

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

SİYAH ALACA İNEKLERİN KAPPA KAZEİN (CSN3), β -LAKTOGLOBULİN (LGB), PROLAKTİN (PRL) ve DGAT1 (DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE1) GEN LOKUSLARI BAKIMINDAN GENOTİPİK YAPILARININ ve BU ÖZELLİKLERİYLE SÜT VERİMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN SAPTANMASI

Emine ŞAHİN

**DOKTORA TEZİ
ZOOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

2017

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

SİYAH ALACA İNEKLERİN KAPPA KAZEİN (CSN3), β -LAKTOGLOBULİN (LGB), PROLAKTİN (PRL) ve DGAT1 (DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE1) GEN LOKUSLARI BAKIMINDAN GENOTİPİK YAPILARININ ve BU ÖZELLİKLERİYLE SÜT VERİMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN SAPTANMASI

Emine ŞAHİN

**DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

(Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2008 01 0104.002 nolu proje ile desteklenmiştir.)

2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİYAH ALACA İNEKLERİN KAPPA KAZEİN (CSN3), B-LAKTOGLOBULİN
(LGB), PROLAKTİN (PRL) ve DGAT1 (DIACYLGLYCEROL
ACYLTRANSFERASE1) GEN LOKUSLARI BAKIMINDAN GENOTİPİK
YAPILARININ ve BU ÖZELLİKLERİYLE SÜT VERİMLERİ ARASINDAKİ
İLİŞKİLERİN SAPTANMASI

Emine ŞAHİN

DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu tez .././2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Öçoekluęu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ: Prof.Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof.Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Prof.Dr. M. Ziya FIRAT

Prof.Dr. Cengiz ELMACI

Doç.Dr. AYHAN GÖSTERİT


.....
.....
.....
.....
.....

ÖZET

SİYAH ALACA İNEKLERİN KAPPA KAZEİN (CSN3), β-LAKTOGLOBULİN (LGB), PROLAKTİN (PRL) ve DGAT1 (DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE1) GEN LOKUSLARI BAKIMINDAN GENOTİPİK YAPILARININ ve BU ÖZELLİKLERİYLE SÜT VERİMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN SAPTANMASI.

Emine ŞAHİN

Doktora Tezi, Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU
Ocak 2017, 89 sayfa

Bu çalışmanın amacı, Antalya çevresinde yetiştirilen Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği'ne kayıtlı 517 Siyah Alaca ineğinde, κ-kazein, β-laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 genlerinin genetik çeşitliliğini ve bu polimorfizmler ile süt verimleri arasındaki olası ilişkileri tanımlamaktır. κ-kazein-*Hinf*I, β-laktoglobulin-*Hae*III, prolaktin-*Rsa*I ve DGAT1-*Cfr*I polimorfizmlerini belirlemek için PCR-RFLP metodu kullanılmıştır. Bu çalışmada, κ-kazein, β-laktoglobulin, prolaktin lokusları için A ve B allelleri, DGAT1 lokusu için K ve A allelleri tanımlanmıştır. A ve B allel frekansları sırasıyla, κ-kazein için 0.8279 ve 0.1721, β-laktoglobulin için 0.4662 ve 0.5338, prolaktin için ise 0.8762 ve 0.1238 olarak hesaplanmıştır. DGAT1 lokusunun allel frekansları, K alleli için 0.6441 ve A alleli için ise 0.3559 olarak bulunmuştur. İncelenen popülasyonun tüm lokuslar için Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, ilgili lokuslarda tanımlanan, prolaktin-*Rsa*I polimorfizmi ile süt verimi arasında önemli bir ilişki bulunurken ($P < 0.05$), κ-kazein-*Hinf*I, β-laktoglobulin-*Hae*III ve DGAT1-*Cfr*I polimorfizmleri ve süt verimi arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki tespit edilmemiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Süt protein genleri, Polimorfizm, Siyah Alaca, PCR-RFLP,

JÜRİ: Prof.Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof.Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Prof.Dr. M. Ziya FIRAT

Prof.Dr. Cengiz ELMACI

Doç.Dr. AYHAN GÖSTERİT

ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC STRUCTURE IN TERMS OF KAPPA CASEIN (CSN3), β -LACTOGLOBULIN (LGB), PROLACTIN (PRL) AND DGAT1 (DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE1) GENE LOCUS AND THE RELATIONSHIP BETWEEN THESE CHARACTERISTICS AND MILK YIELDS OF HOLSTEIN COWS

Emine ŞAHİN

PhD Thesis in Animal Science

Supervisor: Prof.Dr. M. Soner BALCIOĞLU

January 2017, 89 pages

The aim of this study was to identify the genetic diversity of κ -casein, β -lactoglobulin, prolactin and DGAT1 genes and the possible associations between these polymorphisms with milk yields in a total of 517 Holstein cows registered to Cattle Breeders' Association of Turkey in Antalya province. In order to determine the κ -casein-*Hinf*I, β -lactoglobulin-*Hae*III, prolactin-*Rsa*I and DGAT1-*Cfr*I polymorphisms, PCR-RFLP method was used. In this study, two types of alleles A and B for κ -casein, β -lactoglobulin, prolactin and K and A for DGAT1 loci, were identified. The frequencies of A and B alleles were calculated as 0.8279 and 0.1721 for κ -casein, 0.4662 and 0.5338 for β -lactoglobulin, 0.8762 and 0.1238 for prolactin loci, respectively. Allele frequencies of DGAT1 locus were found as 0.6441 for K allele and 0.3559 for A allele. The analyzed population is in Hardy-Weinberg equilibrium for all loci. In addition, there were no statistically significant relationships between the genotypes of κ -casein-*Hinf*I, β -lactoglobulin-*Hae*III and DGAT1-*Cfr*I polymorphism and milk yield whereas a significant association between identified prolactin-*Rsa*I polymorphism and milk yield was found ($P < 0.05$).

KEYWORDS: Milk Protein genes, Polymorphism, Holstein, PCR-RFLP

COMMITTEE: Prof.Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Prof.Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Prof.Dr. M. Ziya FIRAT

Prof.Dr. Cengiz ELMACI

Doç.Dr. AYHAN GÖSTERİT

ÖNSÖZ

Çiftlik hayvanları arasında büyük bir paya sahip olan sığırlar bugüne kadar, insanların et, süt, deri gibi birçok gereksinimlerini karşılayabilmiştir. Sığır, çok farklı iklim koşullarına ve yetiştirme sistemlerine uymadaki üstünlüğü ile entansif üretime yatkınlığını günümüzdeki yaygınlığının önemli nedenleri arasındadır.

Nüfusun yeterli ve dengeli beslenebilmesi için süt üretimi oldukça önemlidir. Süt, tüm memelilerin büyüme ve gelişmeleri için elzemdir. Bunun yanı sıra; yapısında bulunan ve fizyolojik olarak önemli olan immünoglobulinler, enzimler, enzim inhibitörleri, büyüme faktörleri, protein ve peptid yapılı ögeler ile yağ asitleri, vitamin ve minerallerden dolayı yaşam için birçok önemli özelliklere sahiptir.

Ülke ve yetiştirici ekonomisine katkısını artırmak amacıyla ekonomik açıdan önemli özellikler bakımından hayvanların verim yeteneklerinin saptanması ve iyileştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, gelecekte gerçekleşmesi beklenen ekonomik koşullarda karlı yetiştiriciliği mümkün kılacak genotiplerin geliştirilmesi, hayvan ıslahı alanında çalışan araştırmacıların ana hedefi olmuştur. Birçok alanda uygulama alanına sahip olan moleküler teknikler, bazı genlere ait genetik varyasyonların tanımlanarak, QTL’da mevcut olan varyasyonla incelenen verim özellikleri arasındaki ilişkileri inceme olanağı sağlamaktadır. Bu doğrultuda hayvanın istenilen özellikler bakımından genetik yapısı belirlenerek seleksiyona önemli katkılar sağlanabilmektedir.

Tez konumun belirlenmesinde yardımcı olup bana bu konuda çalışma fırsatı veren, tüm tez süresi boyunca bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemedi bana destek olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU’na sonsuz teşekkür ederim. Tez izleme komitesinde olduğu süreçte verilerin alınması ve kanların toplanmasında gerekli bağlantıları kurarak yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Selahattin KUMLU’ya, araştırma süresince yardımlarını esirgemeyen tez izleme komitemdeki değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN’e ve Prof. Dr. M. Ziya FIRAT’a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın uygulanabilmesi için sağladıkları maddi kaynaktan ötürü Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan verilerin gönderilmesinde yardımcı olan Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği (TDSYMB)’ne, işletmelerden kan alınmasında yardımcı olan Antalya Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği’ne ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayvanlardan kanların toplanmasında ve tezin diğer aşamalarında desteğini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Taki KARSLI’ya, istatistiksel analizlerde yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Emre KARAMAN’a çok teşekkür ederim.

Son olarak, değerini hiçbir kelimeyle ifade edemeyeceğim annem Fevkiye ŞAHİN’e ve geniş aileme her zaman yanımda oldukları için sonsuz teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	5
2.1. Kappa-kazein (CSN3)	10
2.2. β -laktoglobulin (Beta-lactoglobulin)	12
2.3. Prolaktin (PRL)	14
2.4. DGAT1 (Diacylglycerol acyltransferase I)	15
2.5. PCR-RFLP Yöntemi	16
2.6. Kaynak Taramaları	18
3. MATERYAL ve METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler	33
3.2. Metot	34
3.2.1. Kandan DNA ekstraksiyonu	34
3.2.2. PCR-RFLP yöntemi	35
3.2.2.1. Kappa-kazein	36
3.2.2.2. β -laktoglobulin	37
3.2.2.3. Prolaktin	39
3.2.2.4. DGAT1	40
3.2.3. İstatistiksel analizler	41
3.2.3.1. Gözlenen heterozigotluk (Ho)	42
3.2.3.2. Beklenen heterozigotluk (He)	42
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	44
4.1. Kappa-kazein Geni <i>Hinf</i> I Polimorfizmi	45
4.2. β -laktoglobulin Geni <i>Hae</i> III Polimorfizmi	49
4.3. Prolaktin Geni <i>Rsa</i> I Polimorfizmi	53
4.4. DGAT1 Geni <i>Cfr</i> I Polimorfizmi	56
5. SONUÇ	61
6. KAYNAKLAR	63
7. EKLER	75
Ek 1: Sığır Kappa-kazein Geni	75
Ek 2: Sığır β -laktoglobulin Geni	77
Ek 2: Sığır PRL Geni	82
Ek 2: Sığır DGAT1 Geni	85
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin nükleotidi
a.a.	Aminoasit
AI	Artificially inseminate; yapay tohumlama
Arg	Arginin
Bç	Baz çifti
bGH	Bovine growth hormone; sığır büyüme hormonu
BTA	Bovine chromosome; sığır kromozomu
C	Sitozin nükleotidi
C ⁰	Santrigrat derece
cM	Santimorgan
DAK	Doğu anadolu kırmızısı
DGAT1	Diacylglycerol acyltransferase1
dk	Dakika
dH ₂ O	Distile su
DNA	Deoxyribonucleic acid; deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoxynucleotide triphosphates; deoksinükleotid trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetikasit
FAO	Food and agriculture organization; gıda ve tarım örgütü
g	Gram
G	Guanin nükleotidi
GAK	Güney anadolu kırmızısı
Gln	Glutamin
Ho	Gözlenen heterozigotluk
He	Beklenen heterozigotluk
kb	Kilobaz
kg	Kilogram
LGB	Beta-laktoglobulin
M	Molar
MAS	Marker assisted selection; marker destekli seleksiyon
Mg	Magnezyum
MgCl ₂	Magnezyum klorür
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NCBI	National center for biotechnology information
ng	Nanogram
PCR	Polymerase chain reaction; polimeraz zincir reaksiyonu
PCR-SSCP	Single strand conformation polymorphism; tek zincir konformasyon polimorfizmi
PAS	Peyniraltı suyu
PRLR	Prolaktin receptor; prolaktin reseptörü
bPRL	Sığır prolaktini
QTL	Quantitative trait locus; kantitatif özellik lokusu
RNA	Ribonucleic acid; rinonükleik asit

RFLP	Restriction fragment length polymorphism; restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
rpm	Revolutions per minute (devir/dakika)
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi
sn	Saniye
SNP	Single nucleotid polymorphism; tek nükleotid polimorfizmi
T	Timim nükleotidi
TDSYMB	Türkiye damızlık sığır yetiştiricileri merkez birliği
TİGEM	Tarım işletmeleri genel müdürlüğü
TUİK	Türkiye istatistik kurumu
UV	Ultra viole
WHO	World health organization; dünya sağlık örgütü
V	Volt
vd	ve diđerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Sütün bileşimi (Atamer 2006).....	7
Şekil 2.2. Sütte bulunan protein grupları ve oranları	9
Şekil 2.3. Kazein lokusunun kromozomal yapısı.....	10
Şekil 2.4. Kazein miseli	11
Şekil 2.5. Kappa-kazein A ve B allellerindeki aminoasit ve nükleotid değişimi.....	11
Şekil 2.6. β -laktoglobulin üçüncül yapısı.....	12
Şekil 2.7. β -laktoglobulin lokusunun kromozomal yapısı	13
Şekil 2.8. β -laktoglobulin A ve B allellerindeki aminoasit ve nükleotid değişimi	13
Şekil 2.9. Prolaktin üçüncül yapısı.....	14
Şekil 2.10. Prolaktin lokusunun kromozomal yapısı	14
Şekil 2.11. Prolaktin geni nükleotid değişimi	15
Şekil 2.12. DGAT1 geni nükleotid değişimi.....	16
Şekil 2.13. PCR-RFLP aşamaları.....	17
Şekil 3.1. Kappa-kazein gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı.....	36
Şekil 3.2. Kappa-kazein gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı	37
Şekil 3.3. <i>Hinf</i> I restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı	37
Şekil 3.4. β -laktoglobulin gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı	38
Şekil 3.5. β -laktoglobulin gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı ..	38
Şekil 3.6. <i>Hae</i> III restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı	39
Şekil 3.7. Prolaktin gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı	39
Şekil 3.8. Prolaktin gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı	39
Şekil 3.9. <i>Rsa</i> I restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı	40
Şekil 3.10. DGAT1 gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı.....	40

Şekil 3.11. DGAT1 gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı	41
Şekil 3.12. <i>Cfr</i> I restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı.....	41
Şekil 4.1. Kappa-kazein gen bölgesinin PCR görüntüsü	45
Şekil 4.2. Kappa-kazein geni <i>Hinf</i> I polimorfizmi RFLP bant profil örneği	46
Şekil 4.3. β -laktoglobulin gen bölgesinin PCR görüntüsü	49
Şekil 4.4. β -laktoglobulin geni <i>Hae</i> III polimorfizmi RFLP bant profili örneği	50
Şekil 4.5. Prolaktin gen bölgesinin PCR görüntüsü	53
Şekil 4.6. Prolaktin geni <i>Rsa</i> I polimorfizmi RFLP bant profil örneği	53
Şekil 4.7. DGAT1 gen bölgesinin PCR görüntüsü	57
Şekil 4.8. DGAT1 geni <i>Cfr</i> I polimorfizmi RFLP bant profil örneği	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

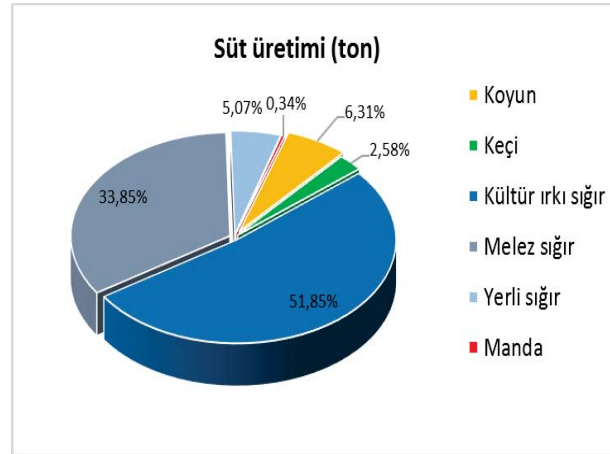
Çizelge 1.1. Türkiye’de tür ve ırklarına göre sağılan hayvan sayısı ve süt miktarı (Anonim 2015)	1
Çizelge 2.1. Çeşitli türlere göre sütlerin ortalama bileşimleri (Metin 2005)	6
Çizelge 3.1. Kan örneklerinin alındığı işletmeler	33
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi.....	34
Çizelge 3.3. Kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 proteini genlerinin çoğaltılması için kullanılan primer ve enzimler	36
Çizelge 4.1. İşletmelere ait laktasyon ortalamaları ve standart hataları.....	44
Çizelge 4.2. Lokuslara ait heterozigotluk istatistikleri sonuçları.....	45
Çizelge 4.3. Siyah Alaca ırkına ait kappa-kazein geninin gen ve genotip frekansları....	46
Çizelge 4.4. Kappa-kazeinin <i>Hinf</i> I polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması	47
Çizelge 4.5. Kappa-kazein geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları	48
Çizelge 4.6. Siyah Alaca ırkına ait β -laktoglobulin geninin gen ve genotip frekansları	50
Çizelge 4.7. β -laktoglobulin <i>Hae</i> III polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması	51
Çizelge 4.8. β -laktoglobulin geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4.9. Siyah Alaca ırkına ait prolaktin geninin gen ve genotip frekansları.....	54
Çizelge 4.10. Prolaktin <i>Rsa</i> I polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması	55
Çizelge 4.11. Prolaktin geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları.....	55
Çizelge 4.12. Siyah Alaca ırkına ait DGAT1 geninin gen ve genotip frekansları.....	58
Çizelge 4.13. DGAT1 <i>Cfr</i> I polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması	59
Çizelge 4.14. DGAT1 geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları	59

1. GİRİŞ

Hayvansal ürünler, taşıdıkları biyolojik özellikleri nedeniyle insanlar için vazgeçilemez bir besin kaynağıdır. İnsanın sağlıklı bir şekilde büyümesi ve gelişmesi için gerekli olan 8 adet aminoasit (a.a.) sadece hayvansal kökenli proteinlerde yeterli miktarda bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO), sağlıklı yetişkin bir insanın vücut ağırlığının her kg'ı için günlük 1 g protein tüketmesi gerektiğini ve bu proteinin % 42'sinin de hayvansal kökenli proteinlerden oluşması gerektiği bildirilmektedir (Anonim 2013). Hayvansal gıdalarda bulunan protein miktarları; ette % 15-20, sütte % 3-4, peynirde % 15-25, yumurtada %12 ve balıkta ise % 19-24 oranlarında bulunmaktadır (Boztepe vd 2014).

Hayvansal üretim, et, süt ve yumurta gibi gıda maddelerinin kaynağı olması dolayısıyla, gerek dünya gerekse ülkemiz tarım sektörü içinde önemli bir yer almaktadır. Türkiye coğrafi özellikleri bakımından her türlü hayvansal ürün üretimi için uygun koşullara ve oldukça önemli bir potansiyele sahiptir. Ülkemizde hayvansal üretimin en önemli kısmını büyükbaş hayvan yetiştiriciliği oluşturmaktadır. Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO; Food and Agriculture Organization) verilerine göre dünya süt üretiminin tamamına yakını ve et üretiminin de % 21'ini tek başına sağlayan sığırcılık, besin maddesi üretiminde büyük paya sahiptir (Anonim 2013). Sığır yetiştiriciliğinin günümüzde yaygın olmasının nedenleri arasında, sığırın çok farklı iklim kuşaklarına ve yetiştirme sistemlerine uymadaki üstünlüğü ile entansif üretime yatkınlığı gelmektedir. Ülkemizde yaklaşık olarak kırmızı et üretiminin % 88'i, süt üretiminin ise % 91'i sığırlardan karşılanmaktadır (Anonim 2015) (Çizelge 1.1).

Tür	Süt üretimi (ton)	%
Koyun	1 177 227	6,3
Keçi	481 174	2,6
Sığır	16 933 520	90,8
Manda	62 761	0,3



Çizelge 1.1. Türkiye'de türlerine göre süt miktarları (Anonim 2015)

Dünyada yetiştirilen 300'den fazla sığır ırkında farklı verim özellikleri ön plandadır. Tarımda geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde yetiştirilen sığırların önemli bir bölümü düşük verimlidir. Yetiştirildikleri bölgelere, kendilerine sağlanan çevreye ve genotiplerine bağlı olarak farklı verim seviyelerinde olan sığır ırklarının bir bölümünde sadece süt veya et verimi ön plana çıkarken, bazı ırklarda ise kombine verimli olmak üzere, hem süt hem de et verimi bakımından yetiştirilmektedir.

Sığır yetiştiriciliğinde ve insan beslenmesinde oldukça önemli olan süt ve süt bileşenlerinin etkisi üzerine araştırmalar hız kazanmıştır. Süt verimi, sütün kompozisyonu, misel organizasyonunu, pıhtılaşma özellikleri ve sütün peynir verimi üzerinde, süt proteinlerine ait polimorfizmlerin etkisinin olduğu bilinmektedir (Trujillo vd 1998). Bu polimorfizmler genetik varyansın bir kısmını açıklamakta ve damızlık değer tahmininin hesaplanmasında değerlendirilmektedir. Verim ile ilişkilendirilebilen bu lokuslar, geleneksel ıslah yöntemlerine uygun bir destek olarak düşünülebilmektedir.

Normalde inek sütü % 3-5'i proteindir, bunun % 80'i kazein ve % 20'si peyniraltı suyu proteini olarak da adlandırılan serum (whey) proteindir. Beta-laktoglobulin, sığır, koyun, köpek, insan ve fare hariç diğer memeli türlerini kapsayan hayvanların sütlerinde bulunan 2 ana serum proteinden birisidir. Türler arası ve içindeki genetik varyasyondan dolayı birçok farklı varyant meydana gelmektedir. Bu serum proteinleri ve kazeinler, kappa kazein gibi süt proteinlerinin ikinci bir sınıflandırması olarak, yavru için mineral ve aminoasit kaynağıdır. Bu proteinler sütün kesilmesi ve pıhtılaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Pıhtılaşmadaki bu rol ayrıca, peynir tüketiminde bazı unsurlara gereksinim duyan insanlar için önemlidir.

Omurgalıların çeşitli sınıflarında ortaya çıkarılan, hipofiz bezinin çok yönlü polipeptit hormonlarından biri olan prolaktin (PRL), meme büyümesinin ve laktogenezinin önemli bir regülatörüdür (Wallis 1974). Prolaktin, sığırlarda öncelikle süt proteinleri, laktoz ve yağların, sütün ana unsurlarının sentezini teşvik etmek için meme alveollerinde rol oynamaktadır (Le Provost vd 1994).

Sığırın 14. kromozomu (Bovine Chromosome-BTA) yakınında 3 cM'luk marker aralığında DGAT1 (diacylglycerol acyltransferase1) olarak adlandırılan QTL (Kantitatif Karakter Lokusu; Quantitative Trait Locus) için güçlü bir aday genin süt verimini etkilediği tespit edilmiştir (Winter vd 2002, Grisart vd 2004). DGAT1, Asil CoA enzimini kodlamaktadır ve intestinal yağ absorpsiyonu, lipoprotein toplama, adipoz doku formasyonu ve ökaryotlarda triasilgliserol metabolizmasını da içeren laktasyon gibi fizyolojik işlemlerde, hücrel diasilgliserol metabolizmasında temel rol oynamaktadır (Cases vd 1998).

Ülke ve yetiştirici ekonomisine katkısını arttırmak amacıyla ekonomik açıdan önemli özellikler bakımından hayvanların verim yeteneklerinin saptanması ve iyileştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, gelecekte gerçekleşmesi beklenen ekonomik koşullarda kârlı yetiştiriciliği mümkün kılacak genotiplerin geliştirilmesi, hayvan ıslahı alanında çalışan araştırmacıların ana hedefi olmuştur. Islah programlarının planlanabilmesi ve başarıyla yürütülebilmesinin ön koşulu, üzerinde durulan özellik veya özellikler bakımından populasyonun genotipik ve genetik yapısının tanımlanmasıdır.

Çiftlik hayvanlarında, çevre faktörleri tarafından büyük ölçüde etkilenen ve ekonomik öneme sahip süt, yapağı, yumurta ve et verimi gibi karakterler çok sayıda genin etkisi altındadır. Bu nedenle kantitatif karakterlerde fenotipik değer, çoğu kez genotipik değeri iyi şekilde yansıtmamakta ve dolayısıyla fenotipe dayalı seleksiyonda başarıyı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu gibi durumlarda seleksiyon kriteri olarak, erken yaşta ortaya çıkan, saptanması kolay ve üzerinde durulan karakterle genetik

korelasyon halinde bulunan diğer bir karakter kullanılmaktadır (Düzgüneş vd 1991). Genlerin pleiotropik etkisi, genetik polimorfik sistemlerin ekonomik verim özellikleriyle muhtemel ilişkisini ortaya koymaktadır. Genlerin bu fonksiyonları aynı zamanda genetik korelasyona yol açmaktadır. Genetik korelasyon, dolaylı seleksiyonla sağlanacak ilerlemeyi yani seleksiyonun verimliliğini etkileyen önemli genetik parametrelerden biridir. Dolayısıyla, süt protein polimorfizmi ile ekonomik verimler arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Biyoteknoloji alanındaki gelişmeler, çiftlik hayvanlarının seleksiyonda, döl verimi, yaşama gücü, bazı hastalıklara yatkınlık ve diğer kantitatif verim özellikleri ile pleiotropi, bağlantı ve heterozigotluk gibi çeşitli gen etki şekillerine ve ilişkilerine bağlı olarak, üzerinde durulan özelliklerle yüksek derecede bir korelasyon gösteren ve erken dönemlerde tespit edilebilen kan, hormon vs. gibi bir takım polimorfik biyokimyasal karakterlerin, çevre koşullarından etkilenmemeleri, az sayıda gen tarafından kontrol edilmeleri, doğumla birlikte kısa bir süre içerisinde tanımlanabilmeleri dolaylı seleksiyon ile yüksek verimli hayvanların belirlenmesine imkan sağlayabileceğini göstermektedir.

Sütün kalıtsal bir özelliği olan ve biyokimyasal ve immunolojik metotlarla tespit edilebilen süt proteini tiplerinin, damızlık seçiminde kriter olarak alınabileceği ve populasyonların genetik ıslahında kullanılabileceği ortaya çıkarılmıştır. Süt protein genlerinin kodominant kalıtım göstermesi, genetik yapının laboratuvar analizleriyle belirlenebilmesi, kantitatif karakterlerin seleksiyonunda kalitatif süt proteinlerinden yararlanma imkanı sağlayabilmektedir. Böylece, populasyonun genetik yapısının geliştirilmesi ve iyileştirilmesi açısından süt proteinlerinin polimorfik karakterleri genetik seleksiyona konu olabilmektedir.

