR sonunda elde edilen 156 bç'lik ürünler, M 100 bç'lik DNA merdiveni

Prolaktin geni için *RsaII* endonükleaz enzim kesimini takiben AA genotipindeki hayvanlarda 156 bç'lik tek bant, AB genotipindeki hayvanlarda 156, 82 ve 74 bç'lik üç bant ve BB genotipindeki hayvanlarda 82 ve 74 bç'lik iki bant gözlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. PRL geni için 156 bç'lik PZR ürünlerinin *RsaII* endonükleaz enzim kesiminin %2,5'lük jel elektroforez görünümü. M 100 bç'lik DNA merdiveni; 1, 4 ve 9 AA (156 bç) genotipli bireyler; 2, 3 ve 8 BB (82, 74 bç) genotipli bireyler; 5, 6 ve 7 AB (156, 82, 74 bç) genotipli bireyler.

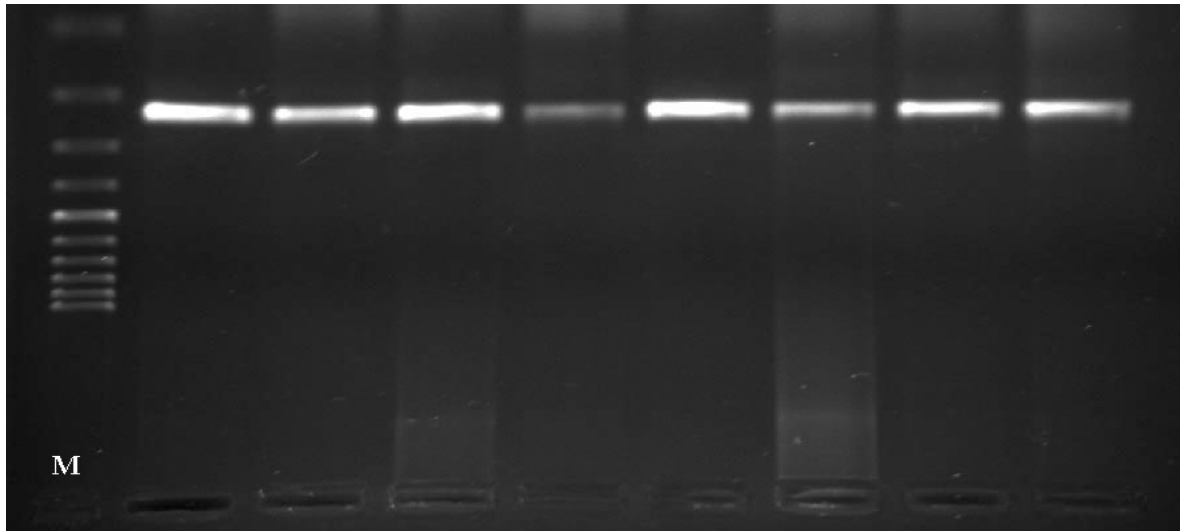
Prolaktin geni için incelenen örnekler için PZR ürünlerinin *RsaII* endonükleaz enzim kesimi sonucunda elde edilen bantlara göre en yüksek AA genotip frekansı Holştayn ırkında, BB genotip frekansı her üç ırkta da bir birine eşit bulunmuştur. En yüksek AB genotip frekansı ise İsviçre Esmeri ırklarında görülmüştür. İncelenen ırklara ait örneklerde A allelinin frekansı Holştayn ırkında B allele göre yüksek bulunmuşken, İsviçre Esmerlerinde B allelinin frekansı diğer ırklarla karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. İncelenen ırklara ait genotip prevalansları ve allel frekansları genotip prevalansları ve allel frekansları Tablo 2'de verilmiştir. Allel frekansları sayım yolu ile elde edilmiştir. İncelenen ırkların PRL lokusu yönünden ki-kare test sonuçları incelendiğinde Simmental ırkına ait örneklerin 0,05; İsviçre Esmeri örneklerinin 0,01 ve Holştayn ırkına ait örneklerin ise 0,001 düzeyinde istatistiki olarak önemli oldukları belirlenmiştir.

Tablo 2. Türkiye’de yetiştirilen Simmental (Sim), İsviçre Esmeri (BS) ve Holştayn (HL) sığırlarında of Prolaktin PRL lokusunun heterozigotluk derecesi, allele ve genotip frekansları.

Irk	Birey Sayısı	Genotip Frekansı			Allel Frekansı		X^2 (HW)	P
		AA(n) ^c	BB(n) ^c	AB(n) ^c	A	B		
Sim	50	0,64(32)	0,02(1)	0,34(17)	0,81	0,19	0,547	P<0,05
BS	50	0,54(27)	0,02(1)	0,46(22)	0,76	0,24	2,124	P<0,01
HL	150	0,77(115)	0,02(3)	0,21(32)	0,87	0,13	0,312	P<0,001

