

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

Kayseri Ve Civarında Yetiştirilen Holştayn Sığırlarında Pit I ve Leptin Genlerinin
Allel Frekanslarının Belirlenmesi

Proje No: TSA-09-1032

Proje Türü
Araştırma

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Davut BAYRAM
Veteriner Fakültesi Zootečni ABD

Araştırmacının Adı Soyadı

Bilal AKYÜZ
Veteriner Fakültesi Genetik ABD
Kaan M. İŞCAN

Aralık 2013

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu projenin yapılmasına **TSA-09-1032** proje numarası ile maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimine ve Birim çalışanlarına TEŞEKKÜR ederiz

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	5
1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM	6
2. GENEL BİLGİLER	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
4. BULGULAR	13
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	16
5.1. Leptin	18
5.2. Pituitary Hormon (Pit-I)	21
6. KAYNAKLAR	23

Kayseri ve Civarında Yetiştirilen Holştayn Sığırlarında Pit I ve Leptin Genlerinin Allel Frekanslarının Belirlenmesi

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarından Holştayn sığırlarının; daha önce bu ırklta belirlenmemiş olan leptin ve Pit I genlerinin allel yapılarının RFLP yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Projenin materyalini, Kayseri ve civarında halk elinde yetiştirilen 352 baş Holştayn oluşturmuştur. leptin ve Pit I allellerinin belirlenmesinde uygulanan PZR işlemini takiben elde edilen PZR ürünleri *HinfI* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Pit I geni için en yüksek frekans BB genotipinde(%53,7) gözlenmiş bunu sırasıyla AB (%28,7) ve AA (%17,6) genotipleri izlemiştir. Leptin geni için en yüksek frekans AA (%77,6) genotipinde gözlenmiş, bunu sırasıyla AB (%19,0) ve BB (%3,4) genotipleri izlemiştir. Çalışma sonunda ırkın Leptin ve Pit I genlerine ait lokuslar yönünden HW dengesinde olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Holştayn; Leptin; Pit I; RFLP

Detection of Allele Frequency of Pit-I and Leptin Genes in Holstein Cattle Breeder in Kayseri Vicinity

ABSRTACT

The purpose of this work was to examine leptin and Pit I genes in Holstein cattle breeds in Turkey cattle breeds which had not been investigated to RFLP allele structures in Turkey. The material of the project, 352 head of Holstein cattle has formed that has been raised in Kayseri vicinity. In order to determine the leptin and Pit I alleles in PCR products, the PCR products were digested with *HinfI* endonuclease enzyme. In order to determine the PRL alleles in PCR products, the PCR products were digested with *RsaII* endonuclease enzyme. The BB genotypic frequency (53.7%), the AB genotypic frequency (28.7%) and the AA genotypic frequency (17.6%) was the observed in in Pit-I. The AA genotypic frequency (77.6%), the AB genotypic frequency (19.0%) and the BB genotypic frequency (3.4%) was the observed in in Leptin. End of the study, leptin and Pit I loci were not found H-W equilibrium.

Key World: Holstein; Leptin; Pit-I; RFLP

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Yirminci yüzyılın sonlarından itibaren moleküler genetik alanındaki hızlı gelişmeleri, sahaya özgü pratik yöntemlerin geliştirilmesi izlemiştir. Bu yöntemler, oldukça karmaşık birçok özelliğin kalıtımına ait gen düzeyinde bilgilerin elde edilmesine de imkan vermiştir. Bu yeni bilgiler genetik biliminde ve bununla bağlantılı olarak hayvancılıkta oldukça geniş ve yeni çalışma alanlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur (20, 53). Özellikle Kantitatif özellikleri determine eden lokuslar (QTL) üzerine çalışmalar yoğunlaşmış, ıslah çalışmalarında markır genlerin değerlendirilmesi ve BovMap gibi genom haritalaması hız kazanmıştır (23, 48) Fenotipik özellikler, özellikle üreme ile ilgili özellikler yönünden çiftlik hayvanı popülasyonunun genetik karakterizasyonu, yetiştiricilik açısından önemli bir avantajdır. Sürülerin genetik karakterizasyonu, yetiştirme stratejilerinin belirlenmesine, kullanılacak ırkların seçimine, genetik çeşitliliğin değerlendirilmesine yardımcı olur (1). Marker destekli seleksiyon (MAS) sayesinde, yaş, cinsiyet, dönem gibi faktörlere bağlı olarak gözlenen karakterlerin daha esnek ve isabet derecesi yüksek şekilde değerlendirilebilmesi mümkün olabilmektedir. Ayrıca bu karakterler ölçülüp değerlendirilinceye kadar çok sayıda damızlık adayının işletmede tutulması ihtiyacı da azalmaktadır (21, 38, 56). Bu nedenle damızlık olarak kullanılacak hayvanların verim özelliklerinin yanı sıra, kullanılması düşünülen damızlık ve damızlık adaylarının genetik yapısı hakkında bilgi sahibi olmak son derece 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 Holştayn yetiştiriciliğine ise 1958 geçilmiştir (3). Bu tarihlerden sonra ırkın üretilmesi için değişik zamanlarda Avrupa’dan ve ABD’den boğa, düve, gebe düve ve sperm ithal edilmiştir. İthal edilen kültür ırkları Türkiye’de saf yetiştirildiği gibi düşük verimli yerli ırkların ıslahı için genetik materyal olarak da kullanılmıştır. Türkiye’de üretilen sütün önemli