Hayvanların hayati sıvı veya belirli vücut sıvılarında bulunan biyokimyasal unsurların kalitatif yönlerinin genotipin iyi bir göstergesi olduğu laboratuvar metot ve tekniklerinin geliştirilmesi ile anlaşılmıştır (Düzgüneş 1991). Populasyonların genetik özelliklerinin belirlenmesinde bir dönem polimorfik biyokimyasal sistemler oldukça sık kullanılmıştır. Daha sonra DNA düzeyinde genetik varyasyonu saptamaya yönelik tekniklerin geliştirilmesiyle bireylerin genotiplerini doğrudan belirleme imkânı elde edilmiştir. Ökaryotik genomların yüksek oranda DNA dizi varyasyonları gösterdiği ortaya konmuştur. DNA düzeyinde saptanan genetik varyasyon, çiftlik hayvanlarında genetik farklılığın tanımlanmasında, farklı ırk ve eko-tipler arasındaki genetik ilişkilerin tahmin edilmesinde, ayrıca pedigrî tayininde yoğun olarak kullanılmaktadır. Günümüzde moleküler teknikler, çiftlik hayvanlarında populasyonların genetik yapısının DNA düzeyinde belirlenmesinde ve ıslah programlarında markere dayalı seleksiyon (MAS) çalışmaları için kullanılmaktadır.

Biyoteknolojik çalışmalarda en yaygın kullanılan DNA marker yöntemlerinden biri olan Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP) yöntemi, diğer yöntemlerde olduğu gibi cinsiyet gözetmeksizin erken yaşlarda genotipleri tanımlama imkanı sağlamaktadır. Kary Mullis'in (1990) buluşu olan, nükleik asitlerin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan bir metot olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR; Polimerase Chain Reaction) temeline dayanan bu yöntem birçok araştırmada tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, Antalya çevresinde yetiştirilen Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği (TDSYMB)'ne kayıtlı 517 Siyah Alaca ineğin kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 gen lokusları bakımından genotipik yapılarının PCR-RFLP metodu ile incelenmesi ve bu lokuslar ile süt verimleri arasındaki ilişkilerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

İnsanoğlu için büyümek, gelişmek ve sağlıklı kalabilmek adına yeterli ve dengeli beslenme çok önemlidir. İnsan gelişimi bakımından çok önemli olan 8 adet aminoasit (valin, lösin, izölösün, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan) sadece hayvansal kökenli proteinlerde yeterli miktarda bulunmaktadır. Günümüzde ülkelerin gelişmişlik düzeylerinin belirlenmesinde ölçüt olarak kullanılan önemli kriterlerden biri de kişi başına tüketilen hayvansal besin miktarıdır. Hayvansal üretim faaliyetleri içinde sığır yetiştiriciliği, özellikle insan beslenmesinde çok önemli olan et, süt gibi temel gereksinimleri karşıladığı için ülke ekonomisinde önemli bir rol oynamaktadır.

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde en önemli konulardan biri olan seleksiyon yöntemlerinin en temel amacı, damızlık hayvanın gelecekteki verimini, dolayısıyla genetik değerini yüksek bir doğruluk oranıyla tahmin edebilmektir. Çiftlik hayvanlarının et, süt, yumurta, yapağı gibi ekonomik öneme sahip verim özellikleri çevre faktörleri tarafından büyük ölçüde etkilenmektedir ve çok sayıda genin etkisi altındadır. Bu nedenle kantitatif karakterlerde fenotipik değer, çoğu kez genotipik değeri iyi şekilde yansıtmamakta ve dolayısıyla fenotipe dayalı seleksiyonda başarıyı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu gibi durumlarda seleksiyon kriteri olarak, erken yaşta ortaya çıkan, saptanması kolay ve üzerinde durulan karakterle genetik korelasyon halinde bulunan diğer bir karakter dikkate alınmaktadır (Düzgüneş vd 1991). Bir karakter bakımından genotipik ilerlemenin veya iyileştirmenin, bu karakter ile genetik ilişkisi ve kalıtım derecesi yüksek olan ve aynı zamanda kolay tespit edilebilen başka bir karakter tarafından belirlenmesi dolaylı seleksiyon kavramını oluşturmaktadır.

Hayvancılıkta ekonomik önemi olan özellikler veya çeşitli hastalıklar ile ilişkili genlerin moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi ve bu genlerin seleksiyon programlarına dahil edilmesi Marker Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection; MAS) olarak adlandırılmaktadır. Klasik seleksiyon çalışmalarında kullanılan kriterlere bazı gen bölgelerinin de eklenmesi seleksiyonda başarıyı artırarak genetik ilerlemeyi hızlandırmaktadır. Çünkü bu gen bölgeleri çevre koşullarından etkilenmemekte ve hayvanların yaşamlarının erken dönemlerinde belirlenebilmektedir. MAS çalışmalarının yanı sıra, az sayıda ya da tek bir gen tarafından (majör gen) etkilenen özelliklerde moleküler markerler dolaylı seleksiyona imkan sağlamaktadır.

Anavatanı Hollanda'nın Frizya bölgesi olan ve dünyada en yaygın olarak yetiştirilen sığır ırkı olan Holstein ırkının, renginden dolayı Siyah Alaca veya Kırmızı Alaca olarak da adlandırılan iki tipi bulunmaktadır. Siyah Alaca tipi Kırmızı Alaca tipine kıyasla çok daha yüksek oranlarda yetiştirilmektedir ve bu sebeple Holstein sığır ırkı için Siyah Alaca tanımlaması yaygın olarak kullanılmaktadır. Buna bağlı olarak bu çalışmada da, Holstein sığır ırkı için Siyah Alaca tanımlaması kullanılmıştır.

Türkiye'de de yetiştirilen kültür ırkı sığırların önemli bir bölümünü sütçü özelliği ile ön plana çıkan Siyah Alaca ırkı oluşturmaktadır. Dünyada yayılma alanı en geniş olan kombine verimli Siyah Alacalar, Avrupa'da önce süt ve et, daha sonra ağırlıklı süt; Kuzey Amerika'da ise süt verimi yönünde ıslah edilmiştir. Hızlı büyüme özelliği ve iri cüseye sahip olması nedeniyle, Siyah Alaca ırkı sığırlar et verimi

amacıyla da kullanılabilir. Islah çalışmaları sonucunda, Siyah Alaca ırkı sığırlarda laktasyon süt verimi 7-11 ton düzeyine ulaşabilmekte ve sütündeki yağ oranı % 3.5, protein oranı ise % 3.3 düzeyine erişebilmektedir. Ergin ağırlığı 700-800 kg'a yükselen Siyah Alaca ırkı sığırlar, Türkiye'de olduğu gibi, dünyanın birçok ülkesinde ıslah edici ırk olarak kullanılmış ve halen kullanılmaktadır. Besideki hayvanlarda günlük canlı ağırlı artışı 1200-1300 g seviyelerine ulaşmaktadır (Boztepe vd 2014). Geniş bir iklim kuşağında yetiştirilebilen Siyah Alaca ırkı, Türkiye'de de yetiştiriciler tarafından tercih edilmiş ve bu nedenle saf ve melez olarak sayıları hızla artmıştır. Türkiye'nin tüm bölgelerinde başarıyla yetiştirilebilen Siyah Alaca ırkı sığırların en yaygın olduğu bölgeler Batı-Anadolu ve Marmara bölgeleridir (Kumlu 1999).

Süt, yavruların beslenme gereksinimlerini karşılamak amacıyla, yavrunun kendini besleyebilecek duruma gelene kadar almak zorunda olduğu, organizmanın büyüme ve gelişimi için gerekli olan, türlere göre farklılık göstermekle birlikte, içinde besin öğelerinin çoğunu içeren dişi memeli canlıların salgıladıkları biyolojik bir sıvıdır (Fox ve Mc Sweeney 1998). Özellikle çocuklarda kemik ve diş oluşumlarının tamamlanmasına ve kemik yoğunluğunun en üst noktaya ulaştığı 25-30 yaşlarına kadarki süreçte alınan kalsiyum miktarı ile kemik yoğunluğunun artmasına neden olmaktadır. Bu dönemlerde yeterli miktardaki süt tüketimi, dolayısıyla kalsiyum alımı, tüm yaşam boyunca kemik sağlığının korunmasında önemli olmaktadır.

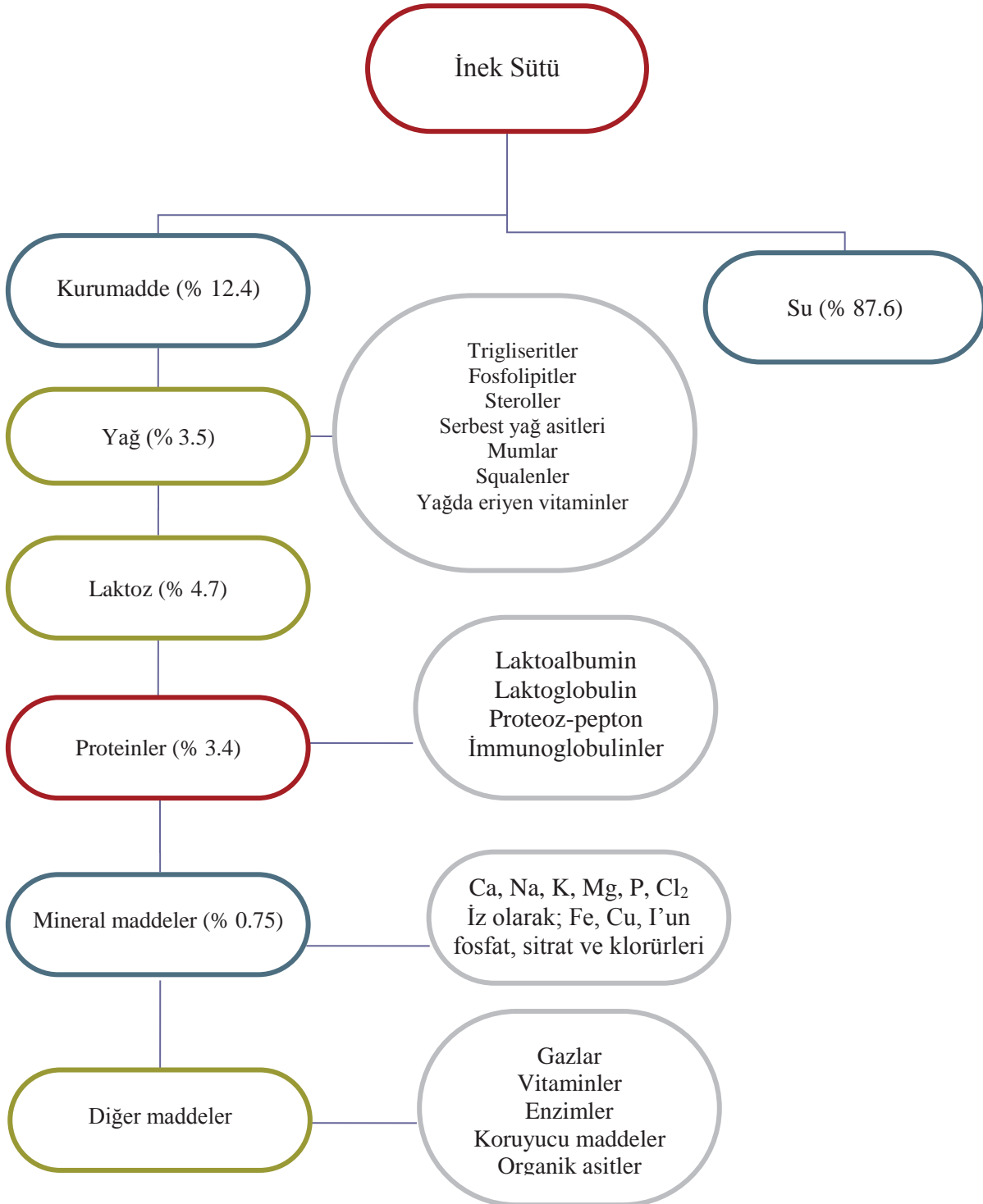
Birçok etken sütün miktarını ve içeriğini önemli ölçüde değiştirebilmektedir. Sütün miktarı, protein ve yağ oranı gibi özellikleri, hayvanın türüne ve ırkına, bakım ve beslenme durumuna, yaşa, mevsime, hareket durumuna, hastalıklara, sağım koşullarına ve laktasyon dönemine göre farklılıklar göstermektedir. Çeşitli türlere göre sütlerin ortalama bileşimleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çeşitli türlere göre sütlerin ortalama bileşimleri (Metin 2005)

Süt Çeşidi	Kurumadde (%)	Süt yağı (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	Mineral madde
İnsan	12.4	3.8	1.0	7.0	0.2
İnek	12.4	3.8	3.3	4.7	0.7
Koyun	17.3	6.3	5.3	4.6	0.9
Keçi	13.2	4.1	3.7	4.6	0.8
Manda	17.4	7.5	4.1	4.8	0.7
Kısrak	10.0	1.5	2.2	5.9	0.4
Eşek	12.0	1.8	2.5	6.1	0.5
Deve	13.6	4.5	3.6	5.0	0.7
Ren geyiği	33.3	16.9	11.5	2.8	1.4
Balina	37.5	22.0	12.0	1.8	1.7

Memedeki alveol hücrelerde sentezlenen sütün bazı bileşenleri direkt kandan geçerken, büyük bir kısmı kandaki temel taşlarıyla yeniden sentezlenmektedir. Şekil 2.1'de gösterildiği gibi, çeşitli tuzlar ve süt şekerinden meydana gelen kristaloitlerin

sulu bir eriğinden oluşan süt, yaklaşık % 95'i protein formunda olmak üzere, 5.3 g/kg azot; vitaminler, metal iyonlar, aroma bileşikleri gibi yüzlerce minör bileşen içermektedir (Atamer 2006).



Şekil 2.1. Sütün bileşimi (Atamer 2006)

Süt üretimi ve ürünlerinin işlenmesi, insan yaşamı bakımından son derece önemli olması dolayısıyla hayvansal üretim içinde önemli bir yere sahiptir. Hayvan

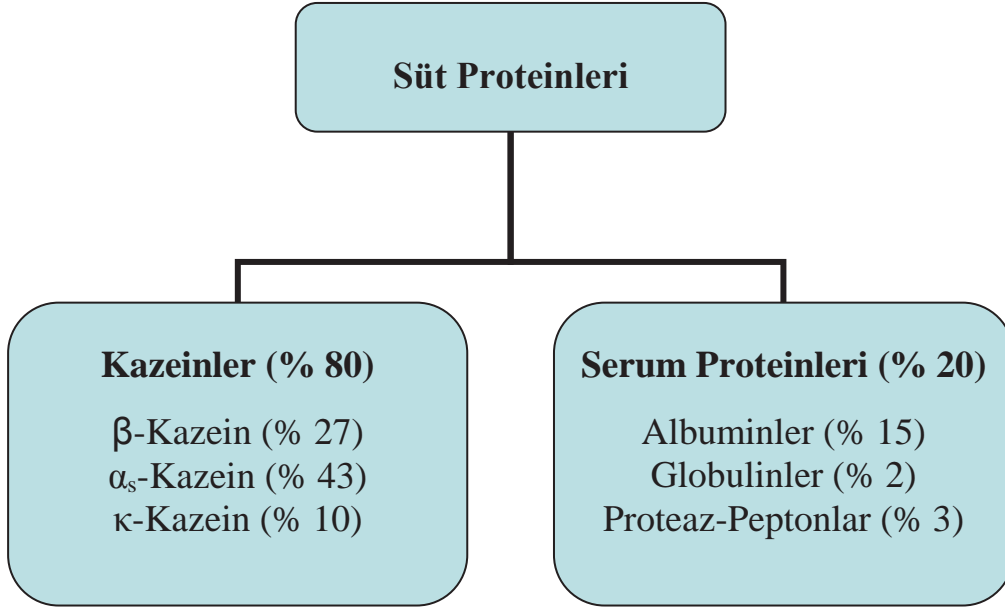
başına verimin fazla olması ve laktasyon sürecinin uzunluğu nedeniyle birçok ülkede süt üretiminde inekler ön planda tutulmaktadır. Dünyadaki süt sığırı yetiştiriciliğinde uygulanan seleksiyon çalışmaları genel olarak süt verimi ve süt bileşenleri üzerinde yoğunlaştırılmıştır.

Vücudun yapı taşı olarak bilinen proteinler, hücrelerde birçok farklı yapılar da üretilmektedir. Üretilen bu proteinler, vücudun gelişiminden ve metabolik işlevlerinden sorumlu enzimleri ve yapısal unsurları içermektedir. Bu nedenle proteinlerin beslenmede önemli bir yeri bulunmaktadır. Süt proteinlerinden hücre ve dokuların oluşmasında, organizmanın büyüme ve gelişmesinde, kendini yenilemesinde diğer proteinlere oranla daha iyi yararlanılmaktadır. Ayrıca biyolojik değeri bitkisel proteinlere göre daha yüksektir. Süt proteinleri, vücut tarafından sentezlenemeyen ve mutlaka dışarıdan alınması gereken, büyüme ve gelişme için vazgeçilemez esansiyel aminoasitleri barındırmaktadır.

İnek sütünün pH'ı 25 °C sıcaklıkta 6.5 – 6.7 aralığında değişim göstermektedir. Yaklaşık 30 °C sıcaklıkta, pH 4.6'ya düşürüldüğünde proteinlerin yaklaşık % 80'i dibe çöktürülerek çözüldüğüden ayrılmaktadır. Bu ayrılmış olan kısım kazein olarak bilinmektedir ve pH 4.6 kazeinlerin izoelektrik noktası olarak tanımlanmaktadır. Sütün peynir mayası veya organik asitle pıhtılaşmasıyla elde edilen pıhtının süzülmesinden sonra geriye kalan, laktoalbumin ve laktoglobülin gibi serum proteinleri ile laktoz, yağ, mineral madde ve vitaminleri içeren yeşilimsi sarı renkteki sıvı peyniraltı suyu (PAS), serum proteini ya da kazein olmayan azot olarak da tanımlanmaktadır (Fox ve Mc Sweeney 1998).

Peynir yapımında kullanılan sütün % 70-90'ı serum protein olarak elde edilmektedir ve bu değer peynir çeşidine göre farklılık göstermektedir (Alpkent ve Göncü 2003). Biyolojik değeri diğer proteinlerden farklı olmayan serum proteinleri, özellikle vücuttaki antioksidan peptitlerin düzeyini korumaya yardımcı olan kükürtlü aminoasitleri de içermektedir (Karagözlü ve Bayarer 2004).

Sütün birçok hastalık için tedavi edici özellikte olmasına sebep olarak yapısındaki serum proteinleri gösterilmektedir. Yapılan çalışmalarda, süt serum protein karışımının anti kanserojen ve serbest radikal hasarını önleyici etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Ewan ve Zemel 2003, Ögünç ve Yalçın 2011). Normalde inek sütünün % 3-5'i proteindir, bunun % 80'i kazein ve % 20'si serum (whey) proteindir. Sığır sütündeki özel proteinler olarak; kazein, laktoglobülin ve laktoalbumin görülmektedir. Bunların dışında proteoz-pepton fraksiyonları da üzerinde durulan diğer serum proteinleridir (Walstra ve Jenness 1984) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Sütte bulunan protein grupları ve oranları

Süt proteinleri, Mendel kalıtımı yolu ile kodominant olarak aktarılan genetik varyantlara sahiptir (Rice vd 1966). Bu özelliğe ek olarak, laboratuvar analizleriyle genetik yapının kolayca belirlenebilmesi, kantitatif karakterlerin seleksiyonunda kalitatif süt proteinlerinden yararlanma imkanı sağlamaktadır. Bu sebeple, süt proteinlerinin genetik polimorfizmi, popülasyonun genetik yapısının geliştirilmesi ve iyileştirilmesini amaçlayan genetik seleksiyonda bir markör olarak kullanılabilir. Süt protein polimorfizmi ile verim özellikleri, süt ve sütün ekonomik özelliklerinin kompozisyonu arasındaki ilişkiler birçok çalışmada araştırılmış ve tanımlanmıştır (Kaygısız ve Doğan 1999, Dybus vd 2005, Tsiaras vd 2005, Öner ve Elmacı 2006, Ghasemi vd 2009, Barbosa da Silva vd 2010, Gürcan 2011, Mahajan vd 2012, Cerit vd 2014, Fontaseni vd 2014, Rivera vd 2014, Vidovic vd 2014, Singh vd 2015).

Süt proteinleri, biyokimyasal ve immunolojik metotlarla tespit edilebilen süte ait kalıtsal bir özelliktir. Süt protein genlerine ait bazı polimorfizmler, süt verimini, sütün kompozisyonunu, misel organizasyonunu ve pıhtılaşma özelliklerini etkilemektedir (Trujillo vd 1998). Bu polimorfizmler genetik varyansın bir kısmını açıklamaktadır. Böylece, üzerinde çalışılan lokuslara ait bu bilgiler, geleneksel ıslah yöntemlerinde damızlık değer tahmininin hesaplanmasında destek sağlayabilmektedir (Pribyl 1995).

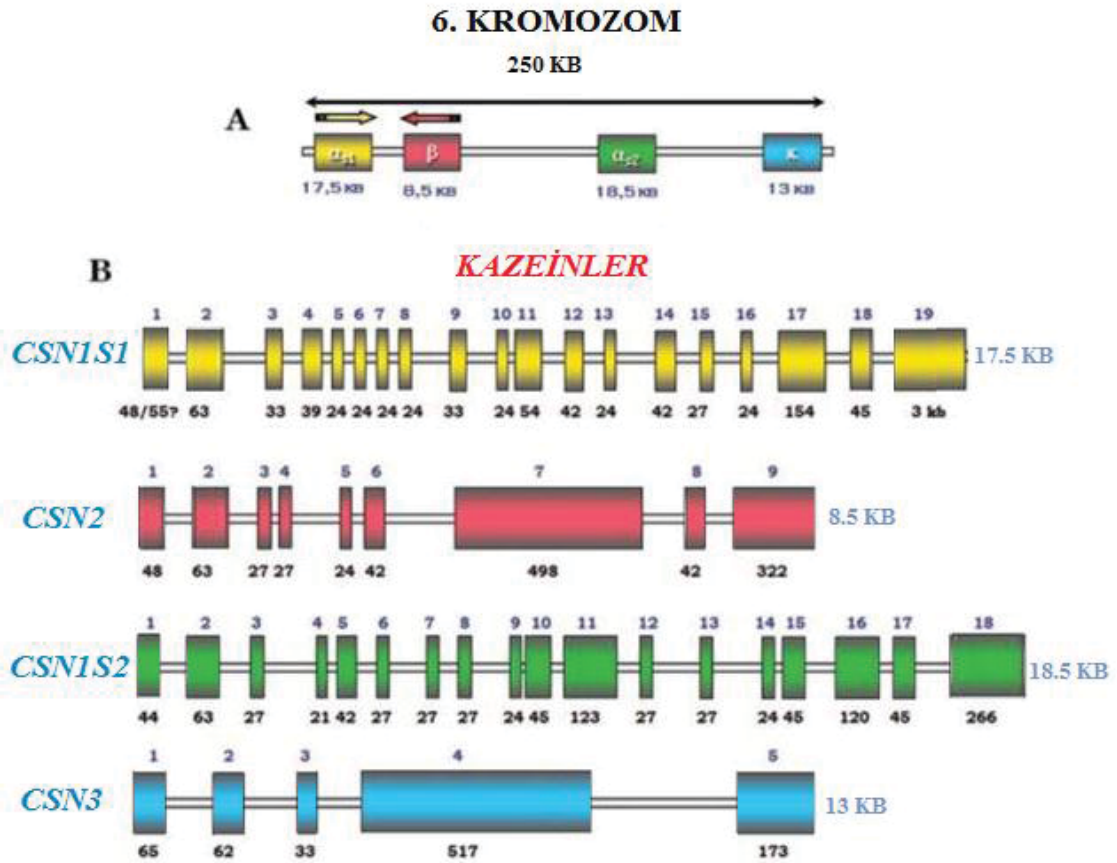
Popülasyonun genetik yapısının tanımlanması, hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik değere sahip karakterlerin ıslahında uygulanacak yöntemin başarısını arttırmaktadır. Seleksiyonda verimliliği arttırabilmek ve erken yaşta tespit edilebilen özelliklerle dolaylı seleksiyonu sağlayabilmek amacıyla yapılan birçok uygulamalı araştırma içinde; kan antijenleri, serum proteinleri ve enzim faaliyetleri ile ilgili genlerin, genotiplerin veya genotip kombinasyonlarının tespiti başta gelmektedir (Soysal 1983).

Günümüzde moleküler genetik tekniklerinden elde edilen veriler yardımı ile çiftlik hayvanlarında genetik yapı ve farklılıklarını belirleme çalışmaları başarılı bir

şekilde yürütülmektedir. Genetik polimorfizmlerin ekonomik verim özellikleriyle ilgisi, genlerin pleiotropik etkisinden kaynaklanmaktadır. Genlerin bu pleiotropik etkisi, dolaylı seleksiyonla sağlanacak ilerlemeyi, yani seleksiyonun verimliliğini etkileyen en önemli genetik parametre olan genetik korelasyona yol açmaktadır. Süt verimi çevre faktörlerinden etkilenmekle birlikte çok sayıda gen tarafından kontrol edilen poligenik bir karakterdir. Bu bakımdan, süt protein polimorfizmi ile ekonomik verimler arasındaki ilişkinin bilinmesi büyük önem taşımaktadır.

2.1. Kappa-kazein (CSN3)

Sütün doğal yapısı içerisinde miseller şeklinde yer alan ve sütün asit ile muamelesinden sonra çökmeyen esas protein olan kazeinler, α -S₁ kazein, α -S₂ kazein, β -kazein ve kappa-kazein olmak üzere 4 farklı formdan oluşmaktadır. Bu proteinler 6. kromozomda yer alan 250 kb'lik genomik bölgede bulunan bir gen kümesi tarafından kodlanmaktadır (Şekil 2.3).

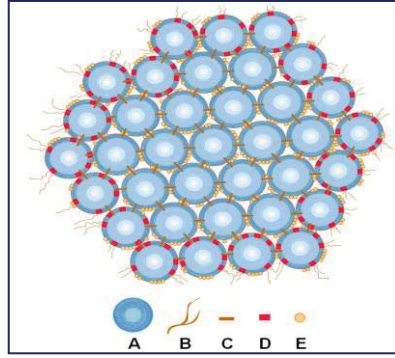


Şekil 2.3. Kazein lokusunun kromozomal yapısı

Kazeinler, peynir, süt tozu ve kazein tozu gibi süt mamullerinin ana bileşenleridir ve bu mamullerin imalatı sırasındaki teknolojik işlemlerle değişime uğrayabilmektedirler. Dolayısıyla, fermente süt mamulleri ve peynir imalatı sırasında kazeinin pıhtılaşması çok önemli bir özelliktir. Kazein misellerinin yüzeyi ve yüzeydeki iyon dağılımları misellerin pıhtılaşma ve topaklaşma reaksiyonlarında etkilidir.