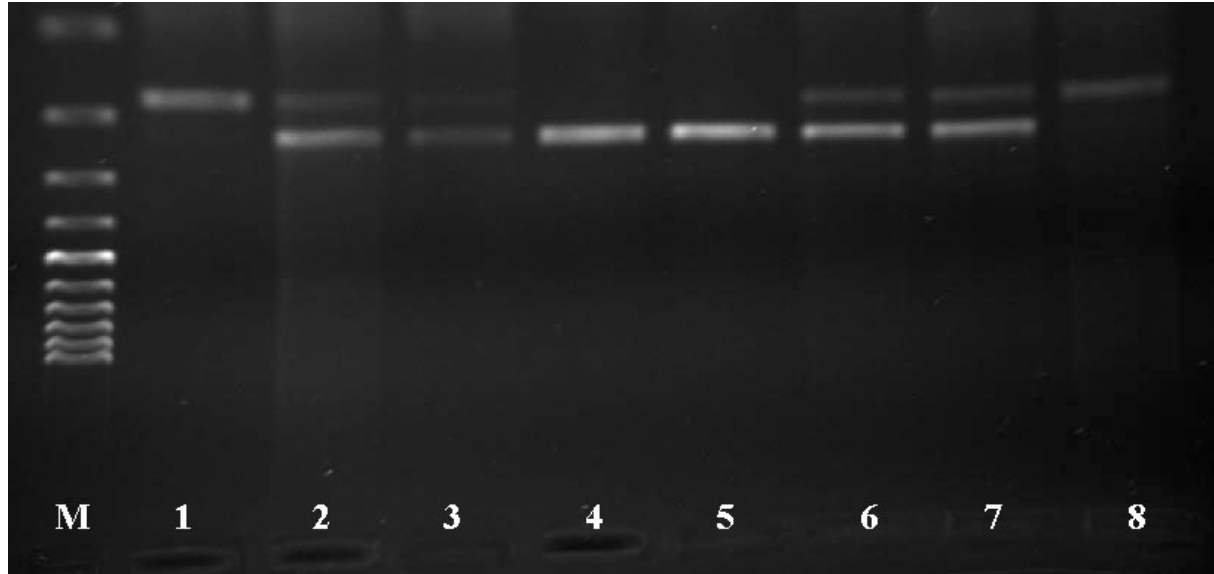
^c PRL genotiplerindeki birey sayısı

Büyüme hormonu geni için yapılan PCR işlemi sonunda incelenen örneklerden 223 bç’lik tek bir bant elde edilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. bGH lokusu için yapılan PCR sonunda elde edilen 223 bç’lik ürünler, M 100 bç’lik DNA merdiveni

Büyüme hormonu geni için *AluI* endonükleaz enzim kesimini takiben VV genotipindeki hayvanlarda 223 bç’lik tek bant, LV genotipindeki hayvanlarda 223, 171 ve 52 bç’lik üç bant ve LL genotipindeki hayvanlarda 171 ve 52 bç’lik iki bant gözlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. bGH lokusu için yapılan PCR sonunda elde edilen 223 bç'lik ürünlerin *AluI* enzim kesiminin %3'lük jel elektroforez görünümü. M 100 bç'lik DNA merdiveni; 1 ve 8 LL (171, 52 bç) genotipli bireyler; 4 ve 5 VV (223 bç) genotipli bireyler; 2, 3, 6 ve 7 LV (223, 171, 52 bç) genotipli bireyler.

Büyüme hormonu geni için incelenen örneklerle ait PZR ürünlerinin *AluI* endonükleaz enzim kesimi sonucunda elde edilen bantlara göre en yüksek LL genotip frekansı İsviçre Esmeri ırkında, VV ve LV genotip frekansları Simmental ırkında görülmüştür. İncelenen ırkların hepsinde L allelinin frekansı V alleleline göre yüksek bulunmuştur. Ancak Simmental ırkında V allelinin frekansı diğer ırklardan yüksek bulunmuştur. İncelenen ırklara ait genotip prevalansları ve allel frekansları Tablo 3'de verilmiştir. Allel frekansları sayım yolu ile elde edilmiştir. İncelenen ırkların bGH lokusu yönünden ki-kare test sonuçlarının istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3. Türkiye'de yetiştirilen Simmental (Sim), İsviçre Esmeri (BS) ve Holştayn (HL) sığırlarında of Büyüme Hormonu GH1 lokusunun heterozigotluk derecesi, allele ve genotip frekansları.

İrk	Birey Sayısı	Genotip Frekansı			Allel Frekansı		χ^2 (HW)	P
		LL(n) ^b	VV(n) ^b	LV(n) ^b	L	V		
Sim	50	0,50(25)	0,18(9)	0,32(16)	0,66	0,34	4,118	P>0,05
BS	50	0,76(38)	0,08(4)	0,16(8)	0,84	0,16	8,191	P>0,05
HL	150	0,77(115)	0,06(9)	0,17(26)	0,85	0,15	13,703	P>0,05

^b bGH1 genotiplerindeki birey sayısı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığır yetiştiriciliğinde uygulanan seleksiyon programları öncelikli olarak süt verimi ve et verim özelliklerinin ıslahı göz önünde tutularak yapılmıştır. Ortaya çıkmasında aditif genlerin öncelikle rol oynadığı kantitatif karakterler yönünden bireylerin fenotipik değerleri çoğunlukla genotipik değerlerini doğru olarak yansıtmamaktadır. Dolayısıyla kantitatif özellikleri iyileştirmek amacıyla yapılacak seleksiyon çalışmalarında bireylerin fenotipik değerlerinin göz önünde tutulması seleksiyonun etkinliğini ve başarısını düşürebilecektir. Bu nedenle ıslahı düşünülen karakter yönünden damızlıkların genotipik değerlerinin tahmin edilmesi, ıslahın başarısı için büyük önem taşımaktadır. Generasyon aralığının uzun olması sığır, koyun ve keçi gibi çiftlik hayvanlarında kullanılan mevcut ıslah yöntemlerinin başarısı ve etkinliği için önemli bir problemdir. Ayrıca bu türlerde başarı, dikkatli çalışmayı ve düzenli kayıt tutmayı zorunlu kılan uzun bir süre gerektirmektedir. Bu problemler ve ıslah çalışmalarında hedeflenen başarıyı elde etmek için yeni yöntemlerin geliştirilerek ıslah çalışmalarının etkinliğinin artırılması ihtiyacı doğmuştur. Özellikle son yıllarda moleküler genetik alanında elde edilen ilerlemeler, verimle ilişkili olduğu düşünülen çeşitli lokuslardaki genetik

varyasyonların tanımlanmasına ve bu varyasyonlarla verim özellikleri arasındaki ilişkilerin incelenmesine olanak vermiştir.