bir kısmı başta Holştayn olmak üzere kültür ırkı sığırlar ve bunların melezlerinden elde edilmektedir. Bilindiği gibi Holştayn ırkı en iri sütçü ırktır ve bu işletmelerde doğan erkek buzağılar kasaplık güç olarak besi işletmelerinde besiyeye alınmakta et üretimine katkıda bulunmaktadır. Ancak bu bu ırkın Türkiye'deki örneklerinde genlerindeki allellik yapılar hakkında çalışmalar yapılmamıştır. Bu çalışmada Türkiye'de yetiştirilen Holştayn, Simmental ve İsviçre Esmer sığırlarının; daha önce bu ırklarda belirlenmemiş olan Leptin ve Pit-I 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 (31). 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 hayvanın genetik değerinin daha yüksek isabet derecesinde tahmin edilebileceği 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 (31). 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. Bu moleküler yöntem ile genetik belirteçlerin kullanımı seleksiyon çalışmalarının daha kesin ve daha etkili olmasını sağlayabilir (52). 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). Suni tohumlama ve embriyo nakli gibi yöntemlerin MAS yöntemi ile birlikte kullanılması ile çiftlik

hayvanlarında elde edilecek genetik ilerleme hızının %15-30 oranında artırılabilceğı sığırlarda jenerasyon aralığının 69 aydan 45 aya düşürülebileceğı bildirilmiştir (3, 6 , 31, 38, 49, 52).

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 ilişkiler araştırılmaktadır (42). Genetik belirteç olarak seçilen genler, etkiledikleri fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar ile verim özellikleri arasında bir ilişkinin olup olmamasına göre seçilir (27) . Son yıllarda allelik yapıları ve verim ilişkileri nedeniyle çiftlik hayvanlarında genetik belirteç olarak kullanılma potansiyeli olan bazı genler belirlenmiştir(20, 28, 40) . Değişik ülkelerde gerek kendi yerel ırklarında gerekse dünyaca tanınan kültür ırklarında, farklı verim özellikleri arasındaki ilişkiler, moleküler markırlar ve bu genlerdeki polimorfizmler yönünden araştırılmaktadır (18, 19, 30) .

Konvansiyonel seçim yöntemlerine göre genetik markır destekli (MAS) seçim ile süt sığırcılığında ek olarak %5 daha etkin ıslah sağlanabileceğı belirtilmektedir (33).

Pit-I, transkripsiyonel düzenleyici bir grup protein içeren POU (Pit-Ekim-UNC) olarak adlandırılan proteinlerin farklılaşma ve kopyalanmasını sağlayan bir etki alanının üyesidir (35). Peptid-kodlayıcı bölgeler de dahil olmak üzere Pit-I geni için, farklı yerlerde birkaç polimorfizm bildirilmiştir. Bunlar cüce farelerde, büyüme hormonunun yokluğuna yol açan hipofiz hipoplazisi ve congenital hypotroidizm ile insanlarda prolaktin hormonu eksikliğidir (39). Leptin, ovariumun gelişimi ve steroidegenesisin düzenlemesine yardımcı olur ve cinsel olgunlaşmanın başlatılması için primer sinyal gönderir (25).

Diğer taraftan fenotipik özellikler ve belirteç genlerdeki polimorfizimler ırkların karakterizasyonunda da kullanılmaktadır (26). 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 (17). 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 allellik varyasyonların sütün kompozisyonunu, kalitesini ve elde edilen sütteki bireysel farklılıkları etkileyebildiği bildirilmiştir. (2). 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 (7).

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 sığırları yetiştiriciliğinde elde edilen sütün büyük bir kısmı peynir üretiminde kullanılmaktadır. Türkiye’de 2007 yılı itibariyle 11.279.340 ton süt elde edilmiştir (4). 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 (50). 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 (54). 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 (50, 55). Bu durum gelişmiş batı ülkelerinde süt sığırları 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 (8, 9, 41).

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 (9, 24).

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 sığırları yetiştiriciliğinde genetik belirteç olarak kullanılabileceği ve böylelikle damızlık adaylarının genetik seçiminde kullanılma potansiyelinin olduğu bildirilmiştir (14).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Projenin materyalini, Kayseri ve civarında halk elinde yetiştirilen 350 baş (dişi+erkek) Holştayn ırkı hayvan oluşturmıştır. Çalışmada incelenen Holştayn ırkı sığırlar, Türkiye’de süt üretiminde yoğun olarak kullanıldığı için proje materyali olarak seçilmiştir. Bu çalışmada kullanılan hayvanlara ait DNA örnekleri kandan izole edilmiştir. Çalışma materyalini oluşturan hayvanları daha az etkilediği için kan örnekleri çalışma materyali havanların kuyruk venalarından alınmıştır. Kan alım işlemi, antikoagulanlı (EDTA’lı) ve vakumlu tüplere her hayvan için steril ve tek kullanımlık iğnelerle yapılmıştır. Alınan kanlardan DNA izolasyonu fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Pit I geninin allelleri belirlemek için yapılan polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) primer olarak;