Kazeinin % 13'ünü oluşturan ve kazein misellerinin en stabil komponenti olan kappa-kazein, süt proteinlerinin % 11'ini oluşturmaktadır (Fox ve Mc Sweeney 1998) (Şekil 2.4). Stabilizatör olarak kappa-kazeinin görevi, kazein üzerindeki kalsiyumun baskısını önleyerek misellerin koloidal durumlarını muhafaza etmelerini sağlamaktır (Metin 2005). Kappa-kazein için en yaygın olarak kullanılan lokus sembolleri κ -kazein, CSN3 ve κ Cn'dir.

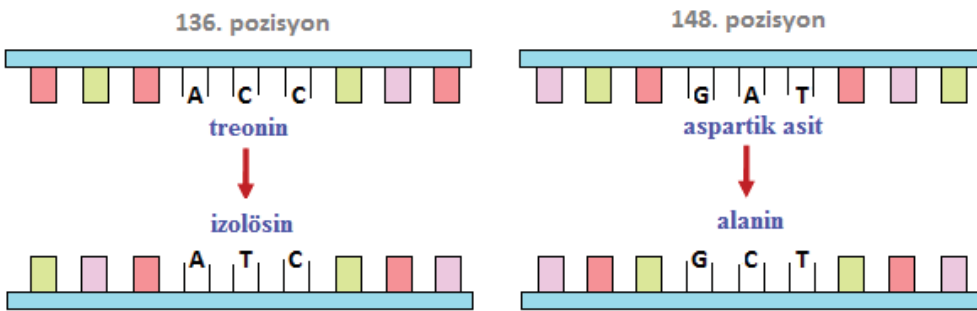
- A: Alt misel**
B: Çıkık zincir
C: Kalsiyum fosfat
D: κ -kazein
E: Fosfat grupları



Şekil 2.4. Kazein miseli

Kappa-kazein geni (Ek1a: GeneBank-AJ849456.1) 169 aminoasitten oluşan bir polipeptit zincirine sahiptir ve kazein misellerinin dengesi ve yapısı için önemli olan süt proteinini kodlamaktadır (Alexander vd 1988). Neubauerova (2001)'in bildirdiğine göre, toplam 9 allele (A, B, C, E, F, G, H, I ve A1) sahip olan bu genin en yaygın allelleri A, B ve E allelleridir (Matejcek vd 2007).

5 ekzon ve 4 introndan oluşan kappa-kazein geni, sığırlarda 6. kromozomda yer almaktadır (Anonim 2016a). Kappa-kazein A ve kappa-kazein B allelleri arasındaki temel farklılık; 136. ve 148. Pozisyonlarda, kappa-kazein A allelinde sırasıyla treonin ve aspartik asit şeklinde olan aminoasit sırasının, kappa-kazein B allelinde sırasıyla izolösin ve alanin olarak bulunmasıdır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Kappa-kazein A ve B allellerindeki aminoasit ve nükleotid değişimi

Türler arası ve içindeki genetik varyasyondan dolayı birçok farklı varyant meydana gelmektedir. Serum proteinleri ve kazeinler, yavru için mineral ve aminoasit kaynağıdır. Bu nedenle özellikle serum proteinleri beslenme fizyolojisi açısından

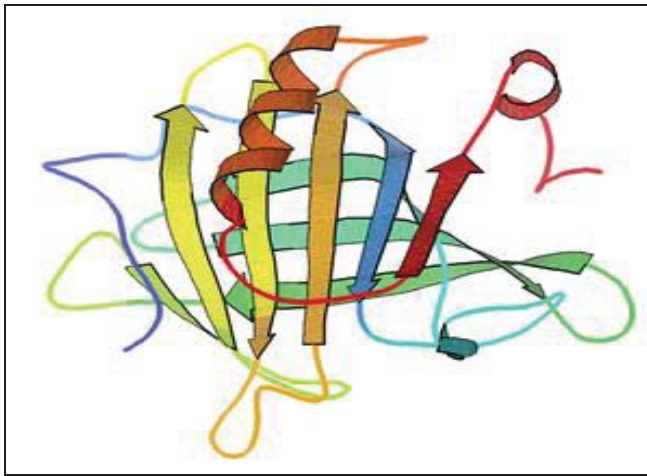
değerlidir. Kazein diğer proteinlere oranla daha fazla miktarda glutamik asit ve aspartik asit içermektedir. Bundan dolayı, doğal bir şekilde oluşan asit gelişimi, asit ilave edilmesi ya da peynir mayası ile kolayca koagüle olabilmektedir. Dolayısıyla kazeinler, sütün kesilmesi ve pıhtılaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek oranda prolin içermesi, az oranda α -heliks yapının oluşmasına neden olmakta ve böylece polipeptitlerin güçlü bir şekilde katlanmasını sağlamaktadır. Pıhtılaşmadaki bu rol ayrıca, peynir tüketiminde laktoz intoleransı, süt alerjisi gibi bazı unsurlarda hassas olan insanlar için oldukça önem kazanmaktadır (Pal vd 2015, Rangel vd 2015).

Kappa-kazein genotiplerinin, protein miktarı ve bileşimini etkilediği, bilinmektedir. A ve B varyantlarına ek olarak 4 yeni varyant da (C, E, F ve G) saptanmakla beraber B varyantının süt üretiminde, adı geçen diğer varyantlardan daha olumlu etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. A alleli, daha yüksek süt verimi fakat daha düşük protein içeriği ile ilişkilirken, B alleli ise daha yüksek protein içeriği fakat daha düşük süt verimi ile ilişkilendirilmiştir (Tsiaras vd 2005, Ahmadi vd 2008).

2.2. β -laktoglobulin (Beta lactoglobulin)

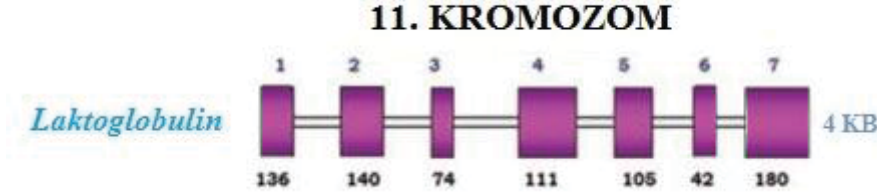
Kazein çöktükten sonra geride kalan çözelti içindeki proteinlere serum proteinleri ya da peyniraltı suyu proteinleri denilmektedir. Serum proteini tek bir madde olmayıp, yarı doymuş amonyum sülfatla veya doymuş magnezyum sülfatla çöktürüldüğünde iki fraksiyona ayrılmaktadır. Çözünür olan kısmına albumin (laktoalbumin) ve çözünmeyen fraksiyonuna da globulin (laktoglobulin) adı verilmektedir.

Başlıca serum proteinlerinden biri olan Beta-laktoglobulin proteini, polimorfik yapıda olduğu belirlenen ilk süt proteindir (Şekil 2.6). Beta-laktoglobulin, PAS proteinlerinde % 50 oranında bulunmakla birlikte, sığır, koyun, keçi, manda ve domuzu (insan ve fare hariç diğer memeli türleri) kapsayan hayvanların sütlerinde bulunan başlıca serum proteinlerinden biridir (Rachagani vd 2006). Beta-laktoglobulin geni için BLG, LGB, β -Laktoglobulin veya β -Lg sembolleri yaygın olarak kullanılmaktadır.



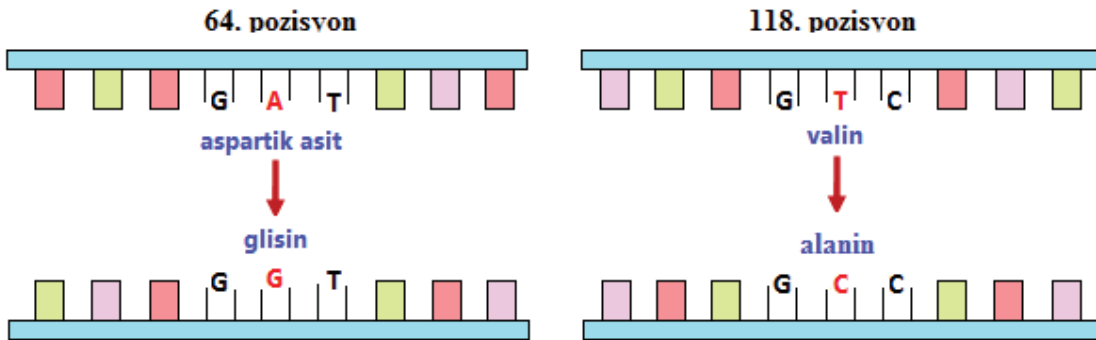
Şekil 2.6. β -laktoglobulin üçüncül yapısı

Sığırdada 11. kromozomda bulunan ve ana serum proteinini kodlayan β -laktoglobulin geni 7 ekzon ve 6 introndan oluşmaktadır (Anonim 2016b) (Şekil 2.7). β -laktoglobulin geninin (Ek1b: GeneBank-X14710.1), en sık görülen A ve B allelleri olmak üzere toplam 15 alleli bilinmektedir (Aschaffenburg ve Drewry 1955).



Şekil 2.7. β -laktoglobulin lokusunun kromozomal yapısı

β -laktoglobulin ruminantlarda 162 aminoasitlik polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Sığırlarda, β -laktoglobulin A alleli sadece 2 aminoasit (aspartik asit-64 ve valin-118) değişikliği dolayısıyla, β -laktoglobulin B allelinden farklılık göstermektedir. Bu iki aminoasit β -laktoglobulin B allelinde sırayla glisin ve alanin olarak ifade edilmektedir (Şekil 2.8). β -laktoglobulin lokusunun B allelinin Avrupa sığır ırklarında süt kalitesi bakımından öncelikli olduğu (Strzalkowska vd 2002), Neubauerova (2001)'in bildirdiğine göre ise, A allelinin ise daha ziyade verim parametreleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Matejcek vd 2007).



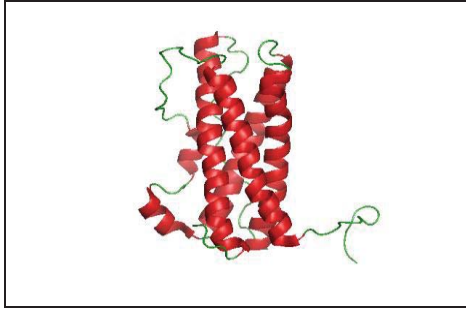
Şekil 2.8. β -laktoglobulin A ve B allellerindeki aminoasit ve nükleotid değişimi

β -laktoglobulin, yüksek besleyici değeri ve emülsifiye edebilme (emülgatör), jel yapabilme gibi birçok fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda ve içeceklerin bileşiminde yer almaktadır (Mate ve Krochta 1994). Son zamanlarda ise β -laktoglobulinden biyoaktif peptit elde edilmesi oldukça önem kazanmıştır (Hernandez-Ledesma vd 2008). Öncü proteinlerle inaktif olabilen bu peptitler, ancak in vivo ya da in vitro koşullarda açığa çıkabilmektedirler. Serbest kaldıklarında insan sağlığında, kolesterol seviyesini düşürücü özelliğinin yanı sıra antimikrobiyal, antihipertansif ve antioksidan özelliklere sahiptirler. Bununla birlikte, β -laktoglobulin proteininin stres azaltıcı ve uyku iyileştirici etkilere sahip olduğunu bildirilmiştir (Yalçın 2006). β -laktoglobulin'i kapsayan serum proteinleri, lor, çökelek ve süzme peynir üretimi için önemlidir. Bu ürünlerde kazeinin olmaması ve laktozun düşük olması, kazeine alerjisi

ve laktoz intoleransı olan insanların tüketimi için fayda sağladığı bildirilmiştir (Dinç 2009).

2.3. Prolaktin (PRL)

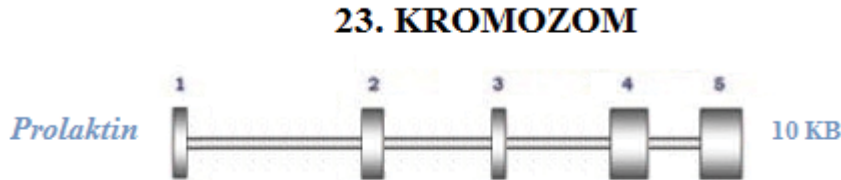
Ön hipofiz bezinden salgılanan ve süt hormonu olarak da bilinen prolaktin hormonu, 199 aminoasit içeren çok fonksiyonlu bir polipeptittir (Wallis 1974) (Şekil 2.9). Esas fonksiyonu laktasyon, üreme, büyüme ve osmoregülasyondur. Primatlar, koyun, keçi, sığır, kemirgen ve insanları kapsayan birçok memelide bulunmaktadır. Prolaktin hormonu ön hipofiz bezi dışında, beyin, plasenta, amniyon, uterus ve meme bezi gibi birçok organda sentezlenmektedir.



Şekil 2.9. Prolaktin üçüncül yapısı

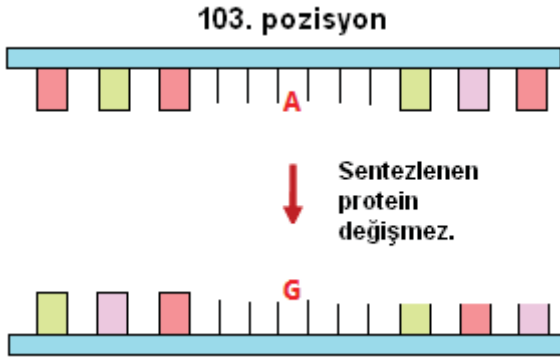
Prolaktin, öncelikle süt proteinleri, laktoz, yağlar ve sütün ana unsurlarının tümünün sentezinden sorumlu olmakla birlikte, laktasyonun başlatılmasında ve laktasyon boyunca salgılanması gerekli olan bir hormondur (Le Provost vd 1994). Ayrıca, prolaktin reseptörü (PRLR) ile sığır prolaktin (bPRL) gen ürününün bağlanması, süt protein genlerini (kazeinler ve laktoalbumin) kapsayan bir takım genlerin transkripsiyonunu aktive eden sinyal akışını başlatmaktadır. Bu düzenleyici akışta rolü olan büyüme hormonu ve prolaktin genleri ortak bir ata genden çoğalmışlardır. Prolaktin aynı zamanda, üreme ve bağışıklık fonksiyonları, şeker dengesini, hücrel büyüme ve farklılaşmayı düzenlemektedir (Loretz ve Bern 1982, Russell 1989, Kelly vd 1991).

Sığırdada 23. kromozom üzerinde bulunan 1201 baz çifti uzunluğuna sahip prolaktin geni (Barendse vd 1997) (Ek1c: GeneBank- NM_173953), 5 ekzon ve 4 introndan oluşmaktadır (Şekil 2.10). Ayrıca, prolaktin geni, A, B, C, G ve T allellere sahiptir (Anonim 2016c).



Şekil 2.10. Prolaktin lokusunun kromozomal yapısı

Sığır prolaktin geninin 4. ekzonunda, nükleotit sırasının 103. pozisyonunda meydana gelen A→G değişimi, *RsaI* restriksiyon enzimi tarafından belirlenebilen bir polimorfizme neden olmaktadır (Lewin vd 1992). Ancak, tek bir nükleotitte ortaya çıkan bu değişim, herhangi bir aminoasit farklılığı oluşturmamaktadır (Şekil 2.11).



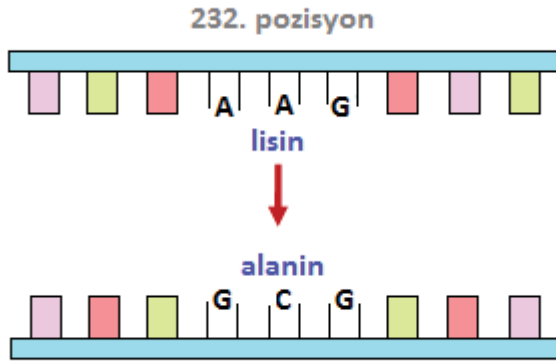
Şekil 2.11. Prolaktin geni nükleotid değişimi

Prolaktin geni, süt üretiminde önemli bir regülatör fonksiyona sahip olduğu için, süt verim özelliklerini etkileyen QTL analizleri için önemli bir aday gen olarak görülmektedir (Brym vd 2005). Birçok araştırmacı, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmini belirlemiş ve tespit edilen genotiplerin süt verimi, yağ oranı ve süt protein içeriği ile ilişkilerini değerlendirmiştir (Dybus vd 2005, Li vd 2006, Ghasemi vd 2009, Alfonso vd 2012).

2.4. DGAT1 (diacylglycerol acyltransferase1)

DGAT1 geni, knock-out farelerde süt salgılanmasının azalması ya da engellenmesi ile ilişkili olduğu bildirilen deneyler sonrasında (Smith vd 2000), sığırlarda sütteki yağ içeriğine ait varyasyonla ilişkilendirilen QTL için aday bir gen olarak görülmektedir (Winter vd 2002, Grisart vd 2004). DGAT1 geni, asil CoA enzimini kodlamakta ve intestinal yağ absorpsiyonu, lipoprotein yapılarının üretimi, adipoz doku yapımı ve ökaryotlarda triasilgliserol metabolizmasını da içeren laktasyon gibi fizyolojik işlemlerde, hücrel diasilgliserol metabolizmasında temel rol oynamaktadır (Pareek vd 2005).

DGAT1 geni (Ek1-d, GenBank:AY065621), sığırın 14. kromozomunun (BTA 14) sentromerik bölgesinde bulunmaktadır (Anonim 2016d). DGAT1 geninin 8. ekzonundaki 10433 ve 10434 pozisyonunda oluşan bir nokta mutasyonu (A/A – G/C), bu genin kodladığı proteinin, 232. pozisyonundaki lizin aminoasidinin alanine dönüşmesi sonucunda iki farklı allel oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 2.12). K232A değişiminde, alanin aminoasitini kodlayan A varyantının (mutant tip) sadece *Bos taurus* sığırlarında görüldüğü, lizin aminoasitini kodlayan K varyantının ise yabani tip olduğu bildirilmiştir (Winter vd 2002).

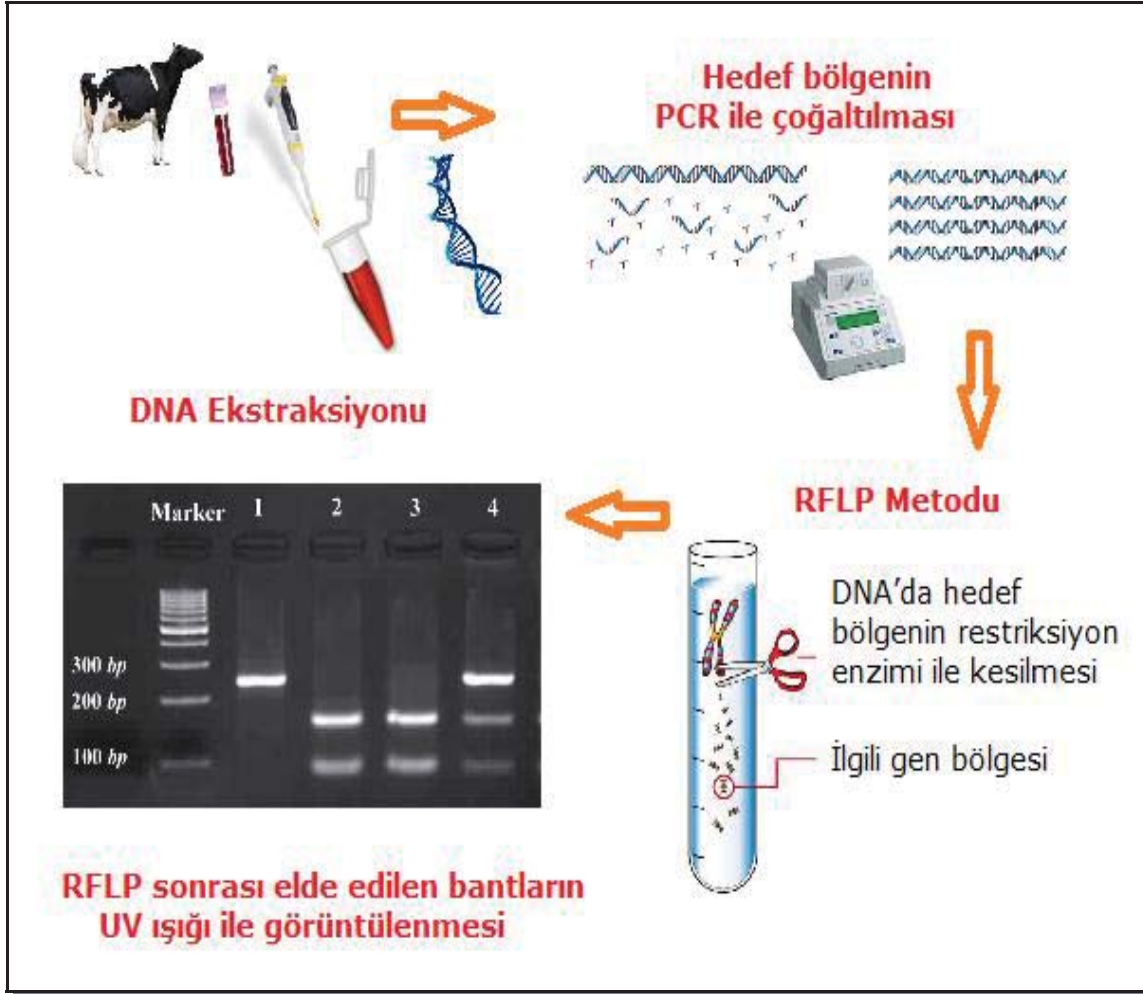


Şekil 2.12. DGAT1 geni nükleotid değişimi

DGAT1 geninde oluşan mutasyondan dolayı, K allelini taşıyan ineklerin sütteki yağ oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Ripoli vd 2006). Birçok çalışmada, yağ verimindeki artış, süt ve protein verimindeki azalma lisin varyantı (K alleli) ile ilişkili bulunurken, alanin varyantı (A alleli) ise yağ verimindeki azalma, süt ve protein verimindeki artış ile ilişkili bulunmuştur (Spelman vd 2002, Thaller vd 2003, Komisarek vd 2004, Pareek vd 2004, Nowacka-Wozuk vd 2008, Cerit vd 2014).

2.5. PCR-RFLP Yöntemi

Rekombinant DNA araştırmaları için temel bir araç olan restriksiyon endonükleazlar, özgül baz dizilerini tanıyarak çift sarmallı DNA'yı spesifik bölgelerinden kesen enzimlerdir. RFLP (Restriksiyon Uzunluk Parça Polimorfizmi-Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi, önceden tasarlanmış primerler yardımıyla çoğaltılan DNA'daki hedef bir bölgenin, uygun restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan fragmentlerin elektroforetik ayırımına olanak sağlayan bir yöntemdir. Ethidium bromide kullanılarak, jelde oluşan DNA bantları, UV ışığı altında görüntülenebilmekte, bu bantların büyüklüğü ve sayısına göre polimorfizmler belirlenebilmektedir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. PCR-RFLP aşamaları

PCR-RFLP teknolojisi, DNA dizisinde bulunan tek nükleotid düzeyindeki dizilim farklılıkları (nokta mutasyonları) sonucu oluşan genetik varyasyonu çalışmak için hızlı ve yararlı bir metot olarak görülmektedir. RFLP markerlerin yüksek polimorfizme sahip olması, kodominant kalıtım göstermeleri, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması ve özgün DNA dizisine ait bilgiye ihtiyaç bulunmaması en önemli avantajlarıdır. RFLP metodunun dezavantajları ise; analiz için yeterli miktarda ve kalitede DNA'ya ihtiyaç duyulması ile birlikte restriksiyon enzimi kullanılması açısından pahalı ve aşamalı bir yöntem olmasıdır.

Çiftlik hayvanlarında ilgili lokuslar bakımından genetik varyasyonun araştırılması, başarılı yetiştirme stratejilerinin geliştirilmesinde yardımcı olabilmektedir. Ayrıca, PCR-RFLP metodu, ökaryot ve prokaryot hücrelerde genomik DNA analizinde, bakteriyel ve viral suşlardaki mutasyonların tanımlanmasında, tür ve orijin tespitinde, epidemiyolojik çalışmalarda, genetik kaynakların korunmasında ve genetik hastalıkların tanısında kullanılmaktadır (Lasagna vd 2007, Patel vd 2007, Doğru vd 2008, Barbosa da Silva vd 2010, Karşı vd 2011, Molee vd 2011, Öner vd 2011, Özdil vd 2011, Şahin vd 2011, Dinç vd 2013, Akyüz ve Çınar 2014, Bal ve Akyüz 2014, Balcıoğlu vd 2014, Ünal vd 2015).

Geçtiğimiz on yılda moleküler genetik alanında yaşanan hızlı gelişim sayesinde, çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan özellikler ile ilişkili çok sayıda gen belirlenmiştir. Süt sığırı yetiştiriciliğinde de, süt verimi ve kalitesiyle ilişkili MAS çalışmalarında kullanılabilecek birçok aday gen tanımlanmıştır. MAS çalışmalarında kullanılan bu aday genler arasında β -laktoglobulin, kappa-kazein, prolaktin ve DGAT1 genleri öne çıkmaktadır.

2.6. Kaynak Taramaları

β -laktoglobulin polimorfizmi koyun, keçi, manda gibi birçok hayvan türünde tespit edilmiş ve süt verim özellikleriyle ilişkileri araştırılmıştır (Prinzenberg ve Erhardt 1999, Elmacı vd 2006, Şahin vd 2011, Tahira vd 2014).

Prinzenberg ve Erhardt (1999) tarafından, Merinos koyun ırkında PCR-RFLP metodu kullanılarak β -laktoglobulin C allelinin moleküler düzeyde genetik karakterizasyonu ile ilgili yapılan çalışmada, β -laktoglobulin geninin ekzon 5, intron 5 ve ekzon 6 bölgelerinde, iki G/A transsilyonu tespit edilmiştir. İlk mutasyon MspI bölgesindeki kayıp ile oluşan AluI kesim bölgesinde (Arg/Gln), ikinci mutasyon ise MspI kesim bölgesinde oluşmuştur. Sonuç olarak araştırmacılar, PCR-RFLP metodu ile mevcut mutasyonların tespit edilebileceğini ve β -laktoglobulin C allelinin ırk dağılımını değerlendirmede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

β -laktoglobulin gen polimorfizmi Elmacı vd (2006) tarafından Türkiye'deki 3 yerli koyun ırkında (Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız) incelenmiştir. Toplam 108 koyunda yapılan bu çalışmada, A ve B allelleri ile birlikte AA, AB ve BB genotipleri PCR-RFLP yöntemi ile tespit edilmiştir. Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırklarında β -laktoglobulin A allel frekansı sırasıyla 0.7759, 0.7632 ve 0.9756, B allel frekansı ise 0.2241, 0.2368 ve 0.0244 olarak hesaplanmıştır.