Mevcut çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde yapılan seleksiyon çalışmalarında, damızlık olarak seçilecek hayvanların genetik değerini daha yüksek bir doğrulukla tahmin etmek ve seleksiyonla hızlı bir genetik ilerleme elde etmek hedeflenmektedir. Diğer taraftan sadece bir cinsiyette görülen özellikleri yönünden, yüksek verimli erkek damızlıkların seçilebilmesi ayrı bir sorundur. Bu amaçla cinsiyete bağlı kalmaksızın, fizyolojik olayları etkileyen bazı genlerdeki varyasyonlar ile kantitatif özelliklerdeki varyasyonlar arasında bir ilişkinin olabileceği fikri (49) ıslah çalışmalarında yeni bir bakış açısı sunmuştur. Özellikle 90'lı yıllardan sonra moleküler genetik alanındaki gelişmeler, verimle ilişkisi olabileceği düşünülen genlerdeki varyasyonların belirlenmesine ve bunlarla verimleri ilişkilendirme çalışmalarının önemini artırmıştır. Bu sayede, Zootečni biliminde kullanılan geleneksel seleksiyon ve verimlerle ilişkisi olduğu düşünülen genlerdeki varyasyonların belirlenerek birlikte kullanılması seleksiyon çalışmalarındaki en önemli sorunlardan jenerasyon aralığını kısaltabilecektir. Bununla genetik ilerlemeyi hızlandırılmasında ve hedeflenen yönde genetik ilerleme sağlayarak, aditif genlerin görev aldığı kantitatif özelliklerin iyileştirilmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (17). Ancak yapılan çalışmalarda, mevcut seleksiyon yöntemleri ile birlikte yapılan genetik karakterizasyon çalışmalarının birlikte kullanılması sonunda elde edilen seleksiyon başarısı hala tartışılmalıdır (37). Bu konu daha çok gen ve daha çok yöntemin araştırılması gerekmektedir. Ancak mevcut veriler ilerisi için umut vermektedir. Bu tür çalışmalarda belirli genlerde görülen varyasyonlar ile verimler arasındaki ilişkilerin araştırılmasında öncelikle fenotiple ilişkisi olduğu düşünülen genler yönünden eldeki hayvan varlığının genetik karakterizasyonun yapılması önemlidir.

Bu çalışmada, sığır yetiştiriciliğinde süt verimi ile ilişkisi olabileceği düşünülen κ -CN, PRL ve bGH genleri yönünden Türkiye'de en çok yetiştirilen kültür sığır ırklarından Holştayn, İsviçre Esmeri ve Simmental ırklarının genetik yapıları incelenmiştir.

Memeli sütlerinde bulunan en önemli süt proteini kazeindir. Kazein varyantlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda kazeinin dört farklı varyantının bulunduğu ortaya konmuştur (37). Ancak ilk çalışmalar protein düzeyinde olması nedeniyle sadece süt verebilen belli yaşta ve dişi hayvanlar kazein varyantlarının belirlenmesi çalışmalarında

kullanılabilmektedir. Ancak 1990'lı yıllardan itibaren moleküler genetik alanında elde edilen gelişmeler bu çalışmalarda DNA düzeyine indirebilmiştir. Bu gelişmeler sayesinde, gen düzeyinde yapılan çalışmalarda yaş ve cinsiyet göz ardı edilerek kullanılan DNA sayesinde birçok farklı tür ve ırktaki süt protein genlerinde bulunan birçok varyasyon tespit edilebilmiştir. Araştırmalar, süt protein genlerinde belirlenen polimorfizmlerin, seleksiyon çalışmalarında kullanılabileceğini bildirmektedirler (36).

5.1. Kapa-Kazein (κ -CN)

Sığır türünde κ -CN geninin A, B, B2, C, E, F, F1, G, H, I, A(1) ve J olarak adlandırılan 12 allelinin varlığı belirlenmiştir (14, 24). *Bos taurus* ve *Bos indicus*'tan köken alan evcil sığır ırklarında belirlenen bu 12 allelden başka Tibet'te yaygın olarak yetiştirilen yaklarda G1 olarak adlandırılan bir allel belirlenmiştir (48). Kapa-kazein geninde bulunan allellerden, A ve B dışındakiler büyük çoğunlukla bir kaç ırkta ve oldukça düşük frekansta görüldüğü bildirilmiştir (14, 24, 48). Sığır ırklarında en yaygın görülen A ve B allelli, κ -CN geninde meydana gelen bir baz değişikliği sonucu oluşmuştur (38, 48). Evcil sığır ırklarında κ -CN-A allellinin frekansı Jersey ve Guernsey gibi sütçü ırklar ile kombine verimli ırklarla karşılaştırıldığında Holştayn ırkında yüksek bulunmuştur (28). Bu bilgiyi doğrular şekilde; Polonya'da (47), İngiltere'de (24), Hindistan'da (38), Portekiz'de (4), Arjantin'de (28, 46), Yunanistan'da (52) ve İtalya'da (10) yetiştirilen Holştayn'larda A allelinin frekansını B allelinden yüksek bulunduğu bildirilmiştir. DNA çalışmalarında elde edilen bulgulara benzer şekilde 203 baş Holştayn inekten alınan süt örneklerin kullanılarak yapılan bir çalışmada incelenen örnekler arasında A allelinin frekansı B allelinden yüksek bulunmuştur (36). Benzer şekilde 150 baş dişi Holştayn'ın incelendiği bu çalışmada da A allelinin frekansı B allelinden yüksek bulunmuştur. Bu çalışma DNA kullanılarak Türkiye'de yetiştirilen Holştany'ların κ -CN allellerinin belirlendiği ilk çalışmadır. Oner ve Elmaci'nin (36) Bursa ilinde yetiştirilen Holştaynları inceledikleri çalışmada AA genotipinin frekansının diğer genotiplerden yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada da AA genotipinin frekansı diğer genotiplerden yüksek bulunmuştur. Ancak Oner ve Elmaci (36) inceledikleri hayvanların κ -CN lokusu yönünden Hardy-Weinberg (HW) dengesinden saptığını bildirmişlerdir. Kayseri ve civarında yetiştirilen 150 baş Holştayn'ın incelendiği bu çalışmada incelenen hayvanlarda κ -CN lokusu yönünden Hardy-Weinberg dengesinin devam ettiği belirlenmiştir. Bunun sebebinin, Oner ve Elmaci'nin (36) yaptıkları çalışmada sadece Bursa ilinde yetiştirilen Holştaynlar incelenmiş olmalarından kaynaklandığı düşünülebilir. Ayrıca incelenen bireylerin akrabalık durumları