Pit1F 5’-GAG CCT ACA TGA GAC AAG CAT C-3’;

Pit1R 5’-AAA TGT ACA ATG TGC CTT CTG A-3’;

Leptin geninin allelleri belirlemek için primer olarak:

LepF: 5’-TGG AGT GGC TTG TTA TTT TCT TCT-3’;

LepR: 5’-GTC CCC GCT TCT GGC TAC CTA ACT-3,

olan iki farklı primer seti kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan bireylerin Pit I ve Leptin gen profillerinin çıkarılması amacıyla yapılan PCR işlemleri; 1.5 µl DNA, 2 U Taq polimeraz, 50 µM dNTP Mix ve 0.2 µM iki

lokusa özgü forward ve revers primerler ilave edilerek toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde hazırlanan PCR karışımlarının termal cyclus cihazına yerleştirilmesi ile yapılmıştır.

Pit1 için yapılan PCR işlemi; hazırlanan karışımların termal cyclus cihazına 95 °C’de 2 dk. tutularak tek iplikçik haline getirildikten sonra bir döngüsü 94 °C’de 45 sn., 60 °C’de 1 dk., 72 °C’de 1 dk. olacak şekilde 30 döngü yapıldıktan sonra, son döngüyü takiben 72 °C’de 3 dk tutularak tamamlanmıştır. PCR işlemini takiben yapılan %2’lik agaroz jel elektroforez sonunda 600 bp’lik tek bantların elde edildiği örneklerle ait PCR ürünleri HinfI endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim işlemi; her örneğe ait 5 µl PCR ürünü kullanılarak hazırlanan karışım üzerine 10 U HinfI endonükleaz enzimi eklendikten sonra, tüpleri 37 °C’de 4 saat bekletilmesinden sonra, enzimin inaktivasyonu için karışımın 65 °C’de 20 dk. tutulmasıyla sonlandırılmıştır. Elde edilen kesim ürünleri % 2’lik agaroz jel elektroforezi ile koşturularak incelenen bireylerin allelik yapıları ve genotipleri belirlenmiştir.

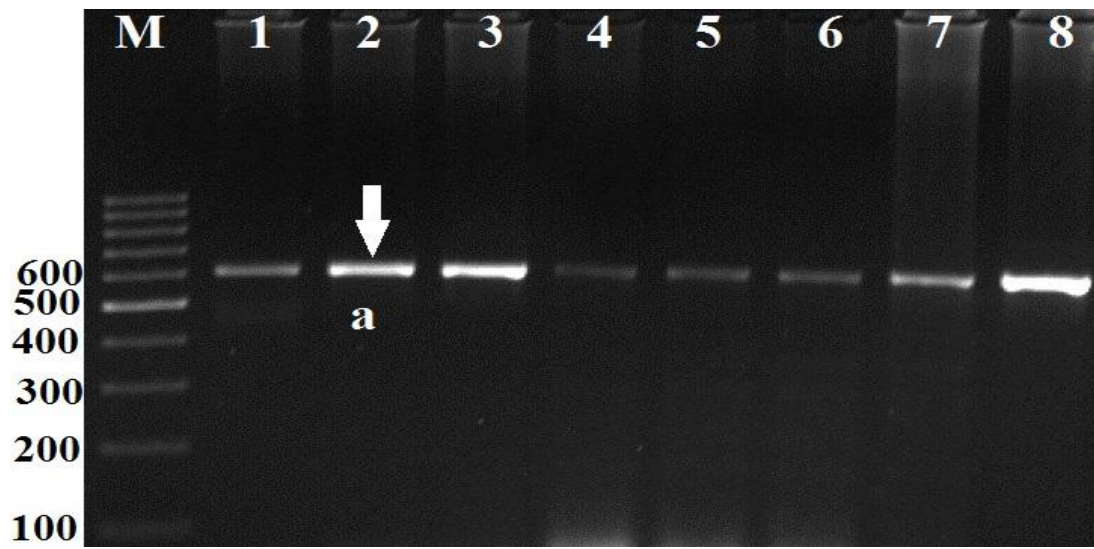
Leptin geni için yapılacak PCR işlemi; hazırlanan karışımların termal cyclus cihazına 94 °C’de 2 dk. tutularak tek iplikçik haline getirildikten sonra bir döngüsü 94 °C’de 1 dk., 55 °C’de 1 dk., 72 °C’de 1 dk. olacak şekilde 35 döngü yapıldıktan sonra, son döngüyü takiben 72 °C’de 15 dk. tutularak PCR işlemi bitirilmiştir. PCR işlemini takiben yapılan %2’lik agaroz jel elektroforez sonunda 422 bp’lik tek bantların elde edildiği örneklerle ait PCR ürünleri Sau3AI endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim işlemi; her örneğe ait 5 µl PCR ürünü kullanılarak hazırlanan karışım üzerine 10 U Sau3AI endonükleaz enzimi eklendikten sonra, tüpleri 37 °C’de bir gece bekletilmesinden sonra, enzimin inaktivasyonu için karışımın 65 °C’de 20 dk. tutulmasıyla sonlandırılmıştır. Elde edilen kesim ürünleri % 2’lik agaroz jel elektroforezi ile koşturularak incelenen bireylerin allelik yapıları ve genotipleri belirlenmiştir.