Şahin vd (2011), Türkiye yerli koyun ırklarında (Akkaraman, Dağlıç, İvesi, Tuj, Karakaş, Norduz, Güney Karaman ve Kangal) PCR-RFLP metodu aracılığı ile β -laktoglobulin gen polimorfizmini araştırmışlardır. 182 koyunda PCR-RFLP metodu kullanılarak yapılan çalışmada, β -laktoglobulin lokusunun iki allelini (A ve B) ve üç genotipini (AA, AB ve BB) gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, AB genotipi, β -laktoglobulin lokusunda en yaygın görülen genotip olarak tespit edildiği ve A allelinin en yüksek frekansına Tuj (0.7188) koyun ırkında rastlandığı bildirilmiştir.

Tahira vd (2014), Nili Ravi ırkı mandaların sütünde, β -laktoglobulin proteini izoformlarını SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis-Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi) ile tanımlamış ve majör süt bileşenleri ile ilişkilerini araştırmışlardır. Toplamda 200 hayvan üzerinde yapılan bu çalışmada β -laktoglobulin AA (0.4900), BB (0.1000) ve AB (0.4000) olmak üzere 3 genotip belirlemişlerdir. β -laktoglobulin geninin A allel frekansını (0.6900), B allel frekansına (0.3100) kıyasla daha yüksek bulmuşlardır. Sonuç olarak, β -laktoglobulin AA ve AB genotiplerinin yüksek süt protein içeriği ile ilişkili olduğunu (% 4.36), AB genotipinin ise yüksek serum proteini (% 1.0) ve toplam süt yağı içeriği (% 6.06) ile önemli derecede ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Dayıoğlu ve Doğru (1997), Esmer (79 örnek), Siyah Alaca (39 örnek) ve Sarı Alaca (7 örnek) sığır ırklarında laktasyon özellikleri ile β -laktoglobulin allelleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada, β -laktoglobulin genotiplerinin belirlenmesi için nişasta jel elektroforez tekniği kullanılmıştır. İncelenen örneklerde, toplam süt verimi, 305 gün süt verimi, günlük ortalama süt verimi, laktasyon uzunluğu, toplam yağ verimi, 305 gün yağ verimi ve yüzde yağ oranı özellikleri incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, ırklar genelinde β -laktoglobulin BB genotipine sahip grup, AB ve AA genotiplerine sahip gruplara laktasyon süt verim özellikleri bakımından üstünlük sağlamıştır. Esmer ve Siyah Alaca ırklarında β -laktoglobulin B allelinin, süt verimini olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Sonuç olarak, toplam süt ve yağ veriminde, 305 gün süt ve yağ veriminde, günlük ortalama süt veriminde, laktasyon uzunluğunda ve yüzde yağ oranında, β -laktoglobulin fenotipleri ve ırk x β -laktoglobulin fenotipi etkisinin istatistiksel açıdan önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Rachagani vd (2006), 228 Sahiwal ve 86 Tharparkar sığır ırkında, β -laktoglobulin geninin *HaeIII* enzim polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelemişlerdir. Sahiwal ırkı için genotip frekanslarını AA; 0.0310, AB; 0.2760 ve BB; 0.6930, Tharparkar için ise, AA; 0.0230, AB; 0.7330 ve BB; 0.2440 olarak hesaplamışlardır. Her iki ırkta da β -laktoglobulin geninin B allel frekansı (Sahiwal için 0.8300 ve Tharparkar için 0.6100), A allel frekansından (Sahiwal için 0.1700 ve Tharparkar için 0.3900) daha yüksek oranlarda bulunmuştur. Ki-kare sonuçlarına göre Sahiwal populasyonu Hardy-Weinberg dengesinde iken, Tharparkar populasyonunun dengede olmadığı gözlenmiştir. Bu durumu, üzerinde çalışılan sürüdeki hayvanlarda sürekli bir göç olması ile açıklamışlardır.

Karimi vd (2009), β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi ile süt üretim özellikleri arasındaki ilişkiyi İran yerli ırkı olan Najdi sığırında incelemişlerdir. PCR-RFLP metodu kullanarak AA, AB ve BB genotip frekansları tespit edilmiş ve bu proteinin polimorfik olduğu ortaya konmuştur. Populasyonda Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenmemekle birlikte, A allel frekansı 0.0875 ve B allel frekansı 0.9125 olarak hesaplanmıştır. β -laktoglobulin BB genotipine sahip ineklerin sütü daha yüksek yağ oranına sahipken, β -laktoglobulin AB genotipine sahip ineklerin süt verimi ve protein yüzdesi daha yüksek oranlarda bulunmuştur. Araştırmada, süt üretim özellikleri ve β -laktoglobulin genotipleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki olmadığı bildirilmiştir.

Heidari vd (2009), İran'daki Siyah Alaca ırkına ait 101 inekte yaptıkları çalışmada, süt üretimi ve β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Mevcut Siyah Alaca sürüsünde A allel frekansını 0.5300 ve B allel frekansını ise 0.4700 olarak hesaplamışlardır. Çalışma sonucuna göre, β -laktoglobulin genotipleri ile süt verimi arasında önemli bir ilişki olmakla birlikte, AA genotipine sahip hayvanların BB genotipine sahip olanlardan daha yüksek süt verimine sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Vidovic vd (2014), 765 Siyah Alaca ırkı inekte β -laktoglobulin geni polimorfizmini ve bu genin genotiplerinin süt verimi ile kalitesine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada, AA genotip frekansı 0.2300, AB genotip frekansı 0.5800 ve BB genotip frekansı ise 0.1900 olarak hesaplanmıştır. Analizler sonrasında, AA

genotipli ineklerin AB ve BB genotiplilerle kıyaslandığında daha yüksek süt ve yağ verimine sahip oldukları fakat daha düşük süt protein yüzdesine sahip oldukları tespit edilmiştir. Buna ek olarak araştırmacılar, laktasyon başına süt veriminin AA ve AB genotipli ineklerde BB genotiplilerden daha yüksek olduğunu ancak bu farklılığın istatistiki olarak önemli olmadığını belirtmişlerdir.

Öner vd (2011), Bursa yöresinde yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca sığır ırklarında β -laktoglobulin ve bGH (bovine Growth Hormone-Sığır Büyüme Hormonu) gen polimorfizmlerini araştırmışlardır. Toplam 110 sığırdaki yapılan bu çalışmada, her iki populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirtilmiştir. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan *HaeIII* polimorfizmine ait analizler sonrasında, β -laktoglobulin A ve B allel frekansları Esmer ırkı için sırasıyla 0.3430 ve 0.6570 olarak, Siyah Alaca ırkı için ise 0.5480 ve 0.4520 olarak hesaplanmıştır.

Türkiye’de yapılan diğer bir çalışmada Demirci ve Akyüz (2014), Boz ırk ve Esmer ırkında, β - laktoglobulin genine ait *HaeIII* polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Araştırmada Boz ırk ve Esmer ırkında, β - laktoglobulin A ve B allel frekansları birbirlerine yakın değerlerde bulunurken (sırasıyla, 0.5500-0.4500 ve 0.4800-0.5200), Simental ırkında A alleli daha yüksek (0.7600) ve Güney Anadolu Kırmızısı ırkında ise B alleli daha yüksek (0.8000) frekanslarda bulunmuştur.

Sütün yaklaşık olarak % 80’nini oluşturan kazeinlerin α S1, α S2, β -kazein ve kappa-kazein gibi formları ile yapılan polimorfizm çalışmaları oldukça fazladır (Molee vd 2011, Dinç vd 2013, Dokso vd 2014, Pal vd 2015). Bu formlardan, sütün kazein kısmının yaklaşık % 25’ini oluşturan kappa-kazein polimorfizmi, sütün verim ve işleme özellikleri üzerindeki etkisinden dolayı birçok türde çalışılmıştır. kappa-kazein B allelini taşıyan ineklerin sütünün sıcaklık direnci daha iyi ve pıhtılaşma süreci daha kısadır (Poulsen vd 2013). Bu nedenle kappa-kazein A ve B allellerinin tespiti pratikte önemli olarak görülmektedir.

Biase vd (2005), 408 Nellore sığırında kappa-kazein geninin *HinfI* polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada, A alleli frekansı 0.9110 olarak oldukça yüksek bir oranda bulunmuştur. Araştırmacılar, AA genotip frekansını 0.8235, AB genotip frekansını 0.1764 olarak hesaplarken, üzerinde çalıştıkları Nellore populasyonunda BB genotipine hiç rastlamamışlardır. Ayrıca, analizler sonucunda genotipler arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı bildirilmiştir.

Rohallah vd (2007), ağır yapıya sahip İran yerli ırklarından biri olan Sistani sığırlarında kappa-kazein gen polimorfizmini araştırmışlardır. *HinfI* polimorfizmi sonucu toplam 65 Sistani sığırında, A allel frekansı 0.6385, B allel frekansı ise 0.3615 olarak hesaplanmıştır. Genotip frekansları, AA genotipi için 0.4000, AB genotipi için 0.4769 ve BB genotipi için ise 0.1231 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda İran Sistani ırkı Avrupa sığır ırkları ile kıyaslandığında, kappa-kazein B alleli ile birlikte, AB ve BB genotip frekanslarının Sistani ırkında daha yüksek oranlara sahip olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, özellikle süt sığırı yetiştiriciliği için, B allelinin süt verimine etkisi göz önüne alındığında büyük önem kazanmaktadır. Elde edilen bilgilere bakılarak, süt üretimi için yoğun seleksiyon yapıldığını ve kappa-kazein allel

frekansının doğrudan süt üretimini etkilediğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada, kappa-kazein allel ve genotip frekanslarının, filogenetik ilişkiler ve ırk farklılığını belirlemede yeterli bir genetik marker olmadığı sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar bu durumu, çalışmada kullanılan hayvanların üretiminde yapay tohumlamada kullanılan boğaların sınırlı sayıda olması ve dolayısıyla sonuçları tek başına değerlendirmenin doğru ve yeterli olmayacağı şeklinde ifade etmişlerdir.

Viorica vd (2007), Romanya’da yetiştirilen Simental sığır ırkında, yüksek süt protein içeriği ve süt verimi ile ilişkili olan Pit-I ve kappa-kazein genlerinin allel ve genotip frekanslarını araştırmışlardır. PCR-RFLP yöntemi kullanılan çalışmada *Hinf*I enzim polimorfizmi incelendiğinde, kappa-kazein geninin A ve B allel frekansları sırasıyla 0.7000 ve 0.3000 olarak hesaplanmıştır. Genotip frekansları ise, AA için 0.4500, AB için 0.5000 ve BB için ise 0.0500 olarak tespit edilmiştir.

Azevedo vd (2008), bazı Brezilya sığır ırklarına ait (Sindhi inekleri, Gyr inekleri ve boğaları, Guzerat inekleri ve boğaları, Nellore boğaları ve GyrXSiyah Alaca melezleri) toplam 1316 hayvanda, kappa-kazein geninin allel frekanslarını, iki bağımsız restriksiyon enzimi kullanarak (*Hinf*I ve *Hae*III) belirlemişlerdir. Analizler sonucunda, bütün ırklarda gözlenen B alleli oldukça düşük frekanslara sahipken (0.0100-0.3000), A allelinin çok daha yüksek frekanslara sahip olduğu tespit edilmiştir (0.7000-0.9900). Araştırmacılar, önceden yapılan çalışmalarda elde edilen, kappa-kazein B allelinin, peynir üretiminde önemli bir etkiye sahip olduğu sonucuna katılmaktadırlar. Bu sonuca bağlı olarak, Brezilya sığır ırklarında kappa-kazein B allelinin düşük frekansta olmasının dikkate alınması ve seleksiyonda süt üretimini etkileyebilecek moleküler markerların belirlenmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Contreras vd (2011), 3 sığır populasyonunda (Gyrholando, Charolais ve Carora) 9 kappa-kazein varyantını (A, B, C, E, F, G, H, I ve J) PCR-RFLP yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Çalışmada, B allelinin frekansı Charolais (0.6000) ve Carora (0.5900) ırklarında en yüksek oranlarda bulunmuştur. Gyrholando ırkı, A varyantına en sık rastlanan ırk, E ve H varyantları için ise en nadir rastlanan ırk olarak tespit edilmiştir.

Molee vd (2011), Siyah Alaca melezi ineklerde, süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine β - ve κ -kazein genlerinin ortak etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, bu çalışmada kappa-kazein geni genotiplerinin yağ yüzdesi, protein yüzdesi ve kurumadde üzerinde pozitif yönde önemli bir etkisini bulurken, bu lokusun süt verimi ile ilişkisine rastlamamışlardır.

Hristov vd (2014), Bulgar Rhodopean sığır ırkının 16 ineğine ait sütteki kazein misellerinin büyüklükleri ile kappa-kazein genine ait genetik polimorfizm arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar, farklı genotiplere sahip ineklerin sütlerindeki kazein misellerinin, farklı büyüklük ve çeşitlilikte olduğunu ortaya koymuşlardır. BB homozigot inekler AB heterozigot ineklerle kıyaslandığında, BB homozigotların süt üretimlerinde %15 oranında artış olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, misel büyüklüğüne ait varyasyonunun kappa-kazein AB genotipi ile ayırt edilebildiğini göstermişlerdir. Sonuç olarak, kappa-kazein AA genotipli ineklerin sütünün daha büyük kazein misellerine sahip olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, sütün protein ve yağ içeriği ile kazein misellerinin büyüklüğü arasında önemli bir ilişki tespit edilememiştir.

Farhadi vd (2014), yerli Najdi sığır ırkında kappa-kazein gen polimorfizmini araştırmışlardır. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelenen 80 adet sığırda, A (0.5400) ve B (0.4600) olmak üzere iki tip allel, AA (0.3500), AB (0.3750) ve BB (0.2750) olmak üzere 3 tip genotip belirlemişlerdir. Ayrıca, 4 farklı bölgeden toplanan bu sığır popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirilmiştir.

Meksika’da yetiştirilen Siyah Alaca sığır popülasyonunda Rivera vd (2014), kappa-kazein polimorfizmini ve bu polimorfizmin süt üretimi ile ilişkisini araştırmışlardır. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışmada, kappa-kazein A allel frekansı 0.8290 ve B allel frekansı 0.1720 olarak bulunmuştur. Hardy Weinberg dengesinde olan bu popülasyonda, kappa-kazein polimorfizmi ve süt üretimi arasında önemli bir ilişki görülmemiştir.

Ghafoor vd (2015), Achai, Sahiwal sığır ırklarında ve Pakistan’ın Nili-ravi mandasında kappa-kazein geninin *HindIII* polimorfizmini araştırmışlardır. Toplam 300 hayvanda PCR-RFLP tekniği kullanılarak yapılan bu çalışmada, Nili-ravi mandası sadece BB genotipine sahip yani monomorfik bulunurken, Sahiwal ırkı sığırlarda AA (0.9200) ve AB (0.0800) genotipleri, Achai ırkı sığırlarda ise AA (0.7000), AB (0.1800) ve BB (0.1200) genotipleri tespit edilmiştir.

CSN3 ve LGB lokusları arasında önemli interaksiyonların tespit edilmesi dolayısıyla bu iki lokusun birlikte etkisinin incelendiği çalışmalardan birinde, Strzalkowska vd (2002), 102 Polonya Siyah Alaca ineğinde kappa-kazein ve β -laktoglobulin lokuslarına ait gen ve genotip frekanslarını PCR-RFLP metodu ile belirleyip, süt verim özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Kappa-kazein geni allel frekanslarını, A alleli için 0.7700 ve B alleli için 0.2300 olarak, β -laktoglobulin geni allel frekanslarını ise, A alleli için 0.3700 ve B alleli için 0.6300 olarak tespit etmişlerdir. İncelenen süt verim özellikleri üzerine, her iki lokusa ait genotiplerin ayrı ayrı etkilerinin önemli olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, kappa-kazein ve β -laktoglobulin genotiplerine ait bilgilerin sığırlarda seleksiyon programlarında kullanılmasıyla, süt verim özelliklerinin ıslahına katkı sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

Tsiaras vd (2005), kappa-kazein ve β -laktoglobulin lokuslarının süt üretim özellikleri üzerindeki etkilerini 278 adet Siyah Alaca sığırında incelemişlerdir. Poliakrilamid jel elektroforez yöntemi kullanılarak belirlenen kappa-kazein genotiplerinin, protein verimi ve yüzdesini önemli oranda etkilediğini bildirmişlerdir. Kappa-kazein AB genotipine sahip ineklerin sütündeki protein oranının, AA genotipine sahip olanlardan daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca, kappa-kazein AB genotipine sahip hayvanların süt ve yağ verimlerinde artış görülmüştür. β -laktoglobulin lokusunda ise AB genotipine sahip ineklerin AA ve BB genotipine sahip ineklerden daha fazla süt verimine sahip oldukları bildirilmiştir. β -laktoglobulin AB ve BB genotipine sahip ineklerin yağ veriminin AA genotipine sahip olanlardan önemli düzeyde yüksek olduğu, buna bağlı olarak, B allelinin sütteki yağ verimi bakımından yüksek bir etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır. β -laktoglobulin B allelinin protein verimi ve protein yüzdesine etkisinin olabileceği düşünülmesine rağmen, bu lokus ile verim özellikleri arasında önemli bir ilişki tespit edilmediği bildirilmiştir.

Patel vd (2007), 256 Siyah Alaca melezi ve 112 Jersey melezinde, süt üretim özelliklerinden sorumlu olan kappa-kazein ve β -laktoglobulin genlerinin allel frekanslarını PCR-RFLP yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Kappa-kazein gen bölgesine ait 350 bp uzunluğundaki fragmentin, *HinfI* restriksiyon enzimi ile muamelesi sonucunda A ve B olmak üzere 2 tip allel, AA, AB ve BB olmak üzere de 3 tip genotip elde edilmiştir. β -laktoglobulin gen bölgesine ait 247 bp uzunluğunda fragmentin, *HaeIII* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda ise A ve B olmak üzere 2 tip allel ve AA, AB ve BB olmak üzere de 3 tip genotip tespit edilmiştir. Kappa-kazein geni A allel frekansının (0.6600) B allel frekansından (0.3400) daha yüksek oranda bulunduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan, β -laktoglobulinin B allel frekansı (0.7200) A allel frekansından (0.2700) çok daha yüksek oranda tespit edildiği bildirilmiştir.

Matejcek vd (2007), 120 Çek Simental boğasında süt üretim parametrelerinin damızlık değerleri üzerine kappa-kazein ve β -laktoglobulin genotiplerinin ortak etkilerini incelemişlerdir. En yaygınları ABAB (% 0.25), ABAA (% 13.3) ve ABBA (% 13.3) genotipleri olmak üzere, toplamda 10 genotip kombinasyonu tespit edilmiştir. Yağ ve protein içeriği bakımından genotip kombinasyonlarının, damızlık değer üzerindeki etkilerinin önemli olduğu bulunmuştur. Süt (+ 621kg) ve protein (+ 15.8kg) verimi için en yüksek damızlık değere, ABAA genotip kombinasyonuna sahip hayvanlarda rastlanmıştır. Protein (+% 0.15) ve yağ (+% 0.55) içeriği bakımından ise en yüksek damızlık değere, BBAB genotip kombinasyonuna sahip hayvanlarda rastlandığı bildirilmiştir.

Ahmadi vd (2008), PCR-RFLP tekniğini kullanarak İran Siyah Alaca populasyonunda kappa-kazein ve β -laktoglobulin gen polimorfizmlerini ve elde edilen genotipler ile süt özellikleri arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak elde edilen kappa-kazein geni *HinfI* polimorfizmi sonucunda, A allel frekansı 0.8100 ve B allel frekansı 0.1900 hesaplanırken, β -laktoglobulin geni *HaeIII* polimorfizmi sonucunda ise A allel frekansı 0.5700 ve B allel frekansı 0.4300 olarak hesaplanmıştır. Kappa-kazein AA genotipi ile süt verimi arasında pozitif yönde bir ilişki bulunurken, protein yüzdesi ile negatif yönde bir ilişki tespit edilmiştir. Öte yandan, kappa-kazein lokusu ile yağ yüzdesi ve somatik hücre sayısı arasındaki ilişkinin istatistikî olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir. β -laktoglobulin lokusu incelendiğinde ise, diğer genotiplerle kıyasla BB genotipi ile protein yüzdesi arasında güçlü bir ilişki olduğunu tespit edilmiştir. Diğer yandan β -laktoglobulin lokusu ile süt verimi, yağ yüzdesi ve somatik hücre sayısı arasında istatistikî olarak önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır.

108 Romanya Simentali ve 60 Siyah Alaca sığırında Iliel vd (2010), kappa-kazein ve β -laktoglobulin geninin *HindIII* polimorfizmini araştırmışlardır. RFLP yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada, kappa-kazein geni için Simental (0.7610) ve Siyah Alaca (0.8420) sığırlarında A alleli oldukça yüksek bulunurken, β -laktoglobulin geni A ve B allelleri her iki ırkta da birbirine yakın değerlerde bulunmuştur (Simental; A:0.4710 ve B:0.5290, Siyah Alaca; A: 0.4730 ve B: 0.5270). Sonuç olarak, kappa-kazein ve β -laktoglobulin allel polimorfizmlerinin, sığır yetiştiriciliğinde süt üretim özelliklerinin iyileştirilmesine katkıda bulunmak amacıyla yapılan seleksiyon programlarında, genetik marker olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir.

Gürcan (2011), Türkiye’de yetiştirilen Siyah Alaca sığır ırklarında, β -laktoglobulin, α_{s1} -kazein, β -kazein ve kappa-kazein polimorfizmlerini ve bu lokuslar ile süt üretim özellikleri arasındaki ilişkileri nişasta jel elektroforez tekniği kullanarak incelemiştir. Yapılan analizler sonrasında, kappa-kazein geni A allel frekansı 0.6800 ve B allel frekansı ise 0.3200 olarak hesaplanmıştır. β -laktoglobulin geni için ise, A allel frekansı 0.5500 ve B allel frekansı ise 0.4500 olarak bulunmuştur. Hardy-Weinberg dengesinde olan bu popülasyonda, elde edilen verimler ile genotipler birlikte incelendiğinde, kappa-kazein süt proteini açısından en yüksek süt verimine BB genotipinde ve en düşük süt üretimine AB genotipinde rastlanmıştır. Ancak çalışmada, gerek kappa-kazein ve gerekse β -laktoglobulin gen polimorfizminin süt üretim özellikleri üzerindeki etkisi istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur.

Ren vd (2011), Çin’de yetiştirilen Siyah Alaca, Jersey ve mandalardan oluşan toplam 203 örnekte, kappa-kazein ve β -laktoglobulin genlerinin polimorfizmini araştırmışlardır. Kappa-kazein geni için, Siyah Alaca ineklerinde A allel frekansının (0.6900) B allel frekansına (0.3100) kıyasla daha yüksek oranlarda olduğunu belirlemişlerdir. Aksine, Jersey ırkında B allel frekansı (0.8800) A allel frekansına (0.1200) kıyasla çok daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Mandalarda, her iki kappa-kazein ve β -laktoglobulin geni bakımından mevcut popülasyonda sadece B alleli tespit edilmiştir. Siyah Alaca ve Jersey ineklerinde ise her iki ırkta da, β -laktoglobulin geninin B alleli (0.6800) A allele (0.3200) kıyasla aynı oranda yüksek bulunmuştur.

Türkiye yerli sığır ırklarından Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara, Güneydoğu Anadolu Kırmızısı ve Türkiye’de yetiştirilen Siyah Alaca ve Siyah Alaca aday boğaları üzerinde Dinç vd (2013) yaptıkları çalışmada, kappa-kazein ve β -laktoglobulin polimorfizmleri incelenmiştir. PCR-RFLP yöntemi kullanarak yapılan kappa-kazein geni *HinfI* polimorfizmi sonuçlarına bakıldığında, tüm ırklar genelinde kappa-kazein A alleli (0.6548-0.8061) B allele (0.1481-0.1939) kıyasla daha yüksek frekanslarda bulunmuştur. β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi sonucunda ise B allel frekansı Doğu Anadolu Kırmızısı (0.7805), Yerli Kara (0.6071) ve Güney Anadolu Kırmızısı (0.8125) ırklarında oldukça yüksek bulunurken, A ve B allel frekansları Boz ırk (0.5213 ve 0.4787), Türkiye’de yetiştirilen Siyah Alaca (0.4694 ve 0.5306) ve Siyah Alaca Aday boğalarında (0.5455 ve 0.4545) birbirine yakın değerlerde bulunmuştur.

Mohammadi vd (2013), PCR-RFLP yöntemi kullanarak İran Siyah Alaca sığırlarının süt protein özellikleri ile kappa-kazein, β -laktoglobulin ve leptin genlerinin allel polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Toplam 139 hayvanda kappa-kazein için AA genotip frekansı 0.7200, AB genotip frekansı 0.1800 ve BB genotip frekansı 0.1000 olarak belirlenmiştir. β -laktoglobulin için ise AA genotip frekansı 0.4300, AB genotip frekansı 0.2800 ve BB genotip frekansı 0.2900 olarak belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, süt üretimi ve süt protein yüzdesi ile kappa-kazein geninin AA ve BB genotipleri arasında önemli bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, β -laktoglobulin geninin BB genotipi ile süt üretimi ve süt protein yüzdesi arasında önemli düzeyde ilişkili olduğunu bildirilmiştir.

Meksika Jersey sığırında Batista vd (2015), kappa-kazein, β -kazein ve β -laktoglobulin geninin allel ve genotip frekanslarını araştırmışlardır. SNP primerleri kullanılarak yapılan çalışmada, kappa-kazein B allel frekansının (0.6900) A (0.2600) ve

E allel frekansından (0.0500) daha yüksek olduğu bulunmuştur. β -laktoglobulin geninin allel frekansları kıyaslandığında ise B allelinin (0.7200), A (0.2600) ve C (0.0200) allellerinden daha yüksek frekanslarda tespit edildiği bildirilmiştir.

Prolaktin geninin *RsaI* restriksiyon enzimi ile tanımlanan polimorfik yapısı, sığır populasyonlarının genetik karakterizasyonu için genetik marker olarak birçok çalışmada kullanılmıştır.