hakkında bir bilgi yoktur ve incelenen bireyler akraba olabilirler. Diğer taraftan sütte daha yüksek oranda kazein, total protein, yağ içermesi ile daha yüksek randımanda peynir elde edilmesine olanak vermesi hem de daha kısa sürede peynir oluşması ile ilişkisi olması sebebiyle (36, 38) incelenen örnekler B alleli yönünden bilmeden bir seleksiyona uğramış ve bu durumda HW dengesinin bozulmasına sebep olduğu düşünülebilir. Yapılan bu çalışmada ise hem Kayseri ilinden hem de Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği tarafından farklı illerden temin edilen dişi hayvanlar kullanılmıştır. İncelenen hayvanların ana-kız ve mümkün olduğu kadar baba bir kardeş olmamalarına dikkat edilmiştir. Bu sayede Türkiye’de yetiştirilen Holştayn ırkının daha iyi temsil edildiği düşünülmektedir.

Tüm Dünyada yaygın yetiştiriciliği yapılan kültür sığır ırkları içinde κ -CN geni yönünden en çok incelenen ırk Holştayn ırkı olmuştur. Holştayn ırkı ile karşılaştırıldığında İsviçre Esmeri ve Simmental ırklarında κ -CN geni ile ilgili literatürde çok az çalışma vardır. İsviçre Esmerlerinin incelendiği birkaç çalışmada Holştayn’lardan farklı olarak κ -CN-B allel frekansının A allelinden yüksek olduğu belirlenmiştir (10, 16, 32). Bu bilgiler ile uyumlu olarak 50 baş İsviçre Esmeri’nin incelendiği bu çalışmada B allelinin frekansının (0,55), A allelinden yüksek olduğu ancak incelenen örneklerde HW dengesinin devam ettiği görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda sütçü-etçi kombine bir ırk olan Simmental ırkında κ -CN-A allel frekansının B allelinden yüksek olduğu ancak Holştayn ırkından farklı olarak iki allel arasındaki frekans farkının çok yüksek olmadığı bildirilmiştir (9, 33, 54). Bu çalışmada da κ -CN-A allelinin frekansı (0,62) B allelinden yüksek bulunmuştur. Ancak bu frekansın Holştaynlardaki A allelinin frekansından (0,82) düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada incelenen üç ırka ait κ -CN genine ait allel verilerinin tüm dünyada ki verilerle uyumlu olduğu ve her üç ırkında κ -CN lokusu yönünden HW dengesinde olduğu belirlenmiştir.

Avrupa yetiştirilen sütçü sığır ırklarında κ -CN-A alleli ile yüksek süt verimi arasında bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (28). Bu da dünyada en yaygın olarak yetiştirilen sütçü ırk olan Holştayn’larda ve sütçülük özelliği ön planda olan Simmental ırkında A allelinin frekansının B allelinden yüksek olmasının bir sebebi olabilir. Ancak sütçü ırk olarak sınıflandırılan Jersey ırkında ise B allelinin frekansının A allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir (4, 38, 46). Bunun sebebinin κ -CN-B alleli ile süt protein ve yağ oranı arasında yakın ilişkinin olduğu (28, 38,

52), Jersey ırkının elde edilen sütte yüksek yağ oranı ile karakterize olması ve bu yönde verimi iyi olan bireylerin seçimi ile B alleli yönünden de seleksiyon yapılmış olabileceği düşünülebilir. Diğer taraftan A alleli Hindistan (38), Rusya (48), Brezilya (28, 52) ve Portekiz’de (30) yetiştirilen yerli sığır ırklarında da κ -CN-A allel frekansın B allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu ırklar kültür ırkı sütçü sığır ırklarının yetiştiriciliği yaygınlaşana kadar, yetiştirildikleri bölgelerde halkın süt ihtiyacı için yetiştirilmişlerdir. Bu nedenle süt verimini artırmak amacıyla yapılan damızlık seçimi ile bu ırklarda A allelinin frekansının artırılmış olabileceği düşünülmektedir. Rusya’da suni tohumlama istasyonlarında kullanılmak için damızlık boğa seçiminde κ -CN geni seçim kriterlerine dahil edilmemiştir. Ancak damızlık olarak seçilen boğalardan elde edilen spermaların eldeki popülasyonda yaygın kullanılması sonucu, Holştayn popülasyonunda B allel frekansının düştüğü görülmüştür (48). Daha sonra bu boğaların κ -CN geni yönünden analizlerinin yapıldığında, seçilen boğaların hepsinin A alleli yönünden homozigot oldukları görülmüştür (48). Bu bulgu yukarıdaki düşünceyi desteklemektedir.

Diğer taraftan BB genotipindeki hayvanlar AA genotipili hayvanlarla karşılaştırıldığında %5 oranında daha yüksek süt verdikleri de bildirilmektedir (3). Kapa-kazein lokusunun B alleli, süt protein verimi ve sütün teknolojik özelliklerinin iyileştirilmesi arasında ilişkinin olduğu bildirilmiştir. Avrupa orijinli sığır ırklarında B allelinin varlığı, elde edilen sütün kalitesini artırılmasında iyi olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle κ -CN genindeki iki allel ve üç genotipin, süt sığırı yetiştiriciliğinde kullanılan seleksiyon programlarında genetik markır olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (38). Ancak bu konu hem tüm sığır ırkları hem de belirli ırklar için hala tartışmalıdır. Kapa-kazein genindeki polimorfizm ile süt verimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (28, 48).