Pit I geni için HinfI endonükleaz enzim kesimi sonunda homozigot AA genotipte olan hayvanlarda 600 bp lik tek bant, BB genotipinde olanlarda ise 357 ve 243 bp’lik iki bant aranacaktır. Leptin geni için Sau3AI endonükleaz enzim kesimini takiben AA genotipindeki hayvanlarda 390 ve 32 bp’lik iki bant, AB genotipindeki bireylerde 390, 303, 88 ve 32 32 bp’lik dört bant ve BB genotipindeki hayvanlarda 303, 88 ve 32 bp’lik üç bant aranmıştır.

4. BULGULAR

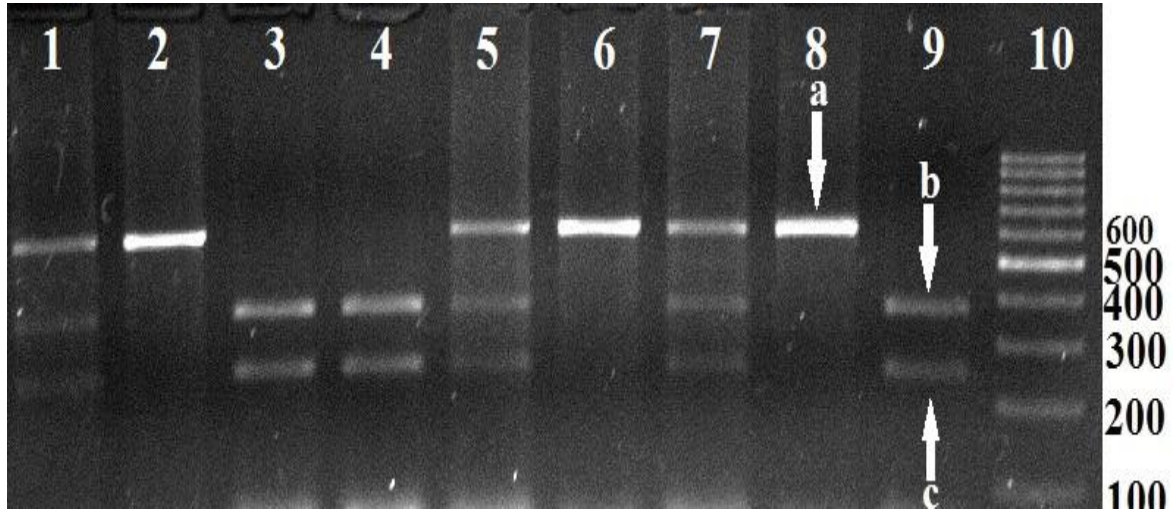
Yapılan PCR işlemleri sonunda incelenen örneklerde genotiplendirmesi yapılması planlanan lokuslara ait PCR ürünleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri uygun restriksiyon enzimi ile beklendiği şekilde kesilerek çalışmada kullanılan örneklerin her lokus için genotiplendirmesi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

Pit1 geni için yapılan PCR işlemi sonunda incelenen örneklerden 600 bp'lık tek bir bant elde edilmiştir (Şekil 1).



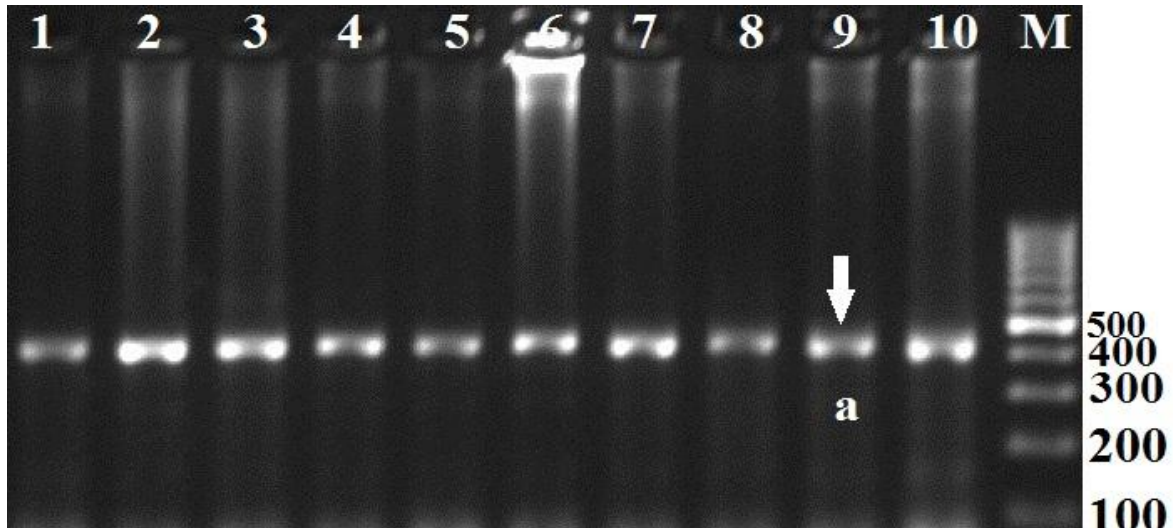
Şekil 1. Pit1 lokusu için yapılan PCR sonunda elde edilen 600 bp'lık ürünler (a), M 100 bp'lık DNA merdiveni

Pit1 geni için *Hinf*I endonükleaz enzim kesimi sonunda homozigot AA genotipte olan hayvanlarda 600 bp lik tek bant, BB genotipinde olanlarda ise 357 ve 243 bp'lık iki bant aranacaktır. Leptin geni için *Sau*3AI endonükleaz enzim kesimini takiben AA genotipindeki hayvanlarda 390 ve 32 bp'lık iki bant, AB genotipindeki bireylerde 390, 303, 88 ve 32 32 bp'lık dört bant ve BB genotipindeki hayvanlarda 303, 88 ve 32 bp'lık üç bant gözlenmiştir. (Şekil 2).