Dybus vd (2005) Siyah Alaca ve Jersey ineklerinde, prolaktin geninin 3. ekzonunda ortaya çıkan *RsaI* polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Siyah Alaca ırkı için genotip frekansları, AA; 0.7110, AB; 0.2850 ve BB; 0.0040 olarak bulunurken, Jersey ırkı için, AA 0.0919, AB 0.4324 ve BB 0.4757 olarak hesaplanmıştır. Siyah alacalar için A allel frekansı 0.8533 ve B allel allel frekansı 0.1467 olarak, Jerseyler için ise A allel frekansı 0.3081 ve B allel ferekansı 0.6919 olarak bulunmuştur. Yapılan analizler sonucunda, Siyah Alaca ve Jersey ırkı ineklerin süt verimleri ile prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi arasında istatistiki olarak önemli bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir.

Khatami vd (2005), Rus ve Alman Siyah Alacalar ile Yaroslavl ırkı sığırlarda, prolaktin geninin *RsaI* ve büyüme hormonu geninin *MspI* ve *AluI* polimorfik yapılarını, PCR-RFLP metodu kullanarak belirlemişlerdir. Prolaktin geni için, Rus Siyah Alacalarda heterozigotluk (AB: % 9.4) çok düşük oranlarda bulunmuştur. Diğer yandan, AA genotip frekansı 0.9060 olarak hesaplanırken, BB genotipine ise rastlanmadığı belirtilmiştir. Alman Siyah Alacalarda AA genotip frekansı 0.3750, BB genotip frekansı 0.1560 ve AB genotip frekansı 0.4600 olarak hesaplanmıştır. Yaroslavl ırkında ise, AA genotip frekansı 0.4330, BB genotip frekansı 0.1340 ve AB genotip frekansı ise 0.4300 olarak bulunmuştur.

Çin’de yetiştirilen 263 Siyah Alaca ineğinde Li vd (2006), PCR-SSCP ve PCR-RFLP metodu kullanarak prolaktin lokusuna ait *XbaI* polimorfizmini ve bu polimorfizmin süt üretim özellikleri ile ilişkisini araştırdıkları çalışmada, 263 ineğin sadece 2’sinde AA genotipine rastlamışlardır. RFLP lokusunun 2. - 5. laktasyonları boyunca, süt verimi, protein verimi ve yağ verimi üzerine etkisinin önemli olmadığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, 1. laktasyonda bu lokusun süt proteini ve yağ verimi üzerinde önemli derecede etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. BB genotipli ineklerin süt proteini ve yağ veriminin AB genotipli ineklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Sodhi vd (2011), 23 Hindistan yerli sığır ırkında prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmini PCR-RFLP yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan ırkların coğrafik bölge, yararlanma alanı ve kıl rengine bakılmaksızın, AB genotipinin (ortalama frekans 0.58) diğer genotiplere kıyasla daha yüksek frekansa sahip olduğu tespit edilmiştir. Bütün ırklarda, AA genotip frekansı ortalama 0.2200 ve BB genotip frekansı ortalama 0.2000 olarak hemen hemen aynı oranlarda bulunmuştur. Irklara ait allel frekansları ise, A alleli için ortalama 0.5200 ve B alleli için ortalama 0.4800 olarak birbirine yakın değerlerde hesaplanmıştır.

Ghasemi vd (2009), Montebeliard ineklerine ait prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi ile süt üretim özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. PCR-RFLP metodu kullanarak, AA (0.8100), AB (0.1500) ve BB (0.0400) genotip frekanslarını hesaplamışlardır. Araştırmada, A allel frekansı 0.8900 ve B allel frekansı ise 0.1100 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, AA genotipine sahip olan ineklerin süt üretiminin diğerlerine kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Düşük süt üretimine sahip Romanya Gri Steppe sığır ırkında Carsai vd (2011), prolaktin geni *RsaI* polimorfizmi araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, AA genotip frekansı 0.5710 ve AB genotip frekansı 0.4290 olarak tespit edilirken, mevcut hayvanlarda BB genotipine rastlanmamıştır. Araştırmacılar, A allel frekansını 0.7860 ve B allel frekansını ise 0.2140 olarak hesaplamışlardır.

Alfonso vd (2012), Amerikan Esmer sığır ırkına ait 417 örnekte yaptıkları çalışmada, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi ile süt üretimi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. PCR-RFLP yöntemi aracılığıyla A (0.8765) ve B (0.1235) allelleri tespit edilmiştir. AA genotip frekansı 0.7760, AB genotip frekansı 0.1740 ve BB genotip frekansı ise 0.0260 olarak hesaplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda, AA genotipine sahip ineklerde laktasyon boyunca süt üretimi, AB ve BB genotipli ineklerden daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca araştırmacılar, prolaktin polimorfizminin tanımlanması ile seleksiyonunda daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Mahajan vd (2012), Frieswal (5/8 Siyah Alaca ve 3/8 Sahiwal) sığır ırkında prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmini ve bu polimorfizmi ile süt üretim özellikleri arasındaki ilişkiyi PCR-RFLP yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Toplam 54 hayvan kullanılarak yapılan bu çalışmada, A allel frekansı 0.6300 ve B allel frekansı 0.3700 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada, BB genotipine sahip hayvanların daha uzun laktasyon süresine sahip oldukları, buna karşın AB genotipine sahip olanların ise daha yüksek laktasyon verimine sahip oldukları belirlenmiştir. Ancak genotip farklılıklarının laktasyon uzunluğuna ve laktasyon verimine etkisi istatistikî açıdan önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte, AA genotipli hayvanların diğerlerine kıyasla daha kısa servis periyoduna sahip olduğunu ve genotipler arasındaki bu farklılığın istatistikî açıdan önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Uddin vd (2013), Pakistan yerli sığır ırkları (Sahiwal, Dhani, Red Sindhi) ve Siyah Alaca ırkına ait 100 hayvanda prolaktin geni polimorfizmini ve süt üretim özellikleri ile ilişkilerini SNP'ler aracılığıyla incelemişlerdir. Bu çalışmadaki sığır ırklarında, süt üretim özellikleri ile kullanılan SNP'ler arasında bir ilişki bulunamamıştır. Buna karşın, bazı sığır ırklarında çalışılabilecek etkili DNA markerlerinin olduğu, bunların marker destekli seleksiyon programlarının uygulanmasında kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Kaplan ve Boztepe (2010), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yetiştirilen Anadolu Mandaları ve Esmer ırkında prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmini belirlemişlerdir. Mandalarda, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan prolaktin lokusuna ait *RsaI* polimorfizmi, monomorfik olarak belirlenmiştir. Diğer yandan Esmer ırkı sığırlarda prolaktin BB genotipine hiç rastlanmazken AA genotip frekansı 0.6300 ve AB genotip frekansı 0.3700 olarak bulunmuştur. Ayrıca, Hardy Weinberg dengesinde olan Esmer

sığır populasyonunda A alleli (0.8200) B alleline (0.1800) kıyasla oldukça yüksek frekansta tespit edilmiştir.

Alipanah vd (2008), Rusya'da yetiştirilen Siyah Alaca ve Kırmızı Alaca sığırlarında, kappa-kazein ve prolaktin gen polimorfizmini araştırmışlardır. Kappa-kazein geninin *HindIII* polimorfizmi sonucunda, A allel frekansı, Siyah Alaca için 0.8300 ve Kırmızı Alaca için 0.6900 iken B allel frekansı ise sırasıyla 0.1700 ve 0.3100 olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada, kappa-kazein BB genotipli ineklerin sütü diğer genotipteki ineklerin sütü ile kıyaslandığında, daha yüksek yağ (Siyah Alaca için + % 0.37 ve Kırmızı Alaca için + % 0.49) ve protein yüzdesine (Siyah Alaca için + % 0.19 ve Kırmızı Alaca için + % 0.19) sahip olduğu ortaya konmuştur. Prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi bakımından gerek Siyah Alaca gerekse Kırmızı Alaca sığırları incelendiğinde, A allel frekansının (sırasıyla; 0.7100, 0.7940), B allel frekansından (sırasıyla; 0.2900, 0.2060) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu polimorfizm ile süt verimi ve yağ yüzdesi arasında önemli bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Siyah Alaca sığırlarda, özellikle BB genotipine sahip olan ineklerin sütünün diğerlerine kıyasla daha yüksek oranda yağ içerdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, AB genotipine sahip ineklerin süt verimlerinin AA ve BB genotipine sahip ineklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Akyüz vd (2012), PCR-RFLP metodu kullanarak kappa-kazein, büyüme hormonu ve prolaktin gen polimorfizmini Türkiye yerli ırkları (Boz ırk, DAK, GAK, Esmer, Yerli kara, Siyah Alaca) üzerinde incelemişlerdir. Kappa-kazein gen bölgesinin *HindIII* polimorfizmi sonucunda, A allelini, Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızısı, Güney Anadolu Kırmızısı ve Türkiye'de yetiştirilen Siyah Alaca ırklarında sırasıyla, 0.6280, 0.7610, 0.7380 ve 0.8410 olmak üzere, B alleline kıyasla daha yüksek frekanslarda tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, Yerli kara (A:0.5230; B:0.4470) ve Esmer (A:0.4430; B:0.5570) ırklarında ise, kappa-kazein geni allel frekansları birbirine yakın değerlerde bulunmuştur. Prolaktin gen bölgesindeki *RsaI* polimorfizmi incelendiğinde, benzer şekilde A allelinin, Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızısı, Güney Anadolu Kırmızısı, Esmer ve Siyah Alaca sığır ırklarında sırasıyla, 0.7620, 0.6980, 0.7630, 0.7330 ve 0.8610 olmak üzere B allel frekansına kıyasla oldukça yüksek oranlarda olduğu bildirilmiştir.

Akyüz ve Çınar (2014), Türkiye'de yetiştirilen dört sığır ırkında (GAK, Zavot, Esmer ve Simental) kappa-kazein ve prolaktin genlerinin allel ve genotip frekanslarını PCR-RFLP yöntemi kullanarak tanımlamışlardır. Kappa-kazein geni *HinfI* polimorfizmi ile elde edilen en yüksek frekans, kappa-kazein A alleli için GAK sığır ırkında 0.7430 olarak ve kappa-kazein B alleli için Esmer ırkı sığırlarda 0.5560 olarak hesaplanmıştır. Prolaktin lokusunda ise, en yüksek frekans A alleli için Simental sığırlarında 0.8010 olarak ve B alleli için ise Esmer ırkı sığırlarda 0.3150 olarak bulunmuştur.

Hindistan'ın Frieswal (Siyah Alaca x Sahiwal) ineklerinde Singh vd (2015) tarafından, prolaktin ve β -laktoglobulin gen polimorfizimleri ile süt üretim özellikleri ve somatik hücre sayısı arasındaki ilişki araştırılmıştır. PCR-RFLP tekniği kullanılarak elde edilen sonuçlarda, prolaktin geni A allel frekansı 0.7500 ve B allel frekansı 0.2500 olarak bulunmuştur. β -laktoglobulin geni için ise, A allel frekansı 0.3810 ve B allel frekansı 0.6190 olarak hesaplanmıştır. Prolaktin AA genotipine sahip hayvanların,

Siyah Alaca melezlerinin süt verim özellikleri bakımından seleksiyonunda uygun olabileceği sonucuna varmışlardır. β -laktoglobulin lokusunda ise, AB ve BB genotiplerinin toplam süt verimi ve pik verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, prolaktin BB genotipine sahip hayvanların AB ve AA genotiplerine kıyasla, önemli derecede düşük somatik hücre sayısına sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Diğer yandan, β -laktoglobulin AA genotipli ineklerin somatik hücre sayısı diğer genotiplilere göre daha düşük olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç ile araştırmacılar, β -laktoglobulin AA genotipine sahip hayvanların mastitise toleranslı bireylerin seçiminde tercih edilebileceğini bildirmişlerdir.

DGAT1 geni K232A polimorfizmi, süt verimi ve kompozisyonu için QTL çalışmalarında kullanılmaktadır. DGAT1 geninin lisin kodlayan K allele sahip hayvanların sütünde, özellikle yağ veriminin yüksek olduğu, ancak protein ve süt veriminin düşük olduğu önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Spelman vd 2002, Thaller vd 2003, Hori-Oshima ve Barreras-Serrano 2003, Komisarek vd 2004, Pareek vd 2005, Nowacka-Wozzuk vd 2008, Barbosa da Silva vd 2010, Cerit vd 2014, Pirzad vd 2014).

Spelman vd (2002), Yeni Zelanda'da yetiştirilen bazı sığır ırklarında (Jersey, Siyah Alaca ve Ayrshires), DGAT1 gen polimorfizmi ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkileri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelemişlerdir. K ve A allel frekanslarını sırasıyla, Jersey ırkı sığırlar için 0.8800 ve 0.1200, Siyah Alaca için 0.6000 ve 0.4000, Ayrshires için ise 0.2200 ve 0.7800 olarak hesaplamışlardır. Üzerinde çalışılan tüm ırklarda, DGAT1 polimorfizmi ile süt, protein ve yağ verimi arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak önemli olduğu ifade edilmiştir. Siyah Alaca sığırlarında, K allelinin yağ verimine (+ 11.83 kg) etkisinin pozitif yönde, protein (- 4.80 kg) ve süt (- 266 kg) verimine etkisinin ise negatif yönde olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, bütün ırklarda, DGAT1 polimorfizminin, sütün yağ veriminin artması ile buna karşın süt ve protein veriminin azalması ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Winter vd (2002), 3 farklı ırkta (Holstein-Friesian, Simental ve Braunvieh) sütün yağ içeriğine göre elde edilen yüksek ve düşük damızlık değerlere göre oluşturulan gruplarda DGAT1 genine ait lisin-232/alanin polimorfizmini araştırmışlardır. Varyantlar arasında, yüksek süt yağı içeriği ile ilişkili olan lisin kodlayan allel ile lisinin alanine (K232A) ikamesi olduğunu ve haplotip analizler ile lisin varyantının atasal olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, Simental ırkı sığırlarda, lisin varyantının süt yağı içeriğine pozitif etkisi doğrulanmıştır. Araştırmacılar yapılan bu çalışmayla, K232A değişiminin QTL varyasyonunda doğrudan sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir.

Hori-Oshima ve Barreras-Serrano (2003) tarafından, Baja Kaliforniya'daki 196 adet Siyah Alaca ineğinde DGAT1 ve büyüme hormonu regülatör geni olan Pit-1 gen polimorfizimleri ve süt verimi arasındaki ilişkileri araştırılmıştır. PCR-RFLP metodu kullanarak yapılan çalışmada, DGAT1 için genotip frekansları AA; 0.6610, AK; 0.3180 ve KK için 0.0210 olarak hesaplanmıştır. A allelinin frekansı 0.1800 olarak bulunurken, K alleli 0.8200 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizlerde, DGAT1'deki K allelinin etkisine bağlı olarak, DGAT1 ve Pit-1 arasındaki interaksiyonun süt verimi üzerinde pozitif yönde önemli bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir.

Thaller vd (2003), 833 adet Simental ve 858 adet Alman Siyah Alaca sığırında DGAT1 genindeki K232A değişiminin süt verim özelliklerine etkisini incelemiştir. Lisin kodlayan varyantın (K alleli) allel frekansı, Simental sığır ırkı için 0.0720 ve Alman Siyah Alaca sığır ırkı için 0.5480 olarak hesaplanmıştır. DGAT1 varyantlarının süt verim özelliklerine etkileri incelendiğinde, lisin kodlayan varyantın yağ içeriği bakımından etkisi Simental sığırlarında % 0.35, Alman Siyah Alaca sığırlarında % 0.28 olarak, protein içeriği bakımından etkisi ise, Simental sığırlarında % 0.10 ve Alman Siyah Alaca sığırlarında % 0.06 olarak hesaplanmıştır. Yapılan analizler sonrasında, DGAT1 genindeki değişimin, süt verimi ve içerik özellikleri arasındaki negatif korelasyona katkıda bulunduğu bildirilmiştir.

Kaupe vd (2004), 13 farklı ülkeden içerisinde etçi ırkların da bulunduğu 38 farklı sığır ırkına ait toplam 1748 kan örneği üzerinde DGAT1 polimorfizmini araştırmışlardır. Bu çalışmaya dahil edilen yerli ırklarımızın DGAT1 A allel frekansları sırasıyla, Yerli Kara için 0.6200 (N=73), Doğu Anadolu Kırmızısı için 0.7500 (N=50), Güney Anadolu Kırmızısı için 0.7900 (N=48) ve Boz ırk için 0.6400 (N=49) olarak hesaplanmıştır. 79 Alman Siyah Alaca ırkında ise, K ve A allel frekansları sırasıyla 0.4200 ve 0.5800 olarak tespit edilmiştir. DGAT1 geninin K232A polimorfizmini karakterize etmek amacıyla yapılan bu çalışmada, etçi ırkların daha yüksek oranda A allel frekansına sahip oldukları, sütçü ırklarda ise ilgili allel frekansının düşük olduğunu gözlemişlerdir.

Komisarek vd (2004), sığırlarda DGAT1 genindeki K232A polimorfizmini ve lisin (K) ile alanin (A) kodlayan varyantların süt verimi ve kompozisyonuna etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma kapsamında, toplam 100 adet Jersey ineğinde PCR-RFLP tekniği kullanarak DGAT1 gen frekanslarını, K alleli için 0.8300 ve A alleli için 0.1700 olarak hesaplamışlardır. Sonuçlara göre, K alleli, yağ ve protein içeriğinin yanı sıra yüksek süt yağı verimi ile de ilişkili bulunurken, A alleli süt veriminin artışı ile ilişkili bulunmuştur.

Pareek vd (2005), DGAT1 genini Polonya'da yetiştirilen Siyah Alaca sığırlarında (105 AI; artificially inseminate-yapay tohumlama, 139 genç boğa ve 213 inek) incelemiştir. Çalışmada, K allelinin frekansını, AI için 0.6000, genç boğalar için 0.6800 ve inekler için ise 0.4800 olarak hesaplamışlardır. Araştırma sonuçlarında, DGAT1 geninin K232A polimorfizminin, düşük yağ içeriği ve yüksek protein içeriği üzerinde istatistiki olarak önemli bir etkisi olduğu ortaya konmuştur.

Brezilya sığır ırklarında Lacorte vd (2006) tarafından, DGAT1 geninin K232A polimorfizmi araştırılmıştır. 6 farklı ırka ait toplam 331 hayvanda (Gyr, Guzerat, Nellore, Red Sindhi, Siyah Alaca ve GyrXSiyah Alaca F1) yapılan analizler sonrasında, sürülerde belirli boğaların yoğun kullanımının sonucu olarak Siyah Alaca ve GyrXSiyah Alaca F1 ırklarında Hardy-Weinberg dengesinden sapma görüldüğü belirtilmiştir. Çalışmada Siyah Alaca ırkında A allel frekansı (0.7300) K alleleline (0.2700) kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan Guzerat ve Nellore ırklarında A alleleline rastlanmamakla birlikte, diğer ırklarda K allel frekansları oldukça yüksek oranlarda hesaplanmıştır (0.9600-1.0000). Yapılan analizler sonucunda, A allelinin süt verimi ile ilişkili olduğu göz önünde bulundurularak, çalışmada kullanılan Siyah Alaca

populasyonunun süt üretimi bakımından yoğun bir seleksiyona tabi tutulduğu ifade edilmiştir.

Nowacka-Woszuik vd (2008), DGAT1 genine ait polimorfizmin, 89 Polonya Siyah Alaca boğasının damızlık değerine etkisini incelemişlerdir. PCR-RFLP metodu uygulanarak yapılan bu çalışmada, K alleli frekansı 0.5400 ve A alleli frekansı ise 0.4600 olarak bulunmuştur. KK genotipinin AA ve KA genotipleri ile karşılaştırıldığında, sütün yağ ve protein yüzdesi bakımından yüksek damızlık değer ile süt ve protein verimleri bakımından ise düşük damızlık değer ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir.

Barbosa da Silva vd (2010), birçok bölgeden topladıkları 3082 adet Kuzey Amerika Siyah Alaca sığırında DGAT1 mutasyonunun allelik varyasyonunu incelemişlerdir. Bu değişimin, süt üretim özellikleri ve somatik hücre sayısı üzerindeki etkileri istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada K alleli frekansı 0.4000 ve A allel frekansı ise 0.6000 olarak hesaplanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, yağ ve protein verimi arasındaki güçlü antagonist ilişki dolayısıyla, bu özelliklerin ekonomik indekslere olan etkisi göz önünde bulundurulduğunda, DGAT1 genotipi bakımından seleksiyonun Amerika'da yaygın bir uygulama alanı bulamayacağı ön görülmüştür.

Scotti vd (2010) tarafından, İtalya'da yetiştirilen Siyah Alaca, Esmer ve Simental ırkları ile Valdostana Red Pied, Rendena, Reggiana ve Modenese yerli ırklarda, DGAT1 polimorfizmi araştırılmıştır. Toplam 651 hayvanda PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışma sonucunda, A allelinin bütün ırklarda çok yüksek frekansta olduğu (0.7460-1.000) saptanmıştır. K allel frekansı, Siyah Alaca için 0.2540 ve Reggiana için 0.1720 olarak belirlenirken, bazılarında görülmemekle birlikte diğer ırklarda oldukça düşük frekanslara sahip olduğu (0.000-0.0080) bildirilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, DGAT1 gen polimorfizminin sadece Siyah Alaca ve Reggiana için MAS çalışmalarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

İran'da yetiştirilen Siyah Alaca ırkına ait boğalarda Mashhadi vd (2012) tarafından, marker destekli seleksiyon için potansiyel bir QTL olarak görülen DGAT1 K232A polimorfizmi araştırılmıştır. 103 boğada RFLP yöntemi aracılığıyla yapılan bu çalışmada, K allel frekansı 0.7961 ve A allel frekansı 0.2039 olarak hesaplanmıştır. Genotip frekansları ise KK için 0.5900 ve KA için 0.4100 olarak hesaplanırken bu çalışmadaki boğalarda AA genotipine rastlanmamıştır. Populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı ve allel frekansları göz önünde tutulduğunda, mevcut populasyonun süt yağı yüzdesi bakımından seleksiyona tabi tutulduğu sonucuna varmışlardır.

Özgül ve İlhan (2012) tarafından, 3 yerli Anadolu mandası populasyonuna ait toplam 41 hayvanda, DGAT1 geninin K232A polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan 24 restriksiyon enziminin 14'ü (*AluI*, *AvaI*, *AvaII*, *BamHI*, *BglII*, *Bsp1286I*, *BstUI*, *HincII*, *HhaI*, *HphI*, *SacI*, *Sau3AI*, *Sau96I* ve *StyI*) bu gen üzerinde tanıma bölgesine sahip olduğu tespit edilmiştir. *AluI*, *HincII* ve *HphI* restriksiyon enzimleri ile polimorfizmin varlığı bildirilmiştir. *CfrI* restriksiyon enzimi ile yapılan kesim sonucunda sığır ırklarında tespit edilen K232A polimorfizmi,

Anadolu mandasında tespit edilememiş ve sadece lisin varyantının tespit edilmesiyle mevcut populasyonun monomorf olduğu bildirilmiştir.

Pirzad vd (2014), İran'da yetiştirilen Siyah Alaca ineklerinde süt verim özellikleri ve somatik hücre sayısı ile DGAT1 K232A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. PCR-RFLP metodu kullanılarak yapılan bu çalışmada, A allel frekansı 0.6300 ve K allel frekansı 0.3700 olarak tespit edilmiştir. AA, KA ve KK genotip frekansları ise sırasıyla 0.3578, 0.5515 ve 0.0907 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, DGAT1 K232A polimorfizmi ile sütün yağ yüzdesi arasında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir. KK ve KA genotipine sahip ineklerin AA genotiplilere kıyasla, daha yüksek yağ yüzdesi ve daha düşük süt verimine sahip oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, KK ve KA genotipli Siyah Alaca ineklerinin K alleline sahip olmasına bağlı olarak, yağ yüzdesi lehine seleksiyon çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Bal ve Akyüz (2014), Siyah Alaca (100 örnek), Doğu Anadolu Kırmızısı (50 örnek) ve Yerli Kara (50 örnek) sığır ırklarında PCR-RFLP yöntemi kullanarak DGAT1 gen polimorfizmini incelemişlerdir. Bütün ırklarda belirlenen KK, KA ve AA genotip frekansları sırasıyla, Siyah Alaca için 0.1300, 0.2400 ve 0.6300, Doğu Anadolu Kırmızısı için 0.0600, 0.6400 ve 0.3000, Yerli Kara için ise 0.1600, 0.7000 ve 0.1400 olarak hesaplanmıştır. İncelenen ırklarda, DGAT1 geni için en yüksek A alleli frekansını Siyah Alaca ırkında (0.7500), en yüksek K alleli frekansını ise Yerli Kara ırkında (0.5100) tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, Hardy-Weinberg dengesinden sapma görülen bu çalışmada, örnek sayısının artırıldığında daha doğru sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir.

Cerit vd (2014), Siyah Alaca (54 örnek) ve Esmer (44 örnek) sığır ırklarında DGAT1 K232A polimorfizmini araştırmışlardır. Çalışmada, Siyah Alaca sığırlarında DGAT1 geninin K allel frekansı 0.2870 ve A allel frekansı ise 0.7130 olarak, Esmer sığırlarında ise K allel frekansı 0.0910 ve A allel frekansı 0.9090 olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Kepenek (2007), dört yerli Türk sığır ırkında (Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara ve Bozırk) ve damızlık olarak kullanılan Siyah Alaca sığırlarında, prolaktin, DGAT1 genlerini ve sığırlarda görülen genetik resesif bir hastalığa (Kompleks Vertebral Malformasyon) neden olan SLC35A3 genini incelemiştir. PRL geninin A allelinin frekansı en düşük Yerli Kara ırkında 0.5645 olarak ve en yüksek Güney Anadolu Kırmızısı ırkında 0.7558 olarak bulunmuştur. DGAT1 geninin K allelinin frekansı 0.7794 (Doğu Anadolu Kırmızısı) ve 0.9250 (Yerli Kara) aralığında bulunurken SLC35A3 geni monomorfik olduğu gözlenmiştir. PRL A alleli ile süt üretimi arasında ve DGAT1 K alleli ile süt yağı miktarı arasında zayıf bir bağlantı olduğunu belirlemişlerdir.