Kapa-kazein lokusu ayrıca, sığır ırklarının genetik karakterizasyonunun yapıldığı çalışmalarda, κ -CN-B allel frekansının *Bos taurus*’tan köken alan ırklarda, *Bos indicus*’dan köken alan ırklara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (3). Bu veri κ -CN gen polimorfizmi ile ilgili veriler sığır ırklarının genetik tanımlanmasında, ırkların genetik orijinlerini ve ırklar arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak, κ -CN allel ve genotip frekansları tek başına ırklar arasındaki farklılıklarının ya da akrabalık (filogenetik) ilişkilerinin belirlenmesinde tek başına yeterli bir belirteç olarak kullanılması beklenilmemelidir. Bu amaçla başka lokuslarında değerlendirilmesi gereklidir.

5.2. Büyüme Hormonu (bGH)

Çiftlik hayvanlarında verimle ilişkili olduğu düşünülerek araştırılan bir başka gende büyüme hormonu (GH) genidir. Büyüme hormonunun, memelilerde postnatal büyüme ve gelişme ile metabolizmanın düzenlenmesinde önemli görevleri vardır. Bu etkilerinden dolayı GH geninin, çiftlik hayvanlarında süt verimi, karkas kompozisyonu ile ilgili genetik belirteç olabileceği ve özellikle sığır yetiştiriciliğine ıslah programlarında kullanılabileceği düşünülmektedir (21). Sığır yetiştiriciliğinde, sığır GH (bGH) geninden elde edilen polimorfizmler süt verimi ve süt kompozisyonu gibi bazı süt verim özellikleri (18) ile karkas kompozisyonu ve kalitesi (22) gibi bazı et verim özellikleri arasında önemli ilişki olduğu bildirilmiştir. Sığır bGH geni PCR amplikasyonu takiben yapılan *AluI* enzim kesimi sonunda V ve L olarak iki allel (39), *MspI* enzim kesimi sonunda ise +/- olarak adlandırılan iki allel belirlenmiştir (56). Türkiye’de yetiştirilen Holştayn, Simmental ve İsviçre Esmeri ırklarında bGH geninin allelik yapısının incelendiği bu çalışmada *AluI* enzim kesimi kullanılmıştır.

Polonya’da (18, 31), Macaristan’da (29), Rusya’da (28), Almanya’da (42), Kanada’da (40), Slovakya’da (12), Avustralya’da (43) yetiştirilen Holştayn’larda bGH-L allel frekansının V allelinden yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde 150 baş Holştayn ineğin incelendiği bu çalışmada da bGH-L allelinin frekansı 0,85 ile V allelinden yüksek bulunmuştur. Çalışmalarda LL genotipinin frekansı diğer genotiplerden yüksek bulunmuştur (18, 29). Bu çalışmada da LL genotipinin frekansı 0,77 ile diğer genotiplerden yüksek bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda Holştaynlara benzer şekilde Simmental ve İsviçre Esmerlerinde de bGH-L allelinin frekansı V’den yüksek bulunmuştur (12, 41, 51, 54). Benzer şekilde bu çalışmada da L allelinin frekansı hem Simmental’lerde (0,66) hem de İsviçre Esmer’lerinde (0,84) V allelinden yüksek bulunmuştur. Ancak incelenen ırklar arasında LV genotipi en yüksek frekansta Simmental’lerde görülmüştür. Çalışmada bGH lokusu yönünden dağılımları dikkate alındığında incelenen bireylerin HW dengesinde oldukları görülmüştür.

Sütçü ırklardan Holştayn ırkı ile etçi ırklardan Limousine, Charolaise, Piemontese, Angus ve Hereford ırklarının bGH lokusu yönünden araştırıldığı bir çalışmada Holştanlarda L allelinin frekansı (0.86) yüksek bulunmuşken, etçi ırklarda V allelinin frekansı (0.62) yüksek bulunmuştur (28, 31). Bu da seleksiyon çalışmalarında yetiştiriciliğin amacına göre uygun

genotipte bireylerin seçiminde bGH lokusunun düşünülebileceğini göstermektedir. Çünkü bGH lokusu ile farklı verim özellikleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar vardır (42), LV genotipine sahip Simmental ırkı sığırın daha yüksek canlı ağırlık artışı ve karkas kompozisyonuna sahip olduklarını bildirilmiş ve incelenen bireylerde V allelinin frekansı 0.32 olarak bulunmuştur (41). Benzer şekilde bu çalışmada da incelenen Simmentallerde V allelinin frekansı 0,34 ile diğer ırklardan yüksek olduğu görülmüştür.

Diğer taraftan Holştayn ırkına ait erkek hayvanlarda VV genotipine sahip olanların günlük canlı ağırlık artışlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (57). Dolayısıyla bu lokusun verimlerle ilişkisi konusunda daha çok çalışma yapılmalıdır. Diğer taraftan, Brezilya’da yetiştirilen *Bos taurus* ve *Bos indicus*’dan köken alan yedi sığır ırkı bGH geni yönünden incelendiği bir çalışmada, *Bos taurus*’tan köken alan ırklarda L ve V olarak iki allel belirlenmişken; *Bos indicus*’dan köken alan ırkların ise monomorfik olduğu ve sadece L alleleline sahip oldukları belirlenmiştir (28). Bir başka çalışmada da *Bos indicus*’dan köken alan ırklarda L allelinin ya monomorfik yada V allelinden çok yüksek olduğu belirlenmiştir (54). Dolayısıyla bGH lokusu ırkların kökeni hakkındaki çalışmalarda da kullanılabileceği düşünülebilir.