Şekil 2. Pit I geni için 600 pç'lik PCR ürünlerinin *Hinf*I endonükleaz enzim kesiminin %2'lük agaroz jel elektroforez görünümü. a: 600 bp'lik kesilmeyen ürün; b: 357 bp'lik ürün; c: 243 bp'lik ürün. M 100 bç'lik DNA merdiveni; 2, 6 ve 8 AA (600 bç) genotipli bireyler: 3, 4 ve 9 BB (357, 243 bç) genotipli bireyler: 1, 5 ve 7 AB (600, 357, 243 bç) genotipli bireyler

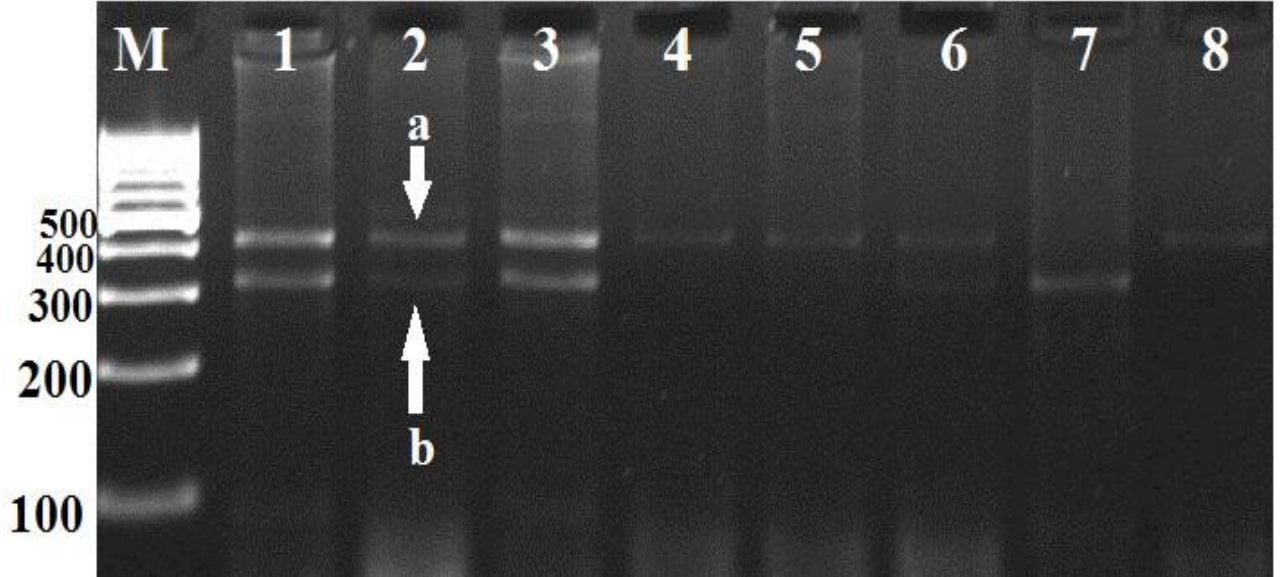
Leptin geni için yapılan PCR işlemi sonunda incelenen örneklerden 422 bç'lik tek bir bant elde edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Leptin lokusu için yapılan PCR sonunda elde edilen 422 bp'lik ürünler (a), M 100 bç'lik DNA merdiveni

Leptin geni için *Sau*3AI endonükleaz enzim kesimini takiben AA genotipindeki hayvanlarda 390 ve 32 bp'lik iki bant, AB genotipindeki bireylerde 390, 303, 88 ve 32 32 bp'lik dört bant ve BB genotipindeki hayvanlarda 303, 88 ve 32 bp'lik üç bant gözlenmesi

beklenmiştir. Ancak çok küçük olduğu için 32 ve oluşan primer dimerlerden ayırlanamaması nedeniyle 88 bp'lik bantlar görülmemiştir. Ancak 390 ve 303 bp'lik bantların birlikte veya tek görülmeleri nedeniyle genotiplerin belirlenmesinde nedeniyle herhangi bir sıkıntıyla karşılaşılmamıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Leptin geni için 422 pp'lik PCR ürünlerinin *Sau3AI* endonükleaz enzim kesiminin %2'lük agaroz jel elektroforez görünümü. (a) 390 bp'lik ürün; (b) 303 bp'lik ürün. M 100 bp'lik DNA merdiveni; 1, 2 ve 3 AB (390 ve 303 bp'lik bantlar) genotipli bireyler; 4, 5 ve 8 AA (390 bp'lik tek bant) genotipli bireyler; 7 AB (303 bp'lik tek bant) genotipli birey.