Ünal vd (2015), 4 Türkiye yerli sığır ırkında (Güney Anadolu Kırmızısı, Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara) büyüme hormonu, prolaktin ve DGAT1 gen polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada, prolaktin geni bakımından Boz ırk ve Doğu Anadolu Kırmızısı sığır ırklarında BB genotipine hiç rastlamamıştır. Çalışılan bütün populasyonlarda, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi ile

oluşan A alleli (0.5240-0.7130) B alleleine (0.2870-0.4760) kıyasla daha yüksek frekanslarda tespit edilmiştir. DGAT1 geni için ise, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Güneydoğu Anadolu Kırmızısı sığır ırklarında AA genotipine rastlanmamakla birlikte, yine tüm ırklarda A alleli (0.2020-0.4170) K alleleine (0.5830-0.7980) kıyasla oldukça düşük frekanslarda tespit edilmiştir.

Rincon vd (2006), Uruguay Creole sığırlarına ait 23 adet boğa, 447 adet inek ve her iki cinsiyetten 105 adet buzağıda, kappa-kazein, β -kazein, α -S1-kazein ve α -laktoalbumin gen polimorfizmini incelemek için ARMS-PCR (amplification refractory mutation system polymerase chain reaction) yöntemini, β -laktoglobulin ve DGAT1 gen polimorfizmini incelemek için ise PCR-RFLP yöntemini kullanmışlardır. kappa-kazein ve β -laktoglobulin genlerine ait A (0.5000 ve 0.4938) ve B (0.5000 ve 0.5062) allel frekansları birbirine oldukça benzer bulunmuştur. DGAT1 geni için ise, yüksek süt verimi ve düşük süt yağı içeriği ile ilişkili olan A allel frekansı 0.8864 ve K allel frekansı 0.1136 olarak tespit edilmiştir.

3. MATERİYAL ve METOT

3.1 Materyal

Antalya çevresinde yetiştirilen, Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği'ne üye yetiştirici elinde bulunan ve birliğe üye Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Sığırcılık ünitesinde bulunan Siyah Alaca ırkından 517 ineğe ait kan örnekleri ve 432 ineğe ait süt verim kayıtları kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Kan örneklerinin alındığı işletmeler

No	Mevkii	İşletme Kodu	Örnek Sayısı
1	Konyaaltı	A- Akdeniz Üniversitesi	26
2	Döşemealtı	B- Ersan	64
3	Döşemealtı	C- Kovanlık-küçük işletmeler	59
4	Serik	G- Seba Tarım	70
5	Manavgat	H- Tüter Kardeşler	93
6	Burdur/ Tefenni	M- Yeşilbayır Hayvancılık	205

Akman ve Kumlu'nun (2004) bildirimlerine göre, birlikten elde edilen kayıtlarda, birbirini izleyen laktasyon verimi bulunan ve buzağılama aralığı 300-650 gün aralığında olan inekler analize dahil edilmiştir. Bununla birlikte buzağılama yaşı; 1. laktasyon için 22-40 ay, 2. laktasyon için 30-52 ay ve 3. laktasyon için ise 42-64 ay olan inekler değerlendirmeye alınmıştır. Analize dahil edilecek ineklere ait kayıtlarda, laktasyon süresinin 220 günden kısa olmamasına ve süt veriminin 2000 kg'dan az olmamasına dikkat edilmiştir (Akman ve Kumlu 2004).

3.1.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Hayvanlara ait kan örneklerinden DNA izolasyonu ve PCR-RFLP işlemleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Mevcut çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin tam listesi Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan araç ve gereçlerin listesi

Kullanılan Cihaz	Kullanım amacı
pH metre (Thermo ORION 3 STAR)	Tampon çözeltiler için gerekli pH'ların ayarlanmasında
Otoklav (Nüve OT 020V)	Kullanılan malzemelerin ve çözeltilerin sterilizasyonunda
Sıcak Su Banyosu (Memmert)	DNA izolasyonunda
Çalkalayıcı-Vortex (YellowLine, TTS2)	Tampon çözeltilerin hazırlanması ve DNA izolasyonunda
Santrifüj (Hettich MIKRO 200)	DNA izolasyonu ve PCR aşamalarında örneklerin santrifüj edilerek çöktürülmesi
Hassas Terazi (SHIMADZU BX320H)	Tampon çözeltilerin hazırlamada sarf malzemelerin tartılmasında
Gradient Thermal Cyclers 96 örnek (Eppendorf Mastercycler Gradient)	PCR ile hedef lokusların çoğaltılması
Yatay Agaroz Jel Elektrophorez Takımları (Thermo ve BIO-RAD)	DNA, PCR ürünleri ve RFLP bant modellerinin tespit edilmesinde
Güç Kaynakları (BIO-RAD PowerPac Basic)	Elektrophorez sisteminde elektriksel alanın oluşturulması
Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi (Kodak Gel Logic 212)	DNA, PCR ürünleri ve RFLP bant modellerinin görüntülenmesinde
Mikro Dalga Fırını (Arçelik MD 553)	Agaroz jellerin hazırlanması
Buzdolabı (Beko BK8450T) Derin Dondurucu (Beko 797DF)	Örnekler ile bazı sarf malzemelerin muhafazasında

3.2. Metot

3.2.1. Kandan DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu amacıyla kullanılan kan örnekleri, sığırların boyun toplar damarından (*vena jugularis*) doğrudan antikoagülanlı (EDTA'lı), vakumlu tüplere alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirilmiştir. Alınan kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapılana kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA eldesi için ticari olarak satılan, kandan DNA ekstraksiyon kitinden (Sigma Na2020) yararlanılmıştır. Mevcut protokol optimize edilerek yapılan DNA ekstraksiyon aşamaları aşağıdaki gibidir;

1. Ekstraksiyona başlamadan önce kullanılacak kan stokları -20°C 'den çıkartılıp çözülene kadar oda sıcaklığında ($24-25^{\circ}\text{C}$) bekletilmiştir.
2. Her bir hayvana ait stoktan alınan 200 μl kan örnekleri 1,5 ml'lik tüplere aktarılmıştır.
3. Tüplere proteinleri uzaklaştırmak amacıyla 20 μl proteinaz K solüsyonu eklenmiş ve vorteks ile iyice karıştırılmıştır.
4. RNA'yı uzaklaştırmak için tüplere 20 μl RNase A solüsyonu eklenerek karıştırılarak 2 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
5. Tüplerdeki örnekler üzerine, hücreleri parçalamak amacıyla 200 μl parçalama solüsyonu (Lysis solution C) eklenerek 15 saniye vorteks ile iyice karıştırılmıştır.
6. Mevcut tüpler su banyosunda 55°C 'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi boyunca her 5 dakikada bir tüpler alt üst edilerek karışması sağlanmıştır.
7. Kolon içeren 2 ml'lik tüplere, 500 μl kolon hazırlama solüsyonu (Column preparation solution) eklenmiş ve 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılarak tüpler kullanıma hazır hale getirilmiştir.
8. İnkübasyon sonrasında tüplerdeki kan örneklerini yıkamak amacıyla, üzerine 200 μl % 95'lik soğuk etanol eklenerek vorteks ile iyice karıştırılmıştır.
9. Yıkanan kan örnekleri, önceden hazırlanan tüplerdeki kolonlara aktarılarak 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Bu aşamada, DNA kolon içerisinde bağlı olarak kalmış ve hücresel atıklar ise sıvı kısım ile birlikte kolondan süzülerek tüpün alt kısma geçmiştir. Daha sonra DNA'nın bulunduğu bu kolon yeni bir tüp içerisine yerleştirilmiştir ve sıvı kısmın bulunduğu tüp atılmıştır.
10. Tüp içerisindeki kolon üzerine 500 μl ön yıkama solüsyonu (prewash solution) eklenerek 8300 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Bir önceki aşamada olduğu gibi, kolon yeni bir tüp içerisine alınıp atık sıvı kısmı içeren tüp atılmıştır.
11. Mevcut tüplerdeki kolon üzerine 500 μl yıkama solüsyonu (wash solution) eklenerek 13000 rpm'de 3 dakika santrifüj yapılmıştır. Tüp içindeki kolonun etanolden iyice arınması için bu aşama 2 defa tekrarlanmıştır.
12. DNA'nın bağlı olduğu kolonların üzerine 100 μl elüsyon solüsyonu (elution solution) eklenmiştir ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 8300 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Bu aşama, kolondaki DNA'nın mümkün olduğunca fazla elde edilmesi amacıyla tekrarlanmıştır ve sonuçta toplamda 200 μl DNA örneği elde edilmiştir.

DNA'nın kalitatif ve kantitatif kontrolleri % 1'lik agaroz jeller ile belirlenmiş ve örnek konsantrasyonları yaklaşık 50 ng/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.2.2. PCR-RFLP yöntemi

Kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 genleri üzerinde daha önceden yapılan polimorfizm çalışmalarında, birçok gen bölgesi kullanılmıştır (Kaupe vd. 2004, Dybus vd. 2005, Patel vd. 2007). Önceki araştırmalar incelenerek, bu genler için polimorfizm elde edebileceğimiz hedef bölgelerin çoğaltımı PCR ile sağlanmıştır. Elde edilen DNA'lar kullanılarak uygulanan PCR programında, bu gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılan primer ve enzimler Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 proteini genlerinin çoğaltılması için kullanılan primer ve enzimler

Gen Bölgesi	Primerler	Restriksiyon Enzimi	PCR Ürünü
CSN3	Kaynak: Patel vd 2007 Forward 5'-ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG-3' Reverse 5'-GCCATTTTCGCCTTCTCTGTAACAGA-3'	<i>HinfI</i>	350 bç
β -lg	Kaynak: Patel vd 2007 Forward 5'-TGTGCTGGACACCGACTACAAAAA-3' Reverse 5'-GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT-3'	<i>HaeIII</i>	247 bç
Prolaktin	Kaynak: Dybus vd 2005 Forward 5'-CGGAAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT-3' Reverse 5'-GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTC-3'	<i>RsaI</i>	156 bç
DGAT1	Kaynak: Kaupe vd 2004 Forward 5'-GCACCATCCTCTTCCTCAAG-3' Reverse 5'-GGAAGCGCTTTCGGATG-3'	<i>CfrI</i>	411 bç

3.2.2.1. Kappa- kazein

Kappa-kazein proteini geninin 5. ekzonunda bulunan 350 bç uzunluğundaki bölgenin PCR ile çoğaltılması için 50 ng genomik DNA kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı, Şekil 3.1'de verilen miktarlarda toplamda 25 μ l olacak şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen genomik DNA'lardan kappa-kazein lokusunun çoğaltılmasında Patel vd (2007) tarafından bildirilen yöntem optimize edilerek Şekil 3.2'de verilen PCR döngüsü programlanmıştır.



PCR Reaksiyon Karışımı

- 1 U Taq DNA Polimeraz
- 0.2 μ M Reverse Primer
- 0.2 μ M Forward Primer
- 10 mM dNTPs
- 25 mM MgCl₂
- 4 μ l 10 X Buffer
- 100 ng DNA

Şekil 3.1. Kappa-kazein gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı



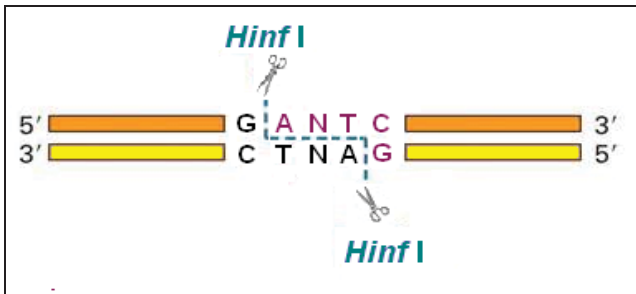
PCR Programı

- 94 °C 3 dk Başlangıç Denatürasyonu
 - 94 °C 30 sn Denatürasyon
 - 58 °C 1 dk Primerlerin Bağlanması
 - 72 °C 2 dk DNA Sentezi
 - 72 °C 10 dk Son Sentez
- } 33 tekrar

Şekil 3.2. Kappa-kazein gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı

PCR işleminin tamamlanmasından sonra istenilen bölgenin çoğaltılıp çoğaltılmadığını gözleyebilmek amacıyla agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Bunun için PCR ürünleri % 2'lik yoğunlukta hazırlanan bir jele yüklenerek, elektroforezde 100 V'ta yürütülmüştür. Daha sonra ethidium bromide ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir.

Çoğaltılan 350 bp uzunluğundaki gen bölgesi, *HinfI* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 12 saat boyunca kesime bırakılmıştır. Şekil 3.3'te verilen enzim tanıma bölgesine göre kesilen fragmentlerin elektroforetik ayrımı, % 3.5'lik agaroz jel kullanılarak 70 V'ta yapılmıştır. Elektroforez sonucu elde edilen bantlar, ethidium bromide ile muamele edildikten sonra jel görüntüleme sisteminde gözlemlenmiş ve genotipler belirlenmiştir.



Her bir örnek için;

- 10 µl PCR ürünü
- 5 µl 10X buffer R
- 5 µl dH₂O
- 0.5 µl *HinfI* enzim

Şekil 3.3. *HinfI* restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı

3.2.2.2. β-laktoglobulin

β-laktoglobulin proteini geninin 4. ekzonunda bulunan 247 bp uzunluğundaki bölgesinin PCR ile çoğaltılması için 100 ng genomik DNA kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı, Şekil 3.4'te verilen miktarlarda toplamda 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. β-laktoglobulin lokusunun çoğaltılmasında Patel vd (2007) tarafından bildirilen yöntem optimize edilerek Şekil 3.5'te verilen PCR döngüsü kullanılmıştır.



PCR Reaksiyon Karışımı

- 1 U Taq DNA Polimeraz
- 0.2 μ M Reverse Primer
- 0.2 μ M Forward Primer
- 10 mM dNTPs
- 25 mM MgCl₂
- 4 μ l 10 X Buffer
- 100 ng DNA

Şekil 3.4. β -laktoglobulin gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı

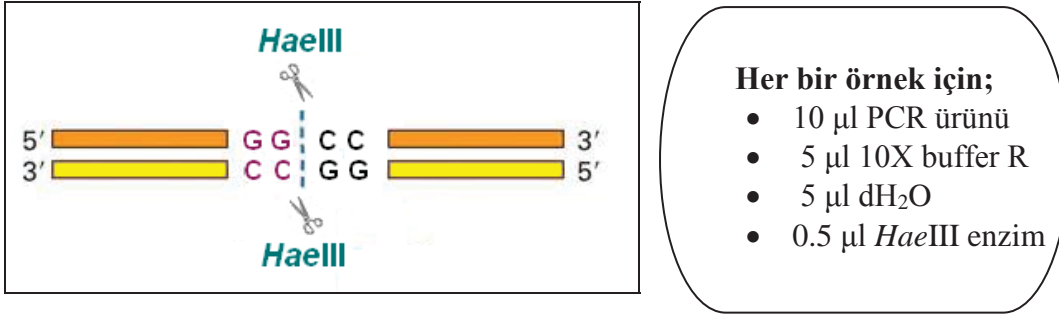
PCR Programı

- 95 °C 3 dk Başlangıç Denatürasyonu
 - 95 °C 90 sn Denatürasyon
 - 63 °C 1 dk Primerlerin Bağlanması
 - 72 °C 1 dk DNA Sentezi
 - 72 °C 10 dk Son Sentez
- } 35 tekrar

Şekil 3.5. β -laktoglobulin gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı

PCR işleminin tamamlandıktan sonra 247 bp uzunluğundaki β -laktoglobulin gen bölgesinin çoğaltılıp çoğaltılmadığını gözleyebilmek amacıyla agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri % 2'lik yoğunluğa sahip bir jele yüklenerek elektroforezde 100 V'ta yürütülmüş ve sonrasında ethidium bromide ile boyanıp UV ışığı altında görüntülenmiştir.

Çoğaltılan PCR ürünü *Hae*III restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 12 saat boyunca kesime bırakılmıştır. Şekil 3.6'da verilen enzim tanıma bölgesine göre kesilen fragmentlerin elektroforetik ayrımı için % 3.5'lik agaroz jel kullanılarak 70 V'ta yürütülmüştür. Elektroforez sonrasında elde edilen bantlar, ethidium bromide ile muamele edildikten sonra jel görüntüleme sisteminde UV ışığı altında gözlemlenmiş ve elde edilen genotipler belirlenmiştir.

Şekil 3.6. *Hae*III restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı

3.2.2.3. Prolaktin

Prolaktin proteini geninin 5. ekzonunda bulunan 156 bç uzunluğundaki bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. Reaksiyon karışımı toplamda 25 µl olacak şekilde dH₂O ile tamamlanıp Şekil 3.7'de belirtildiği gibi hazırlanmıştır. Dybus vd (2005) tarafından bildirilen yöntem optimize edilerek Şekil 3.8'de verilen PCR döngüsü kullanılmıştır.



PCR Reaksiyon Karışımı	
➤	1 U Taq DNA Polimeraz
➤	0.2 µM Reverse Primer
➤	0.2 µM Forward Primer
➤	10 mM dNTPs
➤	25 mM MgCl ₂
➤	3 µl 10 X Buffer
➤	100 ng DNA

Şekil 3.7. Prolaktin gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı

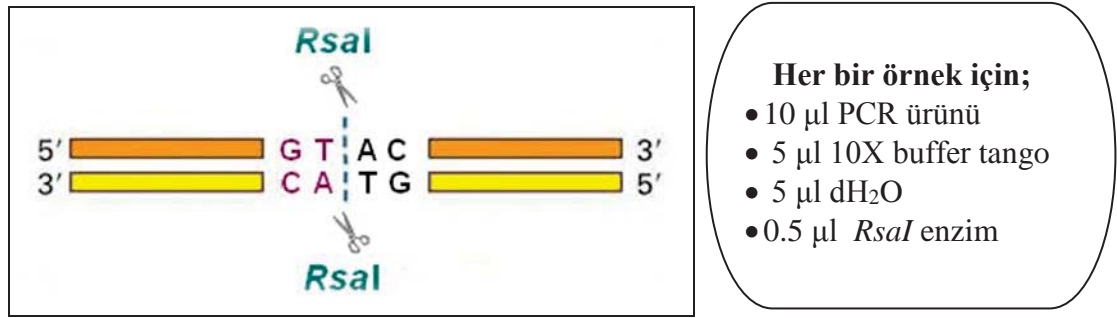
PCR Programı		
➤	94 °C 5 dk	Başlangıç Denatürasyonu
➤	94 °C 30 sn	Denatürasyon
➤	60 °C 40 sn	Primerlerin Bağlanması
➤	72 °C 30 sn	DNA Sentezi
➤	72 °C 10 dk	Son Sentez

} 30 tekrar

Şekil 3.8. Prolaktin gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı

156 bç uzunluğundaki prolaktin gen bölgesinin PCR işlemi ile çoğaltılıp çoğaltılmadığını gözleyebilmek amacıyla agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri % 2'lik yoğunluğa sahip bir jele yüklenerek elektroforezde 100 V'ta yürütülmüş ve sonrasında ethidium bromide ile boyanıp UV ışığı altında görüntülenmiştir.

Çoğaltılan 156 bç uzunluğundaki PCR ürünü *RsaI* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 12 saat süresince kesime bırakılmıştır. Restriksiyon enzimi ile muamele sonucunda elde edilen fragmentlerin ayrılmasında % 3.5'luk agaroz jel kullanılarak elektroforezde 70 V'ta yürütülmüştür. Şekil 3.9'da verilen enzim tanıma bölgesine göre kesilen fragmentlerden elde edilen bantlar, ethidium bromide ile muamele edildikten sonra jel görüntüleme sisteminde UV ışığı altında gözlenen genotipler belirlenmiştir.



Şekil 3.9. *RsaI* restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı

3.2.2.4. DGAT1

DGAT1 proteini geninin 8. ekzonunda bulunan 411 bç uzunluğundaki bölgesinin PCR ile çoğaltılması için 100 ng genomik DNA kullanılarak Şekil 3.10'da verilen miktarlar kullanılarak toplamda 25 µl olacak şekilde bir reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Kaupé vd (2004) tarafından bildirilen PCR yöntemi optimize edilmiş ve Şekil 3.11'de verilen PCR döngüsü kullanılmıştır.



PCR Reaksiyon Karışımı

- 1 U Taq DNA Polimeraz
- 0.2 µM Reverse Primer
- 0.2 µM Forward Primer
- 10 mM dNTPs
- 25 mM MgCl₂
- 2,5 µl 10 X Buffer
- 100 ng DNA

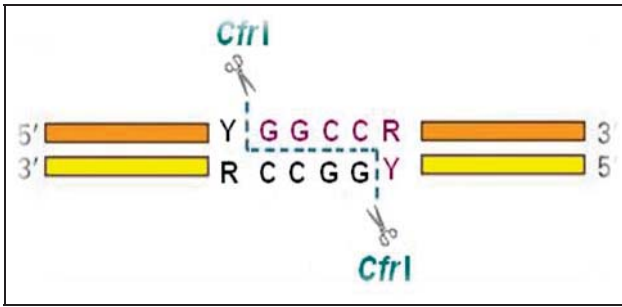
Şekil 3.10. DGAT1 gen bölgesi için PCR reaksiyon karışımı

PCR Programı			
➤	95 °C	3 dk	Başlangıç Denatürasyonu
➤	95 °C	30 dk	Denatürasyon
➤	64 °C	30 sn	Primerlerin Bağlanması
➤	72 °C	1 dk	DNA Sentezi
➤	72 °C	10 dk	Son Sentez

} 35 tekrar

Şekil 3.11. DGAT1 gen bölgesinin çoğaltılması için hazırlanan PCR programı

Hedef DGAT1 gen bölgesinin çoğaltılıp çoğaltılmadığını gözleyebilmek amacıyla, elde edilen PCR ürünleri % 2 yoğunluktaki jele yüklenerek elektroforezde 100 V'ta yürütülmüş ve sonrasında ethidium bromide ile boyanıp UV ışığı altında görüntülenmiştir



Her bir örnek için;

- 10 µl PCR ürünü
- 5 µl 10X buffer tango
- 5 µl dH₂O
- 0.5 µl *RsaI* enzim

Şekil 3.12. *CfrI* restriksiyon enzim kesim bölgesi ve enzim reaksiyon karışımı

Çoğaltılan 411 bç'lik PCR ürünü *CfrI* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 12 saat boyunca kesime bırakılmıştır. Şekil 3.12'de verilen enzim tanıma bölgesine göre kesilen fragmentlerin ayrılmasında % 3.5'lük agaroz jel kullanılarak elektroforezde 70 V'ta yürütülmüştür. Elektroforez sonucu mevcut jel ethidium bromide ile muamele edildikten sonra jel görüntüleme sisteminde UV ışığı altında genotipler gözlemlenebilmiştir.

3.2.3. İstatistiksel analizler

Kappa-kazein, β-laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 lokusları bakımından gen frekanslarının (P_i) hesaplanmasında, elektroforez ortamında belirlenen genotipler dikkate alınarak gen sayma yönteminden yararlanılmıştır (Nei 1987).

$$P_i = \frac{(2f_1 + f_2)}{2N} \quad S_{P_i} = \sqrt{\frac{P_i(1-P_i)}{2N}}$$

Formülde;

P_i : i. allelin frekansları

f_1 : i. allel bakımından homozigotgenotipli bireylerin sayısı

f_2 : i. allel bakımından heterozigotgenotipli bireylerin sayısı

N : i. lokus bakımından toplam birey sayısı

$S p_i$: i'nci allel frekansının standart hatası

Üzerinde durulan lokuslar bakımından çalışılan populasyonların Hardy Weinberg dengesinde olup olmadıkları χ^2 testi ile kontrol edilmiştir (Düzgüneş vd 1983).

$$\chi^2 = \sum \frac{(f - f')^2}{f'}$$

Formülde;

χ^2 : Khi – kare kontrol değeri

f : Gözlenen genotip frekansları

f' : Beklenen genotip frekansları

3.2.3.1. Gözlenen heterozigotluk (H_o)

Populasyonlarda genetik varyasyonun ölçülmesinde heterozigotluk kullanışlı bir ölçüdür. Gözlenen heterozigotluk (H_o), üzerinde durulan lokuslar bakımından heterozigot genotiplerin toplam genotiplere oranı şeklinde hesaplanır. Gözlenen heterozigotluk değerlerinin belirlenmesinde POPGENE (Yeh vd 1997) paket programından yararlanılmıştır.

$$H_o = \frac{\text{Heterozigot birey sayısı}}{\text{Toplam birey sayısı}}$$

3.2.3.2. Beklenen heterozigotluk (H_e)

Beklenen heterozigotluk (H_e) oranının tahmininde, Nei'nin (1987) yansız (unbiased) heterozigotluk değeri, gen frekansları kullanılarak tahmin edilmiştir. Birden fazla lokus olması halinde ise beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin ortalaması alınır. Beklenen heterozigotluk değerlerinin hesaplanmasında POPGENE (Yeh vd. 1997) paket programından yararlanılmıştır.

$$H_e = \frac{2n(1 - \sum \bar{X}_i^2)}{2n - 1}$$

Formülde;

n = Populasyondaki toplam birey sayısı

\bar{X}_i = i. allelin frekansı

TDSYMB'den alınan ve genotipler ile ilgili elde edilen veriler aşağıdaki matematik modele uygun olarak değerlendirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde aşağıdaki matematik modelin varlığı kabul edilmiştir;

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + \beta y_{asijkl} + e_{ijkl}$$

Y_{ijk} : 305 günlük süt verimi

μ : ortalaması

a_i : i. işletme etkisi

b_j : j. laktasyon sırası etkisi

c_k : k. genotipin (allelin) etkisi

β : regresyon katsayısı

y_{asijkl} : yaşın etkisi

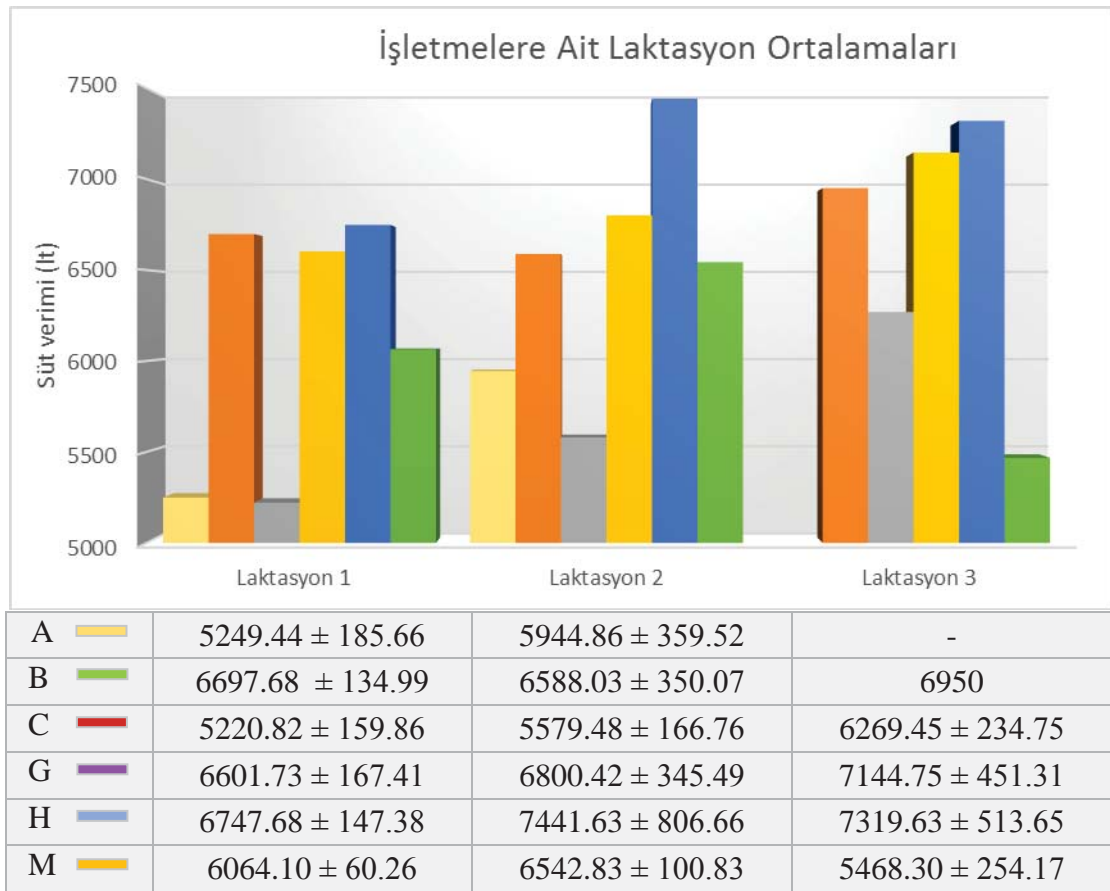
e_{ijkl} : hata etkisi

Laktasyon sayısına göre veriler standardize edildikten sonra genotiplerle süt verimi arasındaki ilişkiler SAS (2009) istatistik paket programları kullanılarak analiz edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada, Antalya çevresinde yetiştirilen Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği (TDSYMB)'ne kayıtlı 517 Siyah Alaca ineğin kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 gen lokusları bakımından genotipik yapıları PCR-RFLP metodu ile tespit edilmiştir. Genotipleri tespit edilen 517 Siyah Alaca ineğin kayıtlı verileri incelenerek bu hayvanlardan verilerine ulaşılabilen 432 tanesinin, SAS 9.3 paket programının MIXED prosedürü (SAS Institute, 2009) kullanılarak ilişki analizleri yapılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen işletmelere ait laktasyon ortalamaları ve standart sapmaları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. İşletmelere ait laktasyon ortalamaları ve standart hataları



TDSYMB'den elde edilen süt verim kayıtlarına bakıldığında, Çizelge 4.1'de de görüldüğü gibi, A işletmesine ait hayvanların 3. laktasyon verileri bulunmamaktadır. B işletmesine ait hayvanların sadece 1 tanesinde 3. laktasyon kaydı bulunmaktadır. A ve B işletmelerinde yetiştirilen bu hayvanların 2. laktasyondan sonra sürüden çıkarıldığı, dolayısıyla herhangi bir verim kaydının olmadığı bilinmektedir.