5.3. Prolaktin (PRL)

Prolaktin geninin memeli hayvanlarda, meme bezi gelişimi, laktogenesis ve süt proteinlerinin salgılanmasında etkisinin olduğu bildirilmiştir (3). Bu özelliğinden dolayı PRL geninin süt verim özellikleri için iyi bir aday gen olabileceği düşünülmektedir (7). Sığır PRL lokusunda A ve B olarak iki allel bildirilmiştir (45). Rusya’da (28), Güney Kore’de (24), Polonya’da (11, 19,), Litvanya’da (22) yetiştirilen Holştayn sığırlarında PRL-A allelinin frekansının B allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da incelenen 150 baş Holştayn sığırında PRL-A (0,87) allelinin frekansı B allelinden yüksek olduğu görülmüştür. Slovakya’da yetiştirilen İsviçre Esmerlerinde PRL-A allelinin frekansı B allelinden yüksek bulunmuş ancak A allel frekansının Holştayn ırkındaki kadar yüksek olmadığı belirlenmiştir (13). Bu çalışmada da incelenen 50 baş İsviçre Esmerinde PRL-A allelinin frekansı (0,76) B allelinden yüksek bulunmuş ancak incelenen ırklar arasında PRL-B allelinin frekansı en yüksek (0,24) İsviçre Esmerlerinde bulunmuştur. Yine bu çalışmada incelenen 50 baş Simmental örnekte PRL-A allelinin frekansının (0,81), B allel frekansından yüksek olduğu görülmüştür. Simmental ırkında PRL geni konusunda yeterli çalışma yoktur. Bu nedenle bu çalışma

Simmental ırkının PRL geni yönünden allelik yapısı ve allellerinin frekansları hakkında katkı sağlayacaktır. Yaygın yetiştiriciliği yapılan sütçü sığır ırklarından sadece Jersey ırkında PRL-B allelinin frekansının A allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir (17). Hindistan’da yetiştirilen ve *Bos indicus*’tan köken alan 23 yerli sığır ırkında PRL *RsaI* lokusunun allelik varyantlarının dağılım şekli incelenmiş ve incelenen ırkların yetiştirme amacı ne olursa olsun AB genotipinin frekansı 0.58 ile diğer genotiplerden yüksek olduğu belirlenmiştir. Homozigot genotiplerin genel frekanslarının (AA-0.22; BB-0.20) birbirine yakın olduğu görülmüştür. İncelenen ırklarda A allelinin frekansının 0.52, B allelinin frekansının ise 0.48 olduğu belirlenmiştir. Hindistan’da yetiştirilen ve *Bos indicus*’tan köken alan yerli sığır ırklarında PRL-*Rsa-I* gen lokusunun allel profili *Bos taurus*’tan köken alan sığır ırklarındaki görünümünden oldukça farklı olarak BB genotipi ve B allel frekansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (45).

Ancak bu projede incelenen diğer lokuslardan farklı olarak her üç ırkta PRL lokusu yönünden HW dengesinden ayrıldığı görülmüştür. Bu dengesizliğin sebebi inbreed yetiştirme, seleksiyon, genetik sürüklenme veya aynı popülasyonun bölünerek ayrı popülasyonlar olarak değerlendirilmelerinden kaynaklandığı düşünülebilir. Birden çok lokusun etkilenmesi bekleniyor olmasına rağmen bir lokusta bu durumla karşılaşılması farklı bölgeden birkaç bireyin örnekleme dahil edilmesinden kaynaklanabilir. Ancak daha doğru sonuç için daha çok örnekle çalışılmalıdır.

PRL-A allel frekansını Polonya’da yetiştirilen Holştaynlar ve Jersey ineklerinde PRL geninde görülen *RsaI* polimorfizmi ve verim arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, incelenen ırklarda belirlenen genotipler ile süt verim özellikleri arasında ilişki bulunamamıştır (19). Diğer taraftan, PRL *RsaI*-BB genotipi ile sütteki yağ oranı arasında negatif yönde ilişkili bulunduğunu bildirilmiştir (28). Miceikiene ve ark. (2006), Litvanya’da yetiştirilen yerli Litvanya Siyah-Sırtlı ve Litvanya Açık Gri (Light Grey) sığır ırkları ile Litvanya’da yetiştirilen Holştaynlarda elde edilen PRL gen polimorfizmi ile süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı arasında ilişkinin olduğunu bildirmiştir (35). İncelenen Litvanya yerli sığır ırklarında AA genotipi en yüksek frekansta olduğu ve bu genotipin süt yağ oranı üzerine istatistiksel olarak önemli oranda etkisinin olduğu belirlenmiştir (22).

Sığır yetiştiriciliğinde κ -CN, PRL ve bGH gen polimorfizmlerinin seleksiyon çalışmalarında belirteçler olarak kullanılabilmesi için yeterli veri yoktur. Süt veriminde önemli rolleri olan κ -CN proteinini ve bGH ve PRL hormonlarını kodlayan genlerdeki varyantlarla süt verim parametreleri arasında belirgin ilişkilerin belirlenebilmesi için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir. Bu varyantlar, genetik çalışmalar ve yetiştiricilik alanlarında uygun test sistemlerinin geliştirilmesi için de kullanılabilir.

Türkiye’de verim özelliklerini etkileyen ya da etkilediği düşünülen genlerdeki polimorfizm çalışmalarının çok büyük bir kısmı sadece polimorfizmin varlığını ve miktarını belirlemeye yöneliktir. Bunların verim özellikleri ile ilişkilerinin incelendiği çalışma, yok denecek kadar azdır. Ekonomik anlamda önemli özellikler üzerine etkili genler bakımından mevcut popülasyonların genetik yapısının ortaya konmasının gerekliliği hem Türkiye’nin bu anlamdaki varlığını ortaya koymak hem de seleksiyon programlarının yapılandırılmasındaki faydası bakımından açıktır. İncelenecek lokus sayısının arttırıldığı ve bunlardan elde edilen sonuçların hayvanlara ait verim ve pedigrı kayıtları ile birleştirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasında maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimine ve Birim çalışanlarına teşekkür ederiz.