Tablo 1. Türkiye’de yetiştirilen Holştayn (HL) sığırlarında Pit-I ve Leptin lokusunun heterozigotluk derecesi, allele ve genotip frekansları.

PIT I	GÖZLENEN	%	BEKLENEN	%	allel f(x)	%	x ²	P
AA	62	0,18	36	0,10	A=225	0,32	18,866	
AB	101	0,29	153	0,43			17,724	
BB	189	0,54	163	0,46	B=479	0,68	4,163	
	352	1	352	1			40,753	P<0,001
	p= 0,32		q= 0,68					

LEPTIN	GÖZLENEN	%	BEKLENEN	%	allel f(x)	%	x ²	P
AA	273	0,78	267	0,76	613	0,87	0,1403	
AB	67	0,19	79	0,23			1,890	
BB	12	0,03	6	0,02	91	0,13	6,365	
	352	1	352	1			8,395	P<0,001
	p= 0,87		q= 0,13					

Pit-I geni için incelenen örneklerle ait PZR ürünlerinin endonükleaz enzim kesimi sonucunda elde edilen bantlara göre en yüksek genotip frekansı BB, en düşük ise AA genotipinde gözlenmiştir. İncelenen genlere ait gözlenen ve beklenen genotip prevalansları ile allel frekansları ve genotip prevalansları Tablo 1’de verilmiştir. Allel frekansları sayım yolu ile elde edilmiştir. İncelenen genlerin lokus yönünden ki-kare test sonuçları incelendiğinde her iki genotipte de 0,001 düzeyinde istatistiki olarak önemli oldukları belirlenmiştir.

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 bilimde kullanılan geleneksel seleksiyon ve verimlerle ilişkisi olduğu düşünülen genlerdeki varyasyonların belirlenerek birlikte kullanılması seleksiyon çalışmalarındaki en önemli sorunlardan jenerasyon aralığını kısaltabilecektir. Bununda genetik ilerlemeyi hızlandırılmasında ve hedeflenen yönde genetik ilerleme sağlayarak, aditif genlerin görev aldığı kantitatif özelliklerin iyileştirilmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (15). Ancak yapılan çalışmalarda, mevcut seleksiyon yöntemleri ile birlikte yapılan genetik karakterizasyon çalışmalarının birlikte kullanılması sonunda elde edilen seleksiyon başarısı hala tartışılmalıdır (38). 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, et verimi ve pubertal gelişim ile ilişkisi olabileceği düşünülen Leptin ve Pit-I genleri yönünden Türkiye’de en çok yetiştirilen kültür sığır ırkı Holştaynın genetik yapısı incelenmiştir.

Memeli sütlerinde bulunan en önemli süt proteini leptindir. Leptin varyantlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda leptinin dört farklı varyantının bulunduğu ortaya konmuştur (38). Ancak ilk çalışmalar protein düzeyinde olması nedeniyle sadece süt verebilen belli yaşta ve dişi hayvanlar leptin varyantlarının belirlenmesi çalışmalarında kullanılabilmektedir. Ancak 1990’lı yıllardan itibaren moleküler genetik alanında elde edilen gelişmeler bu çalışmaları 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 (9).

5.1. Leptin

Sığır türünde leptin geninin allel varlığı belirlenmiştir (13, 24). Bos taurus ve Bos indicus’tan köken alan evcil sığır ırklarında belirlenen bu allelden başka Tibet’te yaygın olarak yetiştirilen yaklarda G1 olarak adlandırılan bir allel belirlenmiştir (47). Leptin geninde bulunan allellerden, A ve B dışındakiler büyük çoğunlukla bir kaç ırkta ve oldukça düşük frekansta görüldüğü bildirilmiştir (13, 24, 47). Sığır ırklarında en yaygın görülen A ve B allelli, leptin geninde meydana gelen bir baz değişikliği sonucu oluşmuştur (41, 47). Evcil sığır ırklarında leptin-A allellinin frekansı Jersey ve Guernsey gibi sütçü ırklar ile kombine verimli ırklarla karşılaştırıldığında Holştayn ırkında yüksek bulunmuştur (29). Bu bilgiyi doğrular şekilde; Polonya’da (46), İngiltere’de (24), Hindistan’da (41), Portekiz’de (5), Arjantin’de (29, 45), Yunanistan’da (51) ve İtalya’da (9) 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 (37). 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 Holştayn’ların leptin allellerinin belirlendiği ilk çalışmadır. Oner ve Elmaci’nin