POPGENE paket programı kullanılarak tüm lokuslar üzerinden beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Nei (1987)'ye göre gözlenen heterozigotluk (H_o), mevcut populasyonda kullanılan heterozigot genotiplerin

sayısının toplam genotip sayısına oranı şeklinde, beklenen heterozigotluk (He) ise, gen frekansları kullanılarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. Lokuslara ait heterozigotluk istatistikleri sonuçları

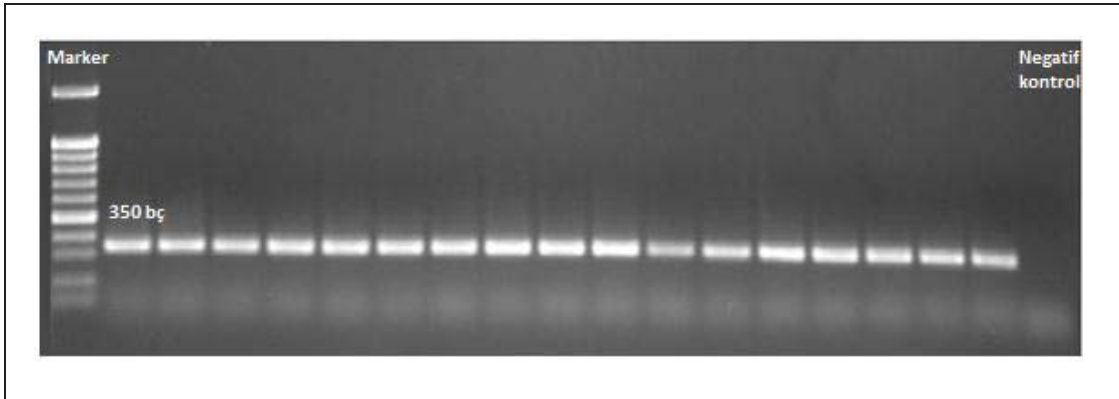
Lokus	N	Gözlenen Heterozigotluk Ho	Gözlenen Homozigotluk	Beklenen Homozigotluk*	Beklenen Heterozigotluk* He	Nei**	Ortalama He
Kappa-kazein	517	0.5280	0.4720	0.5018	0.4982	0.4977	0.4977
β-laktoglobulin	517	0.7292	0.2708	0.7147	0.2853	0.2850	0.2850
Prolaktin	517	0.7718	0.2282	0.7829	0.2171	0.2169	0.2169
DGAT1	517	0.5416	0.4584	0.5657	0.4343	0.4339	0.4407
Ortalama	517	0.6475	0.3525	0.6396	0.3604	0.3601	0.3601
Standart Sapma		0.1209	0.1209	0.1312	0.1312	0.1311	0.1311

* Levene (1949) yöntemi kullanılarak hesaplanan beklenen homozigotluk ve heterozigotluk.

** Nei (1973) yöntemi kullanılarak hesaplanan beklenen heterozigotluk.

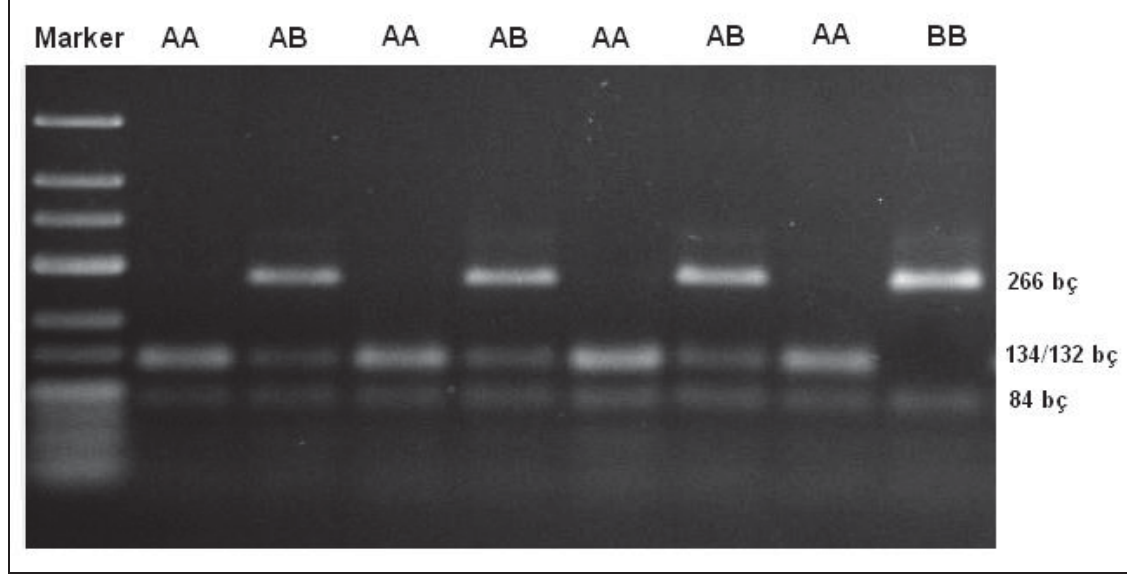
4.1. Kappa-kazein Geni *Hinf*I Polimorfizmi

Mevcut hayvanlardan elde edilen DNA'lar kullanılarak, kappa-kazein geninin *Hinf*I polimorfizmini belirlemek amacıyla, genin 4. ekzonunda 350 bp uzunluğundaki bölge, Çizelge 3.1'de verilen primerler kullanılarak PCR yardımıyla çoğaltılmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Kappa-kazein gen bölgesinin PCR görüntüsü

Kappa-kazein geninin çoğaltılan bu bölgesinde, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak elde edilen *HinfI* polimorfizmi sonucu 3 genotip (AA, AB ve BB) tespit edilmiştir. Beklenildiği gibi, AA genotipine sahip hayvanlar 134/132 bç ve 84 bç uzunluklarında olmak üzere 2 bant, BB genotipine sahip olanlar 266 bç ve 84 bç uzunluklarında olmak üzere 2 bant, AB genotipine sahip olanlar ise 266 bç, 134/132 bç ve 84 bç uzunluklarında olmak üzere 3 bant profili şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kappa-kazein geni *HinfI* polimorfizmi RFLP bant profil örneği

Araştırmada kullanılan 517 hayvanın kappa-kazein genine ait *HinfI* enzim kesim noktasına göre tespit edilen gen ve genotip frekansları bakımından dağılımı χ^2 testi ile kontrol edilmiştir (Çizelge 4.3). İncelenen populasyonun, kappa-kazein gen bölgesindeki *HinfI* polimorfizmi bakımından genotip frekansları dağılımının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu gözlenmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.3. Siyah Alaca ırkına ait kappa-kazein geninin gen ve genotip frekansları

N (517)	kappa-kazein genotipi			Gen frekansları		$(\chi^2)^*$
	AA	AB	BB	A	B	
Gözlenen	358	140	19	0.8279	0.1721	1.2875 ^{öd}
Beklenen	(354.34)	(147.34)	(15.32)			
Genotip frekansları	0.6925	0.2708	0.0367			

* $P>0.05$ öd. Önemli değil

PCR-RFLP yöntemi sonrasında elde edilen genotipler dikkate alınarak, Nei'nin (1987) gen sayma yöntemi kullanılarak gen ve genotip frekansları hesaplanmıştır. Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, 517 Siyah Alaca ineğin 358 tanesinin AA, 140 tanesinin

AB ve 19 tanesinin BB genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir. Mevcut populasyonda kappa-kazein gen bölgesi bakımından AA genotip frekansı 0.6925, AB genotip frekansı 0.2708 ve BB genotip frekansı ise 0.0367 olarak hesaplanmış, kappa-kazein geni A allel frekansı 0.8279 ve B allel frekansı ise 0.1721 olarak bulunmuştur.

Antalya yöresindeki Siyah Alaca sığır ırkında yapılan bu çalışmadaki kappa-kazein geni *HinfI* polimorfizmi incelendiğinde, A allelinin oldukça yaygın olduğu görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar özellikle Siyah Alaca ve melezleriyle yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Strzalkowska vd 2002, Tsiaras vd 2005, Patel vd 2007, Ahmadi vd 2008, Molee vd 2011, Ren vd 2011, Echeverri vd 2013, Mohammadi vd 2013, Dokso vd 2014). Bartonova vd (2012) tarafından Simental sığır ırkı ile yapılan bir çalışmada ise, A (0.5520) ve B (0.4180) allel frekansları birbirine yakın değerlerde tespit edilmiştir.

Simental, Angus, Nelore ve Gyrholando gibi sığır ırklarında kappa-kazein *HinfI* polimorfizmi incelendiğinde, benzer şekilde A allelinin oldukça yüksek bulunduğu gözlenmiştir (Biase vd 2005, Rohallah vd 2007, Azevedo vd 2008, Dokso vd 2014). Bununla birlikte, Jersey sığır ırkında yapılan bir çalışmada Ren vd (2011) B allel frekansını (0.8800) A alleleline (0.1100) kıyasla oldukça yüksek frekansta bulurken, Patel vd (2007) tarafından yapılan başka bir çalışmada A (0.5200) ve B (0.4800) allel frekansları birbirine yakın değerlerde tespit edilmiştir.

Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği (TDSYMB)'ne kayıtlı, verilerine ulaşılabilen 432 tanesinin ilişki analizleri, SAS 9.3 paket programının MIXED prosedürü (SAS Institute, 2009) kullanılarak yapılmıştır. Çizelge 4.4'te kappa-kazeinin *HinfI* polimorfizmi ile elde edilen her bir genotipin laktasyon verim ortalaması verilmiştir.

Çizelge 4.4. Kappa-kazeinin *HinfI* polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması

Genotipler	N	Laktasyon ortalaması	Standart hata
AA	303	6295.89	52.56
AB	113	6238.64	103.84
BB	16	6111.36	180.82

Analiz sonrasında, kappa-kazein geninin *HinfI* polimorfizmi sonucu tespit edilen genotip farklılıklarının süt verimine bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.5.). Ancak, Çizelge 4.5 incelendiğinde işletmeler ve laktasyonlar arası farklılığın önemli olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Ayrıca laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının da önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.5. Kappa-kazein geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları

Sabit Etkiler	Serbestlik Derecesi	F Değeri	Pr > F
Yaş	1	1.69	0.1939
Laktasyon	2	5.40	0.0047*
İşletme	5	13.56	<.0001*
Genotip kappa-kazein	2	0.42	0.6539
Laktasyon x İşletme	9	3.29	0.0006*
Yaş x Laktasyon	2	3.95	0.0196*
Laktasyon x Genotip kappa-kazein	4	0.09	0.9862

* P<0.05 önemli

Sığırlarda farklı ırklarda süt protein varyantlarının belirlenmesi, peynir yapımında olumsuz etkilere sahip olan mutasyonların artıştan kaçınmayı amaçlayan önemli bir uygulamadır. Bu bakımdan, kappa-kazein genine ait genotiplerin tespiti süt sığırı yetiştiriciliğinde büyük önem taşımaktadır. Kappa-kazein B alleleline sahip ineklerin sütünün sığağa direncinin daha yüksek olması, koagülasyon süresinin daha kısa olması ve farklı büyüklükteki misellere sahip olması nedeniyle peynir yapımında tercih edildiği daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Azevedo vd 2008, Molee vd 2011). Dolayısıyla dolaylı seleksiyonda genetik marker olarak kullanımı birçok araştırmancının konusu olarak süt verim özellikleri ile kappa-kazein gen polimorfizmi arasındaki ilişki incelenmiştir (Biase vd 2005, Matejček vd 2007, Ahmadi vd 2008, Alipanah vd 2008, Molee vd 2011, Ren vd 2011, Bartonova vd 2012, Mohammadi vd 2013, Hristov vd 2014).

Kappa-kazein genotiplerinin süt verimine etkisinin önemli olduğu çalışmaların yanı sıra (Tsiaras vd 2005, Ahmadi vd 2008, Bartonova vd 2012, Mohammadi vd 2013), bazı araştırmacılar bu genotipik varyasyonun süt verimini etkilemediği sonucuna ulaşmışlardır (Molee vd 2011, Dokso vd 2014). Yapılan araştırmalar sonucunda, AA genotipine sahip ineklerin daha yüksek süt verimine sahip oldukları (Ahmadi vd 2008, Mohammadi vd 2013) ancak protein verimi ve protein yüzdesi ile negatif yönde bir ilişkiye sahip oldukları tespit edilmiştir (Tsiaras vd 2005, Ahmadi vd 2008). Diğer taraftan Hristov vd (2014), BB genotipine sahip ineklerin AB genotipine sahip ineklere kıyasla % 15 daha fazla süt verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

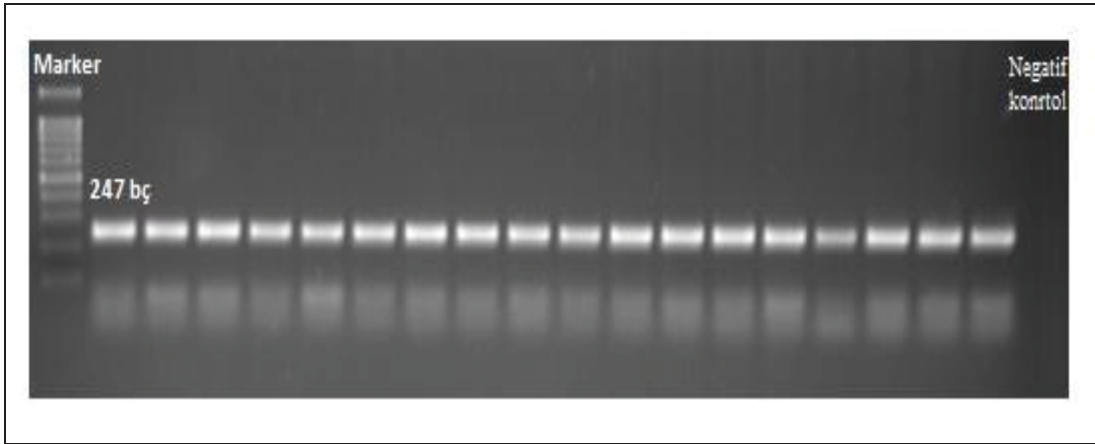
Kappa-kazein geni B varyantının, peynir üretiminde önemli olan süt proteini ve yağ içeriğindeki artış ile de ilişkili olduğu bildirilmektedir (Tsiaras vd 2005, Mohammadi vd 2013). Molee vd (2011), Siyah Alaca melezlerinde yaptıkları çalışmada kappa-kazein geni genotiplerinin yağ yüzdesi, protein yüzdesi ve kurumadde üzerine pozitif yönde bir etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Ancak Bartonova vd (2012), kappa-kazein geninin *HinfI* polimorfizmi sonucu belirlenen genotipler ile yağ ve protein verimi arasında bir ilişkinin olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Kappa-kazein geni, sütçü ve etçi sığırlarda MAS için güçlü bir aday gen olarak görülmektedir. Kappa-kazein A alleli yüksek süt verimi ve düşük protein içeriği ile ilişkili bulunurken, B alleli ise yüksek protein içeriği ve süt kalitesi, diğer yandan düşük süt verimi ile ilişkili bulunmuştur (Strzalkowska vd 2002, Tsiaras vd 2005, Ahmadi vd 2008, Mohammadi vd 2013).

Bu çalışmada, POPGENE paket programı kullanarak, kappa-kazein geninin *Hinf*I polimorfizmi için gözlenen heterozigotluk değeri (H_o) 0.7147 ve beklenen heterozigotluk değeri (H_e) ise 0.2853 olarak hesaplanmıştır. H_o ve H_e değerleri, daha önce yapılan bazı çalışmalara yakın değerlerde bulunurken (Ahmadi vd 2008, Mohammadi vd 2013), Batista vd (2015) tarafından hesaplanan değerlerden ise daha düşük olduğu görülmektedir.

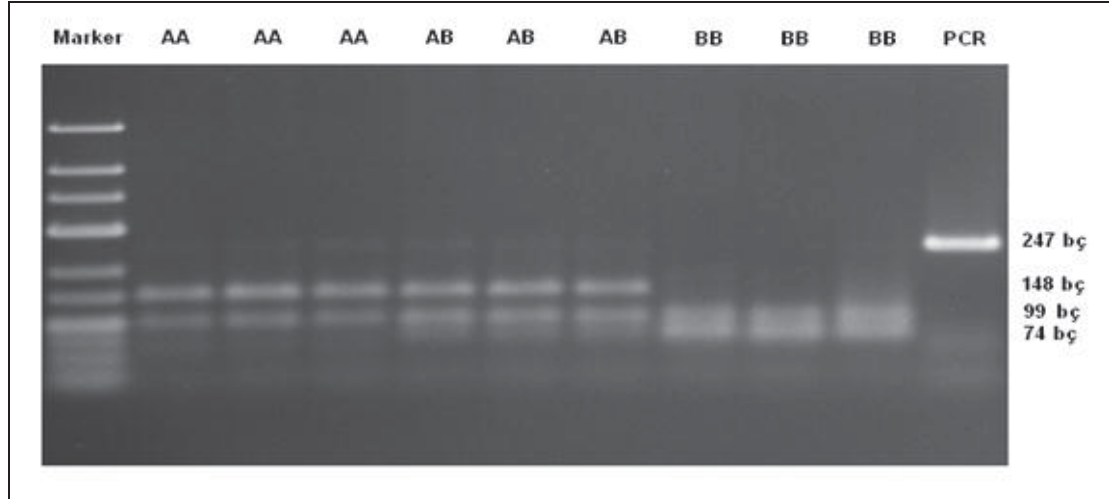
4.2. β -laktoglobulin Geni *Hae*III Polimorfizmi

β -laktoglobulin geninin *Hae*III polimorfizmini belirlemek amacıyla, mevcut hayvanların DNA'larından elde edilen genin 4. ekzonunda 247 bç uzunluğundaki bölge, Çizelge 3.1'de verilen primerler kullanılarak PCR yardımıyla çoğaltılmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. β -laktoglobulin gen bölgesinin PCR görüntüsü

β -laktoglobulin geninin çoğaltılan bu 247 bç'lik bölgesinde, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak AA, AB ve BB olmak üzere 3 genotip tespit edilmiştir. Beklenildiği gibi, AA genotipine sahip hayvanlar 148 bç ve 99 bç uzunluklarında olmak üzere 2 bant, BB genotipine sahip olanlar 99 bç ve 74 bç uzunluklarında olmak üzere 2 bant, AB genotipine sahip olanlar ise 148 bç, 99 bç ve 74 bç uzunluklarında olmak üzere 3 bant profili şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. β -laktoglobulin geni *Hae*III polimorfizmi RFLP bant profili örneği

Araştırmada kullanılan 517 hayvanın β -laktoglobulin genine ait *Hae*III enzim kesim noktası ile tespit edilen gen ve genotip frekansları bakımından dağılımı χ^2 testi ile kontrol edilmiştir (Çizelge 4.6). İncelenen populasyonda, β -laktoglobulin gen bölgesinde *Hae*III polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olan bu populasyonda, gözlenen ve beklenen genotip frekanslar arasındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.6. Siyah Alaca ırkına ait β -laktoglobulin geninin gen ve genotip frekansları

N (517)	β -laktoglobulin genotipi			Gen frekansları		$(\chi^2)^*$
	AA	AB	BB	A	B	
Gözlenen	119	244	154	0.4662	0.5338	1.3857 ^{öd}
Beklenen	(112.35)	(257.32)	(147.33)			
Genotip frekansları	0.2302	0.4720	0.2978			

* $P>0.05$ öd. Önemli değil

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi, 517 Siyah Alaca ineğin 94 tanesinin AA, 270 tanesinin AB ve 153 tanesinin BB genotipine sahip olduğu gözlenmiştir. β -laktoglobulin gen bölgesi bakımından AA genotip frekansı 0.2302, AB genotip frekansı 0.4720 ve BB genotip frekansı ise 0.2978 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, β -laktoglobulin geni A allel frekansı 0.4462 ve B allel frekansı ise 0.5338 olarak belirlenmiştir.

Mevcut Siyah Alaca sığır populasyonunda β -laktoglobulin geni *Hae*III polimorfizmi incelendiğinde, B alleli nispeten yüksek olmakla birlikte, A ve B allellere sahip hayvanların populasyonda, hemen hemen aynı oranlarda dağılım gösterdiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar, özellikle Siyah Alaca ve melezleriyle

yapılan birçok çalışma ile benzerlik göstermektedir (Ahmadi vd 2008, Heidari vd 2009, Ilie vd 2010, Öner vd 2011, Dinç vd 2013, Mohammadi vd 2013). Bununla birlikte, Siyah Alaca sığırlarda yapılan diğer bazı çalışmalarda, β -laktoglobulin B allelinin A alleleine kıyasla oldukça yüksek bulunduğu sonuçlara rastlanmıştır (Patel vd 2007, Ren vd 2011).

Angus, Sahiwal, Najdi, Esmer, Creole, Jersey vb. gibi birçok sığır ırkında β -laktoglobulin geni *HaeIII* polimorfizmi bakımından B allelinin oldukça yüksek frekanslarda bulunduğu bildirilmiştir (Rachagani vd 2006, Patel vd 2007, Karimi vd 2009, Rojas vd 2010, Ren vd 2011). Canchim ve Simental sığır ırklarında yapılan çalışmalarda ise mevcut çalışmaya benzer şekilde, β -laktoglobulin A ve B allelleri birbirine yakın frekanslarda bulunmuştur (Rincon vd 2006, Ilie vd 2010, Demirci ve Akyüz 2014).

Türkiye’de yetiştirilen sığır ırklarında β -laktoglobulin allel frekansları bakımından birbirinden farklı sonuçlara rastlanmıştır. Öner vd (2011), Bursa çevresinde yetiştirilen Esmer ırkı sığırlarda β -laktoglobulin geninin B allelini (0.657) A alleleine kıyasla daha yüksek frekansta bulmuşlardır. Esmer ırkı sığırlarda yapılan diğer bir çalışmada ise A (0.4800) ve B (0.5200) allelleri mevcut çalışmaya benzer olarak birbirine yakın değerlerde bulunurken, Simental ırkı sığırlarda β -laktoglobulin A allel frekansının (0.7600) B allel frekansından yüksek olduğu tespit edilmiştir (Demirci ve Akyüz 2014). Doğu Anadolu Kırmızısı (0.7805), Yerli Kara (0.6071), Güney Anadolu Kırmızısı (0.8125) ve Güneydoğu Anadolu Kırmızısı (0.80) ırkı sığırlarda β -laktoglobulin B allelinin A alleleine kıyasla daha yüksek frekanslara sahip olduğunu, Boz ırkı sığırlarda ise A ve B allel frekanslarının birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Dinç vd 2013, Demirci ve Akyüz 2014).

Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği (TDSYMB)’ne kayıtlı ineklerin, SAS 9.3 paket programı kullanılarak yapılan analizler sonrasında, β -laktoglobulin *HaeIII* polimorfizmi ile elde edilen genotiplere ait laktasyon verim ortalamaları hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. β -laktoglobulin *HaeIII* polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması

Genotipler	N	Laktasyon ortalaması	Standart hata
AA	106	6222.95	91.16
AB	202	6322.87	66.21
BB	124	6241.77	90.25

Yapılan analiz sonrasında, β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi sonucu tespit edilen genotip farklılıklarının süt verimine herhangi bir etkisinin olmadığı ($P>0.05$) (Çizelge 4.8), diğer yandan işletmeler ve laktasyonlar arası farklılık ile

laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05).