7. KAYNAKLAR

- 1- **Alpan O.** Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği, 3. Basım, 1993s.: 48.
- 2- **Anonim.** http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13. Erişim Tarihi: 10.11.2008.
- 3- **Alipanah M, Kalashnikova L, Rodionov G.** Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. Iranian Journal of Biotechnology, 2007; 5(3): 158-161.

- 4- **Beja-Pereira A, Erhardt G, Matos C, Gama L, Ferrand N.** Evidence for a geographical cline of casein haplotypes in Portuguese cattle breeds. *Animal Genetics*, 2002; 33: 295-300.
- 5- **Bishop MD, Hawkins GA, Keener CL.** Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology*, 1995; 43: 61-70.
- 6- **Braunschweig M, Hagger C, Stranzinger G, Puhan Z.** Associations between casein haplotypes and milk production traits of Swiss Brown cattle. *J Dairy Sci*, 2000; 83: 1387-1395.
- 7- **Brym P, Kamiński S, Wójcik E.** Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. *J Appl Genet*, 2005; 45(2): 179-185.
- 8- **Bobe G, Beitz DC, Freeman AE, Lindberg GL.** Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J Dairy Sci*, 1999; 82(12): 2797-804.
- 9- **Bonfatti V, Di Martino G, Cecchinato A, Degano L, Carnier P.** Effects of beta-kappa-casein (CSN2-CSN3) haplotypes, beta-lactoglobulin (BLG) genotypes, and detailed protein composition on coagulation properties of individual milk of Simmental cows. *J Dairy Sci*, 2010; 93(8): 3809-3817.
- 10- **Caroli A, Chessa S, Bolla P, Budelli E, Gandini GC.** Genetic structure of milk protein polymorphisms and effects on milk production traits in a local dairy cattle. *J Anim Breed Genet*, 2004; 121: 119-127.
- 11- **Citek J, Rehout V, Neubauerova V.** Allele frequency at PRL (prolactin) and LGB (lactoglobulin beta) genes in Red cattle breeds from Central Europe and in other breeds. *Czech J Anim Sci*, 2001; 46(10): 433-438.
- 12- **Chrenek P, Kmef J, Sakowski I, Vasicek D, Huba J, Chrenek J.** Relationships of growth hormone genotypes with meat production traits of Slovak Pied bulls. *Czech J Anim Sci*, 1998; 43: 541-544.
- 13- **Chrenek P, Huba J, Vasicek D, Peskovicová D, Bulla J.** The relation between genetic polymorphism markers and milk yield in Brown Swiss cattle imported to Slovakia. *Asian-Aust J Anim Sci*, 2003; 16(10): 1397-1401.
- 14- **Dario C, Carnicella D, Bufano G.** A note on the growth hormone (*GH1-AluI*) polymorphism in Podolian cattle in Southern Italy. *Anim Sci Pap Rep*, 2005; 23(1): 43-49.

- 15- **Di Stasio L, Brugiapaglia A, Destefanis G, Albera A, Sartore S.** GH1 as candidate gene for variability of meat production traits in Piemontese cattle. *J Anim Breed Genet*, 2003; 120: 358–361.
- 16- **Dogru U, Ozdemir M.** Genotyping of kappa-casein locus by PCR-RFLP in Brown Swis cattle breed. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2009; 8(4): 779-781.
- 17- **Drogemuller C, Hamann H, Distl O.** Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J Anim Sci*, 2001; 79: 2565-2570.
- 18- **Dybus A.** Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black and White cattle. *Arch Tierz Dummerstorf*, 2002; 45(5): 421-428.
- 19- **Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, Szatkowska I, Sobek Z, Błaszczyk P, Czerniawska-Piątkowska E, Zych S, Muszyńska M.** Association of genetic variants of bovine *prolactin* with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 2005; 48(2): 149-156.
- 20- **Dybus A, Grzesiak W, Szatkowska I, Błaszczyk P.** Association between the growth hormone combined genotypes and dairy traits in Polish Black-and-White cows. *Animal Science Papers and Reports*, 2004; 22(2): 185-194.
- 21- **Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM, Simmen CM.** 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*, 2003; 81:641–648.
- 22- **Grochowska R, Lunden A, Zwierzchowski L, Snochowski M, Oprzadek J.** Association between gene polymorphism of growth hormone and carcass traits in dairy bulls. *Anim Sci*, 2001; 72: 441-447.
- 23- **Ikonen T, Bovenhuis H, Ojala M, Ruottinen O, Georges M.** Associations between casein haplotypes and first lactation milk production raits in Finnish Ayrshire cows. *J Dairy Sci*, 2001; 84: 507–514.
- 24- **Jaan OC, Ibeagha-Awemu EM, Özbeyaz C, Zaragoza P, Williams JL, Ajmonw-Marsan P, Lenstra JA, Moazami-Goudarzi K, Erhardy G.** Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genet Sel Evol*, 2004; 36: 243-257.
- 25- **Jeichitra V, Kandasamy N, Panneerselvam S.** Milk protein polymorphism in Kangayam cattle. *Trop Anim Health Prod*, 2003; 35(2): 147-153.