(37) 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 (37) inceledikleri hayvanların leptin lokusu yönünden Hardy-Weinberg (HW) dengesinden saptığını bildirmişlerdir. Kayseri ve civarında yetiştirilen 352 baş Holştaynın incelendiği bu çalışmada nicelenen hayvanlarda leptin lokusu yönünden Hardy-Weinberg dengesinin devam ettiği belirlenmiştir. Bunun sebebinin, Oner ve Elmaci'nin (37) 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 leptin, total protein, yağ içermesi ile daha yüksek randımanda peynir elde edilmesine olanak vermesi hem de daha kısa sürede peynir oluşması ile ilişkisi olması sebebiyle (37, 41) 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 leptin geni yönünden en çok incelenen ırk Holştayn ırkı olmuştur. Holştayn ırkı ile karşılaştırıldığında İsviçre Esmeri ve Simmental ırklarında leptin geni ile ilgili literatürde çok az çalışma vardır. İsviçre Esmerlerinin incelendiği birkaç çalışmada Holştayn'lardan farklı olarak leptin-B allel frekansının A allelinden yüksek olduğu belirlenmiştir (4, 9, 14). 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 leptin-A allel frekansının B allelinden yüksek olduğu ancak Holştayn ırkından farklı olarak iki allel arasındaki frekans farkının çok yüksek olmadığı bildirilmiştir (8, 33, 54). Bu çalışmada da leptin-A allelinin frekansı (0,87) B allelinden yüksek bulunmuştur. Bu frekansın Holştaynlardaki A allelinin frekansı ile uyumlu (0,82) olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada

incelenen leptin genine ait allel verilerinin tüm dünyada ki verilerle uyumlu olduğu ve ırkın leptin lokusu yönünden HW dengesine uymadığı belirlenmiştir.

Avrupa yetiştirilen sütçü sığır ırklarında leptin-A alleli ile yüksek süt verimi arasında bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (29). 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 (5, 41, 45). Bunun sebebinin leptin-B alleli ile süt protein ve yağ oranı arasında yakın ilişkinin olduğu (29, 41, 51), 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 (41), Rusya (47), Brezilya (29, 51) ve Portekiz'de (32) yetiştirilen yerli sığır ırklarında da leptin-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 leptin 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 (47). Daha sonra bu boğaların leptin geni yönünden analizlerinin yapıldığında, seçilen boğaların hepsinin A alleli yönünden homozigot oldukları görülmüştür (47). Bu bulgu yukarıdaki düşünceyi desteklemektedir.

Diğer taraftan BB genotipindeki hayvanlar AA genotipili hayvanlarla karşılaştırıldığında %5 oranında daha yüksek süt verdikleri de bildirilmektedir (2). leptin 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 leptin genindeki iki allel ve üç genotipin, süt sığır yetiştiriciliğinde kullanılan seleksiyon programlarında genetik markır olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (41). Ancak bu konu hem tüm sığır ırkları hem de belirli ırklar için hala tartışmalıdır. leptin genindeki polimorfizm ile süt verimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (29, 47).

leptin lokusu ayrıca, sığır ırklarının genetik karakterizasyonunun yapıldığı çalışmalarda, leptin-B allel frekansının Bos taurus'tan köken alan ırklarda, Bos indicus'dan köken alan ırklara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (2). Bu veri leptin gen polimorfizmi ile ilgili veriler sığır ırklarının genetik tanımlanmasında, ırkların genetik orijinlerini ve ırklar arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak, leptin 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. Pituitary hormon (Pit-I)

Pituitary hormon geninin memeli hayvanlarda, meme bezi gelişimi, laktogenesis ve süt proteinlerinin salgılanmasında etkisinin olduğu bildirilmiştir (2). Bu özelliğinden dolayı Pit-I geninin süt verim özellikleri için iyi bir aday gen olabileceği düşünülmektedir (9). Sığır Pit-I lokusunda A ve B olarak iki allel bildirilmiştir (43). Rusya'da (29), Güney Kore'de (24), Polonya'da (12, 16), Litvanya'da (22) yetiştirilen Holştayn sığırlarında Pit-I-A allelinin frekansının B allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da incelenen 352 baş Holştayn sığırında Pit-I-B (0,68) allelinin frekansı A allelinden yüksek olduğu görülmüştür. Slovakya'da yetiştirilen İsviçre Esmerlerinde Pit-I-A allelinin frekansı B allelinden yüksek bulunmuş ancak A allel frekansının Holştayn ırkındaki kadar yüksek olmadığı belirlenmiştir (11). Hindistan'da yetiştirilen ve Bos indicus'tan köken alan 23 yerli sığır ırkında Pit-I 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 Pit-I-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 (43).

Ancak bu projede incelenen diğer lokuslardan farklı olarak her üç ırkta Pit-I 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.

Pit-I-A allel frekansını Polonya’da yetiştirilen Holştaynlar ve Jersey ineklerinde Pit-I geninde görülen RsaI polimorfizmi ve verim arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, incelenen ırklarda belirlenen genotipler ile süt verim özellikleri arasında ilişki bulunamamıştır (16). Diğer taraftan, Pit-I RsaI-BB genotipi ile sütteki yağ oranı arasında negatif yönde ilişkili bulunduğunu bildirilmiştir (29). 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 Pit-I gen polimorfizmi ile süt verimi, yağ verimi, yağ oranı, protein verimi ve protein oranı arasında ilişkinin olduğunu bildirmiştir (36). 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 leptin ve Pit-I gen polimorfizmlerinin seleksiyon çalışmalarında belirteçler olarak kullanılabilmesi için yeterli veri yoktur. Süt veriminde önemli rolleri olan leptin proteinini ve Pit-I 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 artırıldığı ve bunlardan elde edilen sonuçların hayvanlara ait verim ve pedigrî kayıtları ile birleştirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. **Akyüz B., Arslan K., Bayram D., İşcan KM.** Allelic Frequency of Kappa-Casein, Growth Hormone and Prolactin Gene in Holstein, Brown Swiss and Simmental Cattle Breeds in Turkey . Kafkas Univ Vet Fak Derg.19 (3): 439-444, 2013
2. **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.
3. **Alpan O.** Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği, 3. Basım, 1993s.: 48.
4. **Anonim.** http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13. Erişim Tarihi: 10.11.2008.
5. **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.
6. **Bishop MD, Hawkins GA, Keener CL.** Use of DNA markers in animal selection. Theriogenology, 1995; 43: 61-70.
7. **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.
8. **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.
9. **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.
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. **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.