- 26- Joudrey EM, Lechniak D, Petrik J, King WA. Expression of growth hormone and its transcription factor, Pit-1, in early bovine development. *Mol Reprod Dev*, 2003; 64: 275-283.
- 27- Kemenes PA, Regitano LCA, Rosa AJM, Packer IU, Razook AG, Figueiredo LA, Silva NA, Etchegaray MAL, Coutinho LL. κ -Casein, β -lactoglobulin and growth hormone allele frequencies and genetic distances in Nelore, Gyr, Guzerá, Caracu, Charolais, Canchim and Santa Gertrudis cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 1999; 22(4): 539-541.
- 28- Khatami SR, Lazebny OE, Maksimenko VF, Sulimova GE. Association of DNA polymorphisms of the growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black-and-White cattle. *Russian Journal of Genetics (Genetika)*, 2005; 41(2): 167–173.
- 29- Kovács K, Völgyi-Csík J, Zsolnai A, Györkös I, Fésüs L. Associations between the AluI polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Arch Tierz Dummerstorf*, 2006; 49(3): 236-249.
- 30- Lara MAC, Gama LT, Bufarah G, Sereno JRB, Celegato EML, de Abreu UP. Genetic polymorphisms at the κ -casein locus in Pantaneiro cattle. *Arch Zootec*, 2002; 51: 99-105.
- 31- Lechniak D, Machnik G, Szydlowski M, Switonski M. Growth hormone gene polymorphism and reproductive performance of AI bulls. *Theriogenology*, 1999; 52: 1145-1152.
- 32- Lien S, Kantanen J, Olsaker I, Holm L-E, Eythorsdottir E, Sandberg K, Dalsgard B, Adalsteinsson S. Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds. *Anim Genet*, 1999; 30: 85-91
- 33- Litwinczuk Z, Krol J. Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. *Anim Sci Pap Rep*, 2002; 20(Suppl 1): 33-40.
- 34- Lundé A, Nilsson M, Janson L. Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *J Dairy Sci*, 1997; 80: 2996–3005.
- 35- Miceikiene I, Peculaitiene N, Baltrenaite I, Skinkyte R, Indriulyte R. Association of cattle genetic markers with performance traits. *Biologija*, 2006; 1: 24-29.
- 36- Oner Y, Elmaci C. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *Int J Dairy Technol*, 2006; 59(3): 180–182.

- 37- **Özdemir M, Doğru Ü.** Sığırların verim özellikleri üzerine etkili önemli moleküler markörler. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg, 2008; 39 (1): 127-135.
- 38- **Patel RK, Chauhan JB, Singh KM, Soni KJ.** Allelic frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian Crossbred (*Bos taurus* x *Bos indicus*) dairy bulls. Turk J Vet Anim Sci, 2007; 31(6): 399-402.
- 39- **Reis C, Navas D, Pereira M, Cravador A.** Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. Arch Zootec, 2001; 50: 41-48.
- 40- **Sabour MP, Lin CY.** Association of bGH genetic variants with milk production traits in Holstein cattle. Anim Genet, 1996; 27 (Suppl.2.): 105.
- 41- **Schlee P, Graml R, Rottmann O, Pirchner F.** Influence of growth hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. J Anim Breed Genet, 1994; 111: 253-256.
- 42- **Schlee P, Graml R, Schallenberger E, Scams D, Rottmann O, Olbrich-Bludau A, Pirchner F.** GH and IGF-1 concentrations in bulls of various GH genotypes. Theor Appl Genet, 1994; 88: 497-500.
- 43- **Shariflou MR, Moran C, Nicholas FW.** Association of Leu127 variant of the bovine growth hormone (bGH) gene with increased yield of milk, fat, and protein in Australian Holstein Friesians. Aust J Agric Res, 2000; 51: 515-522.
- 44- **Sodhi M, Mukesh M, Prakash B, Mishra BP, Sobti RC, Singh KP, Singh S, Ahlawat SPS.** *MspI* allelic pattern of bovine growth hormone gene in Indian Zebu cattle (*Bos indicus*) breeds. Biochem Genet, 2007; 45(1/2): 145-153.
- 45- **Sodhi M, Mukesh M, Mishra BP, Parvesh K, Joshi BK.** Analysis of genetic variation at the prolactin-*RsaI* (PRL-*RsaI*) locus in Indian native cattle breeds (*Bos indicus*). Biochem Genet, 2011; 49: 39-45.
- 46- **Soria LA, Iglesias GM, Huguet MJ, Mirande SL.** A PCR-RFLP test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene. Animal Biotechnology, 2003; 14(1): 1-5.
- 47- **Strzalkowska N, Krzyzewski J, Zwierzchowski L, Ryniewicz Z.** Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. Anim Sci Pap Rep, 2002; 20: 21-35.
- 48- **Sulimova GE, Abani Azari M, Rostamzadeh J, Mohammad Abani MR, Lazebnyi OE.** Allelic polymorphism of kappa-casein gene (CSN3) in Russian cattle breeds and its informative value as a genetic marker. Genetika, 2007; 43(1): 88-95.

- 49- **Tambasco DD, Paz CCP, Tambasco-Studart MD, Pereira AP, Alencar MM, Freitas AR, Coutinho LL, Packer IU, Regitano LCA.** Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. J Anim Breed Genet, 2003; 120: 51-56.
- 50- **Tatsuda K, Oka A, Iwamoto E, Kuroda Y, Takeshita H, Kataoka H, Kouno S.** Relationship of the bovine growth hormone gene to carcass traits in Japanese Black cattle. J Anim Bred Genet, 2008; 125: 45–49.
- 51- **Tekinşen C.** Süt Ürünleri Teknolojisi. İkinci basım, Kahraman Maraş, 2000, ss: 168, 170.
- 52- **Tsiaras AM, Bargouli GG, Banos G, Boscors CM.** Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. J Dairy Sci, 2005; 88: 327-334.
- 53- **Unanian MM, Barreto CC, Cordeiro CMT, Freitas AR, Josahkian LA.** Possible Associations between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. Braz Arch Biol Technol, 2002; 45(3): 293-299.
- 54- **Vasconcellos LPMK, Tambasco-Talhari D, Pereira AP, Coutinho LL, Regitano LCA.** Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. Genetics and Molecular Biology, 2003; 26(2): 133-137.
- 55- **Wedholm A, Larsen LB, Lindmark-Mainsson H, Karlsson AH, Andren A.** Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. J Dairy Sci, 2006; 89: 3296–3305.
- 56- **Zhou GL, Jin HG, Liu C, Guo SL, Zhu Q, Wu YH.** Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. J Biosci, 2005; 30(5): 595-598.
- 57- **Zwierzchowski L, Oprzadek J, Dymnicki E, Dzierzbicki P.** An association of growth hormone, -casein, -lactoglobulin, leptin and Pit-1 loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. Anim Sci Pap Rep, 2001; 19: 65-77.