12. **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.
13. **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.
14. **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.
15. **Drogemuller C, Hamann H, Distl O.** Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. J Anim Sci, 2001; 79: 2565-2570
16. **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.
17. **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
18. **Dybus,A., Kmiec M, Sobek Z, Pietrzyk W, Wiśniewski B.** Associations between polymorphisms of growth hormone releasing hormone (GHRH) and pituitary transcription factor 1 (PIT1) genes and production traits of Limousine cattle. Arch. Tierz., Dummerstorf 46 (2003) 6, 527-534
19. **Dybus,A., Szatkowska I, Czerniawska-Piatkowska E, Grzesiak W, Wójcik J, Rzewucka E, Zych S.** PIT1-HinfI gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle Arch. Tierz., Dummerstorf 47 (2004) 6, 557-563
20. **Elmacı C, Öner Y:** Et Sığırcılığında Moleküler Genetik Yaklaşımlar. Hayvansal Üretim 48(2):45-48, 2007
21. **Goddard, ME, Hayes, BJ.** "Genomic selection". Journal of animal breeding and genetics = Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie.2007; 124 (6): 323–30.
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. **http://firefly.vetsci.usyd.edu.au/reprogen/QTL_Map/**

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. **Javanmarda, M. R. Mohammadabadib, G. E. Zarrigabayia, c, A. A. Gharahedaghid, M. R. Nassiryc, A. Javadmanshc, and N. Asadzadeha:** Polymorphism the Intron Region of the Bovine Leptin Gene in Iranian Sarabi Cattle (Iranian *Bos taurus*) ISSN 1022-7954, *Russian Journal of Genetics*, 2008, Vol. 44, No. 4, pp. 495–497. © Pleiades Publishing, Inc., 2008.
26. **Jeichitra V, Kandasamy N, Panneerselvam S.** Milk protein polymorphism in Kangayam cattle. *Trop Anim Health Prod*, 2003; 35(2): 147-153.
27. **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.
28. **Kaçar C, Arı UÇ.** Leptinin İnek ve Koyunlarda Enerji Metabolizması ve Üreme Fizyolojisi Üzerine Etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 13 (2): 209-213, 2007
29. **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.
30. **Klauzińska M, Żurkowski M, Siadkowska E, Szymanowska M, Grochowska R, Zwierzchowski L, Klewiec J** :*Animal Science Papers and Reports* vol. 22 (2004) no. 2, 153-171 Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzębiec, Poland
31. **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.
32. **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.
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. **Mangalam HJ, Albert VR, Ingraham HA, Kapiloff M, Wilson L, Nelson C, Elsholtz H, Rosenfeld MG.** A pituitary POU domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Genes Dev.* 1989 Jul;3(7):946-58
36. **Miceikiene I, Peculaitiene N, Baltrenaite I, Skinkyte R, Indriulyte R.** Association of cattle genetic markers with performance traits. *Biologija*, 2006; 1: 24-29.
37. **Oner Y, Elmaci C.** Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *Int J Dairy Technol*, 2006; 59(3): 180–182.
38. **Özdemir M, Doğru Ü.** Sığırların verim özellikleri üzerine etkili önemli moleküler markörler. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*, 2008; 39 (1): 127-135.
39. **Özdemir M:.** Determination of PIT-1/HINF1 Polymorphism in holstein and Native Ear Cattle Raised as Genetic Resource in Turkey. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1): 2012, Page: 25-28
40. **Öztabak K, Toker, ÜN ,Akış I, Mengi A, Karadağ O, Soysal D.** Leptin Gene Polymorphisms in Native Turkish Cattle Breeds. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*16 (6): 921-924, 2010.
41. **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.
42. **Reis C, Navas D, Pereira M, Cravador A.** Growth hormone AluI polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch Zootec*, 2001; 50: 41-48.
43. **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.
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. **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.
46. **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.

47. **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.
48. **Switonski, M.** Molecular genetics in beef cattle- a review. *Animal Sciences Papers and Reports*. 2002;20(Suppl. 1): 7–18.
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. **Tekinşen C.** Süt Ürünleri Teknolojisi. İkinci basım, Kahraman Maraş, 2000, ss: 168, 170.
51. **Tsiaras AM, Bargouli GG, Banos G, Boscós 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.
52. **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
53. **Vaiman, D.** The molecular genetics of cattle. In: *The genetics of cattle*(Eds: R.Fries and A. Ruvinski), 1999CAB International.
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. **Xu S., Jia Z.** Genome-wide analysis of epistatic effects for quantitative traits in barley. *Genetics*. 2007;175, 1955–1963