Çizelge 4.8. β -laktoglobulin geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları

Sabit Etkiler	Serbestlik Derecesi	F Değeri	Pr > F
Yaş	1	1.77	0.1837
Laktasyon	2	5.19	0.0058*
İşletme	5	14.05	<.0001*
Genotip β -laktoglobulin	2	0.63	0.5341
Laktasyon x İşletme	9	3.11	0.0011*
Yaş x Laktasyon	2	3.90	0.0207*
Laktasyon x Genotip β -laktoglobulin	4	0.72	0.5803

* P<0.05 önemli

β -laktoglobulin genine ait genotip farklılıklarının süt kalite ve kompozisyonuna etkisi olabileceği ve bu nedenle β -Lg geninin süt sığırı yetiştiriciliğinde marker olarak kullanılabileceği birçok çalışmada belirtilmiştir (Tsiaras vd 2005, Matejcek vd 2007, Ahmadi vd 2008, Heideri vd 2009, Karimi vd 2009, Ilie vd 2010, Mohammadi vd 2013, Singh vd 2015).

Siyah Alaca sığır ırkında yapılan bir çalışmada, β -laktoglobulin AB genotipinin süt verimine etkisinin önemli bulunduğu bildirilmiştir (Heideri vd 2009). Yapılan diğer bir çalışmada, β -laktoglobulin AB genotipine ek olarak, β -laktoglobulin AA genotipinin de süt verimine etkisinin olduğu, ancak bu etkinin istatistiki olarak önemli olmadığı bildirilmiştir (Karimi vd 2009). Ahmadi vd (2008) ve Mohammadi vd (2013) tarafından yapılan çalışmalarda, β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin süt verimine hiçbir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ek olarak, β -laktoglobulin genine ait genotip farklılıklarının yağ içeriğine de etkisinin önemli olmadığı bildirilmiştir (Ahmadi vd 2008, Mohammadi vd 2013).

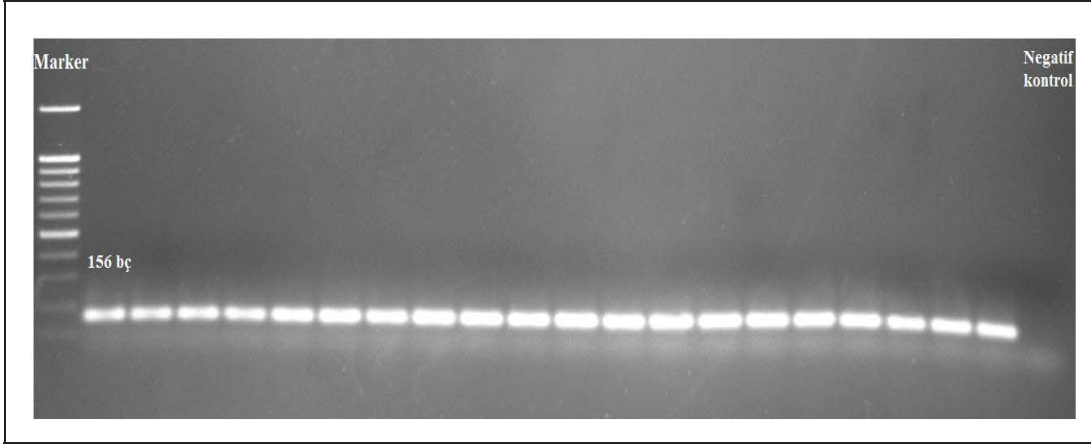
Siyah Alaca sığır ırkında, β -laktoglobulin geninin BB genotipine sahip hayvanların sütündeki protein içeriğinin, diğer genotiplere sahip hayvanların sütünden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Ahmadi vd 2008, Mohammadi vd 2013). Bununla birlikte, Karimi vd (2009), β -laktoglobulin genine ait genotipler arasında süt protein içeri bakımından ortaya çıkan farklılığın istatistiki açıdan önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmada, POPGENE paket programı kullanılarak, β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi için gözlenen heterozigotluk değeri (Ho) 0.5018 ve beklenen heterozigotluk değeri (He) ise 0.4982 olarak hesaplanmıştır. Ho ve He değerleri daha

önce yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (Ahmadi vd 2008, Mohammadi vd 2013).

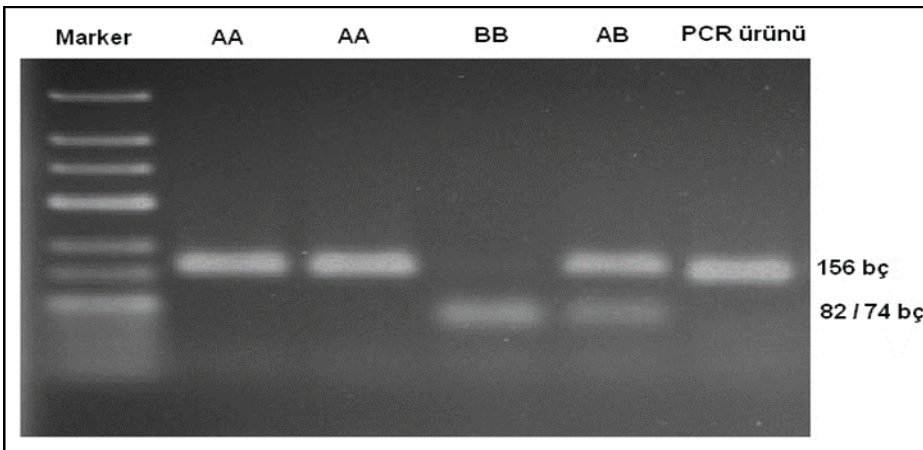
4.3. Prolaktin Geni *RsaI* Polimorfizmi

Mevcut hayvanlardan elde edilen DNA'lar kullanılarak, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmini belirlemek amacıyla, genin 3. ekzonunda 156 bç uzunluğundaki bölge, Çizelge 3.1'de verilen primerler kullanılarak PCR yardımıyla çoğaltılmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Prolaktin gen bölgesinin PCR görüntüsü

Prolaktin geninin çoğaltılan bu bölgesinde, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak elde edilen *RsaI* polimorfizmi sonucu 3 genotip (AA, AB ve BB) tespit edilmiştir. Beklenildiği gibi, AA genotipine sahip hayvanlar 156 bç uzunluğunda tek bant, BB genotipine sahip olanlar 82 bç ve 74 bç uzunluklarında 2 bant, AB genotipine sahip olanlar ise 156 bç, 82 bç ve 74 bç uzunluklarında 3 bant profili şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Prolaktin geni *RsaI* polimorfizmi RFLP bant profil örneği

Araştırmada kullanılan 517 hayvanın, prolaktin genine ait *RsaI* enzim kesim noktası ile tespit edilen gen ve genotip frekansları bakımından dağılımı χ^2 testi ile

kontrol edilmiştir (Çizelge 4.9). Prolaktin gen bölgesinin *RsaI* polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olan bu populasyonda, beklenen ve gözlenen genotip frekanslar arasındaki farklılığın istatistikî olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.9. Siyah Alaca ırkına ait prolaktin geninin gen ve genotip frekansları

N (517)	Prolaktin genotipi			Gen frekansları		$(\chi^2)^*$
	AA	AB	BB	A	B	
Gözlenen	394	118	5	0.8762	0.1238	1.4022 ^{öd}
Beklenen	(396.92)	(112.16)	(7.92)			
Genotip frekansları	0.7621	0.2282	0.0097			

* $P>0.05$ öd. Önemli değil

Çizelge 4.9’da görüldüğü gibi, 517 Siyah Alaca ineğin 394 tanesinin AA, 118 tanesinin AB ve 5 tanesinin BB genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir. Mevcut populasyonda prolaktin gen bölgesi bakımından AA genotip frekansı 0.7621, AB genotip frekansı 0.2282 ve BB genotip frekansı ise 0.0097 olarak hesaplanmış, prolaktin geni A allel frekansı 0.8762 ve B allel frekansı ise 0.1238 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada, Antalya yöresinde yetiştirilen Siyah Alaca sığır ırkında prolaktin geni *RsaI* polimorfizmi incelendiğinde, A allelinin oldukça yaygın olduğu görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar özellikle Siyah Alaca ve melezleriyle yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Dybus vd 2005, Khatami vd 2005, Alipanah vd 2008, Akyüz vd 2012, Mahajan vd 2012, Khaizaran ve Al-Razem 2014, Singh vd 2015).

Prolaktin geni *RsaI* polimorfizminin incelendiği, farklı birçok sığır ırkı ile yapılan çalışmaların çoğunda, benzer şekilde A allelinin B alleleline kıyasla oldukça yüksek frekanslara sahip olduğu görülmüştür (Kepenek 2007, Ghasemi vd 2009, Kaplan ve Boztepe 2010, Carsai vd 2011, Sodhi vd 2011, Akyüz vd 2012, Alfanso vd 2012, Lazebnaya vd 2013, Akyüz ve Çınar 2014, Ünal vd 2015). Bununla birlikte, Dybus vd (2005) tarafından Jersey ırkı sığırlarda yapılan bir çalışmada, B allel frekansı (0.6919) A allel frekansına (0.3081) kıyasla daha yüksek bir değerde bulunmuştur. Türkiye’de yetiştirilen Yerli Kara ırkında yapılan araştırmalar sonucunda ise prolaktin geni A ve B allel frekansları birbirine yakın değerlerde bulunmuştur (Kepenek 2007, Akyüz vd 2012, Ünal vd 2015).

Verilere ulaşılabilen 432 ineğin, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi ile elde edilen genotiplere ait laktasyon verim ortalamaları ve standart hataları hesaplanmıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması

Genotipler	N	Laktasyon ortalaması	Standart hata
AA	333	6260.82	50.35
AB	96	6282.33	107.32
BB	3	8311.00	1270.71

SAS programı analizleri sonrasında, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi sonucu tespit edilen genotip farklılıklarının süt verimine etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.11). Ayrıca, işletme, genotip ve laktasyonlar arası farklılıklarla birlikte, laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.11. Prolaktin geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları

Sabit Etkiler	Serbestlik Derecesi	F Değeri	Pr > F
Yaş	1	1.33	0.2484
Laktasyon	2	6.80	0.0012*
İşletme	5	11.95	<.0001*
Genotip prolaktin	2	3.49	0.0311*
Laktasyon x İşletme	9	2.93	0.0020*
Yaş x laktasyon	2	3.27	0.0387*
Laktasyon x Genotip prolaktin	3	1.37	0.2496

* $P<0.05$ önemli

Süt üretiminde önemli bir düzenleyici fonksiyona sahip olan prolaktin geni, QTL için önemli bir aday gendir. Dolayısıyla birçok çalışmada prolaktin polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler ele alınarak değerlendirilmiştir (Dybus vd 2005, Khatami vd 2005, Alipanah vd 2008, Ghasemi vd 2009, Alfonso vd 2012, Mahajan vd 2012, Singh vd 2015). Mevcut çalışmada, prolaktin geninin süt verimi üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Özellikle B alleleline sahip hayvanların süt veriminin daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10). Ancak, BB genotipine sahip olan hayvanların oldukça az sayıda olduğu gözden kaçırılmamalıdır. Bazı çalışmalarda, benzer şekilde BB genotipinin süt verimi üzerinde önemli etkisinin olduğu veyahut pozitif yönde etkileyebilecek bir eğilimi olduğu saptanmıştır (Alipanah vd 2008, Singh vd 2015). Diğer yandan, Khatami vd (2005), prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi ile oluşan BB genotipinin süt verimi ile negatif

yönde bir ilişkisi olduğunu, ancak bu ilişkinin istatistiki açıdan önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan bazı araştırmalarda, AA genotipine sahip ineklerin süt verimine etkisinin, diğer genotiplere kıyasla daha yüksek olduğu ifade edilirken (Kepenek 2007, Ghasemi vd 2009, Alfonso vd 2012, Singh vd 2015), AB genotipine sahip Siyah Alaca ırkı ineklerin süt veriminin diğer genotiplere sahip olan ineklerin süt veriminden daha yüksek olduğunu bildirilmiştir (Khatami vd 2005, Grisart vd 2004, Khaizaran ve Al-Razem 2014). Bununla birlikte, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizminin süt verimi üzerine istatistiki olarak herhangi bir etkinin olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Dybus vd 2005, Khatami vd 2005, Mahajan vd 2012).

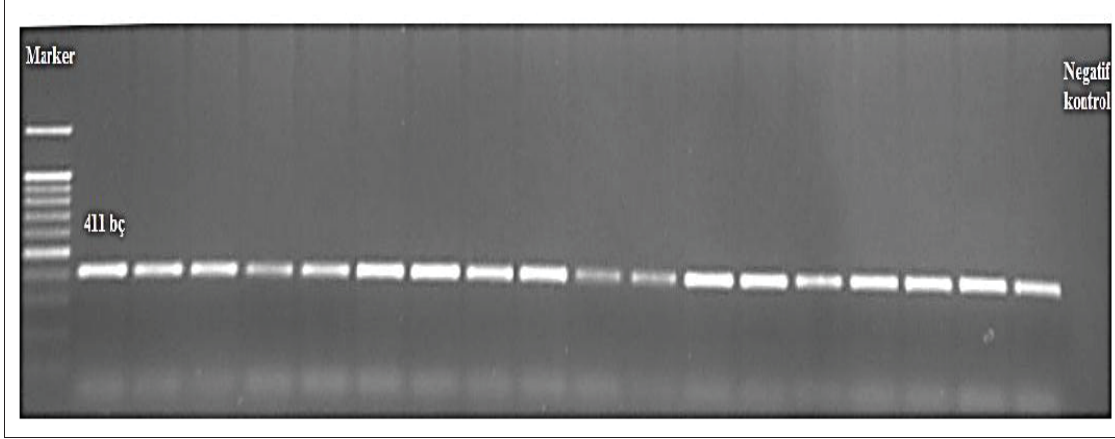
Prolaktin geninin *RsaI* polimorfizminin sütteki yağ içeriğine etkisinin önemli olduğu birçok çalışma mevcuttur (Dybus vd 2005, Kepenek 2007, Khaizaran ve Al-Razem 2014). Dybus vd (2005), prolaktin geninin sütteki yağ verimine ve yağ yüzdesine etkisinin, AA genotipine sahip olan hayvanlarda AB ve BB genotipine sahip hayvanlardan daha düşük olduğunu ve bu farkın istatistiki olarak önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Alipanah vd (2008), BB genotipine sahip hayvanların süütünün yağ veriminin diğerlerine kıyasla daha yüksek olduğunu (BB> AA> AB), AB genotipine sahip olan hayvanların süütünün ise yağ içeriği bakımından daha yüksek olduğunu, ancak bu sonuçların istatistiki olarak önemli olmadığını bulmuşlardır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda ise AA genotipine sahip hayvanların süütünün yağ içeriğinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Khatami vd 2005, Khaizaran ve Al-Razem 2014).

Dybus vd (2005), prolaktin geni *RsaI* polimorfizminin süütün protein içeriğine etkisinin önemli olduğunu savunurken, diğer taraftan Alipanah vd (2008), bu genotipik farklılıkların etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığı sonucuna varmışlardır. Singh vd (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, prolaktin geninin somatik hücre sayısı ile bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. AA ve AB genotipine sahip ineklerin süütünün somatik hücre sayısının, BB genotipine sahip olanlardan daha düşük olduğunu, bu sonuca bağlı olarak BB genotipine sahip ineklerin mastitise karşı direncinin daha yüksek olacağını bildirmişlerdir (Singh vd 2015).

POPGENE paket programı kullanarak, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi için gözlenen heterozigotluk (H_o) 0.7829 ve beklenen heterozigotluk (H_e) ise 0.2171 olarak hesaplanmıştır. H_o değeri daha önce yapılan çalışmalara kıyasla daha yüksek iken, H_e değerleri ise daha düşük bulunmuştur (Kepenek 2007, Akyüz vd 2012, Alfonso vd 2012, Akyüz ve Çınar 2014, Khaizaran ve Al-Razem 2014, Ünal vd 2015).

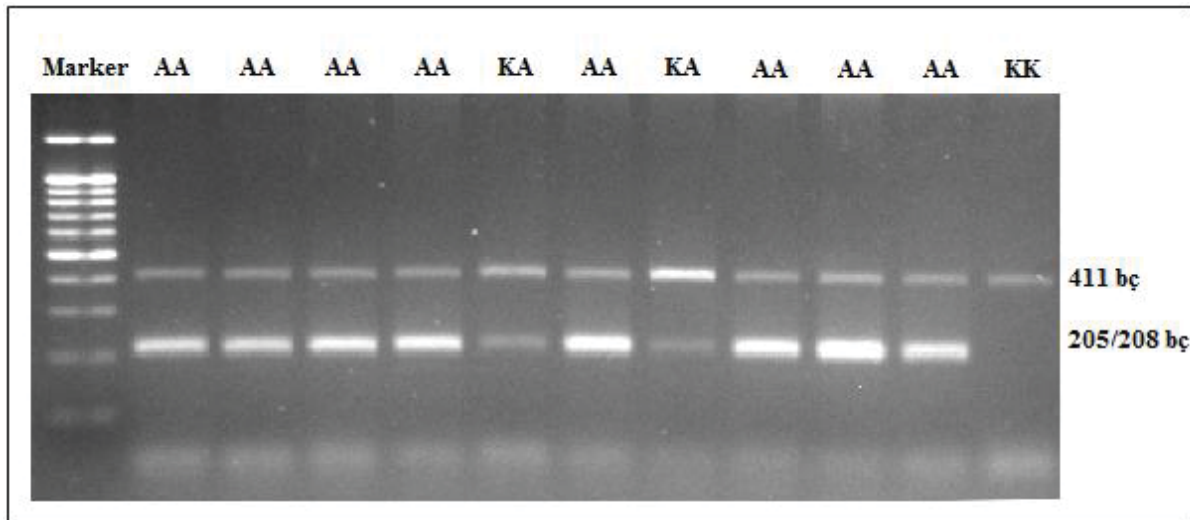
4.4. DGAT1 Geni *CfrI* Polimorfizmi

Mevcut hayvanlardan elde edilen DNA'lar kullanılarak, DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizmini belirlemek amacıyla, genin 8. ekzonunda 413 bp uzunluğundaki bölge, Çizelge 3.1'de verilen primerler kullanılarak PCR yardımıyla çoğaltılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. DGAT1 gen bölgesinin PCR görüntüsü

DGAT1 geninin çoğaltılan bu bölgesinin, *Cfr*I restriksiyon enzimi ile muamelesi sonucu 3 genotip (KK, KA ve AA) belirlenebilmiştir. Beklenildiği gibi, KK genotipine sahip hayvanlar 413 bç uzunluğunda olmak üzere tek bant ve KA genotipine sahip olanlar ise 413 bç ve 205/208 bç uzunluklarında olmak üzere 2 bant profili şeklinde gözlenmiştir. DGAT1 geninin AA genotipine sahip hayvanların *Cfr*I restriksiyon enzimi ile muamelesi sonucunda sadece 205/208 bç uzunluklarındaki bölgelerde bant profili görülmektedir. Bu çalışmada, elde edilen DGAT1 genine ait PCR ürünlerinin *Cfr*I enzimi ile tam bir kesimi mümkün olmamıştır. Bu durum, kullanılan *Cfr*I enziminin (Fermentas- Kat. No: ER0161), CpG metilasyonuna duyarlı olmasına bağlanmıştır. PCR ürünüde CpG metillenmesi sonucu, *Cfr*I enzimi kesim bölgesini tanıyamamaktadır. Dolayısıyla mevcut PCR ürününün tamamen kesilmesi mümkün olmamaktadır. 205/208 bç uzunluklarında bant profil yoğunluğun çok fazla olduğu ve 413 bç uzunluğundaki bant profilinin ise yoğunluğunun çok daha az olduğu örnekler AA genotipi olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. DGAT1 geni *Cfr*I polimorfizmi RFLP bant profil örneği

İncelenen 517 hayvanın DGAT1 genine ait *CfrI* enzim kesim noktası ile tespit edilen gözlenen ve beklenen genotip frekansları bakımından dağılımı χ^2 testi ile kontrol edilmiştir (Çizelge 4.12). DGAT1 gen bölgesinin *CfrI* polimorfizmi bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olan bu populasyonda, beklenen ve gözlenen genotip frekanslar arasındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.12. Siyah Alaca ırkına ait DGAT1 geninin gen ve genotip frekansları

N (517)	Prolaktin genotipi			Gen frekansları		$(\chi^2)^*$
	KK	KA	AA	K	A	
Gözlenen	220	226	71	0.6441	0.3559	1.1174 ^{öd}
Beklenen	(214.49)	(237.02)	(65.49)			
Genotip frekansları	0.4255	0.4371	0.1374			

* $P>0.05$ öd. Önemli değil

Çizelge 4.12’de görüldüğü gibi, 517 Siyah Alaca ineğin 220 tanesinin KK, 226 tanesinin KA ve 71 tanesinin AA genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir. Mevcut populasyonda DGAT1 gen bölgesi bakımından KK genotip frekansı 0.4255, KA genotip frekansı 0.4371 ve AA genotip frekansı ise 0.1374 olarak hesaplanmıştır. DGAT1 geni K allel frekansı 0.6441 ve A allel frekansı ise 0.3559 olarak belirlenmiştir.

Çalışmada ele alınan Siyah Alaca sığır ırkında DGAT1 polimorfizmi incelendiğinde, lisin varyantının (K alleli) alanin varyantına (A alleli) kıyasla oldukça yaygın olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar Siyah Alaca ırkı üzerinde yapılan bazı çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Spelman vd 2002, Nowacka-Woszuk vd 2008, Mashhadi vd 2012). Diğer taraftan, özellikle Siyah Alaca sığır ırkında A allelinin, K alleleline kıyasla oldukça yüksek bulunduğu birçok çalışma mevcuttur (Winter vd 2002, Hori-Oshima ve Barreras-Serrano 2003, Cerit vd 2014, Scotti vd 2010, Bal ve Akyüz 2014, Pirzad vd 2014). Daha önceden yapılan birçok çalışmada ise, A alleli daha yüksek frekansa sahip olmakla birlikte, Siyah Alaca sığır ırkında K ve A allel frekanslarının birbirlerine yakın değerlerde bulunduğu bildirilmiştir (Thaller vd 2003, Kaupe vd 2004, Pareek vd 2005, Barbosa da Silva vd 2010). DGAT1 polimorfizmi birçok yerli ve kültür sığır ırkında incelendiğinde, K allelinin daha yüksek frekansta bulunduğu çalışmaların yanı sıra (Spelman vd 2002, Kaupe vd 2004, Lacorte vd 2006, Ünal vd 2015), A allelinin daha yüksek frekansa sahip olarak bulunduğu araştırmalar da mevcuttur (Spelman vd 2002, Kaupe vd 2004, Lacorte vd 2006, Rincon vd 2006, Bal ve Akyüz vd 2014).

DGAT1 gen bölgesindeki polimorfizmin araştırılmasının yanı sıra, bu bölgede oluşan polimorfizmin süt verim özelliklerine etkisinin incelenmesi de önem kazanmıştır. Çizelge 4.13’te verilerine ulaşılabilen 432 ineğin, DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizmi ile elde edilen genotiplere ait laktasyon verim ortalamaları ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 4.13. DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizmi ile elde edilen genotiplerin laktasyon verim ortalaması

Genotipler	N	Laktasyon ortalaması	Standart hata
KK	188	6317.83	73.54
KA	203	6218.45	62.74
AA	41	6376.10	169.90

Mevcut populasyonda, DGAT1 geninin *CfrI* polimorfiminin süt verim özelliklerine etkisi SAS programının Mixed prosedürüne göre analiz edilmiş ancak istatistiki olarak önemli herhangi bir etki tespit edilmemiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.14). Bununla birlikte, işletmeler ve laktasyonlar arası farklılığın yanı sıra laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.14. DGAT1 geninin süt verimine ilişkin analiz sonuçları

Sabit Etkiler	Serbestlik Derecesi	F Değeri	Pr > F
Yaş	1	1.65	0.1999
Laktasyon	2	4.81	0.0084*
İşletme	5	13.08	<.0001*
Genotip DGAT1	2	0.09	0.9139
Laktasyon x İşletme	9	3.33	0.0005*
Yaş x Laktasyon	2	3.37	0.0349*
Laktasyon x Genotip DGAT1	3	0.77	0.5436

* $P < 0.05$ önemli

DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizminin süt verim özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı birçok çalışmada, lizin kodlayan K alleleline sahip hayvanların sütünde özellikle yağ veriminin yüksek olduğu, ancak protein ve süt veriminin düşük olduğu sonucuna varılmıştır (Spelman vd 2002, Thaller vd 2003, Hori-Oshima ve Barreras-Serrano 2003, Komisarek vd 2004, Pareek vd 2005, Nowacka-Woscuk vd 2008, Barbosa da Silva vd 2010, Cerit vd 2014, Pirzad vd 2014). Yapılan bu araştırmalarda, K allelinin süt verim özellikleri üzerindeki etkileri istatistiki olarak önemli bulunurken, Nowacka-Woscuk vd (2008), K allelinin yağ verimi üzerinde ve Spelman vd (2002) ise protein verimi üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir.

A allelinin süt ve protein veriminde önemli bir etkiye sahip olduğu, buna karşın yağ içeriğinin ise düşük olduğu bildirilmiştir (Winter vd 2002, Thaller vd 2003, Grisart vd 2004, Kaupe vd 2004, Nowacka-Woszuk vd 2008, Cerit vd 2014, Pirzad vd 2014). Ayrıca, Cerit vd (2014) A allelinin, K allelinin süt verimliliğine etkisini azalttığını ya da engellediğini bildirmişlerdir.

Winter vd (2002), haplotip analizleri sonrasında yüksek süt yağı içeriğini kodlayan lisin allelinin (K alleli) atasal olduğunu bildirmişlerdir. DGAT1 gen bölgesinin süt yağı için QTL olabileceğine dair bir kanıt bulamamışlar, ancak K allelinin yüksek süt yağı içeriği ile ilişkili olduğunu söyleyen diğer çalışmalara teoride katıldıklarını bildirmişlerdir.

DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizmi için, gözlenen heterozigotluk (Ho) ve beklenen heterozigotluk (He) değerleri POPGENE paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Mevcut çalışmada Ho değeri (0.5416) daha önce yapılan bazı çalışmalara kıyasla daha yüksek bulunurken, He değeri (0.4412) ise yakın değerlerde bulunmuştur (Cerit ve Dümen 2015, Ünal vd 2015).

5. SONUÇ

Araştırmada, Antalya çevresinde yetiştirilen Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği (TDSYMB)'ne kayıtlı 517 Siyah Alaca ineğin kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 gen lokusları bakımından genotipik yapıları PCR-RFLP metodu kullanılarak belirlenmiştir.

İncelenen popülasyonun, kappa-kazein, β -laktoglobulin, prolaktin ve DGAT1 lokusları bakımından gen ve genotip frekanslarının dağılımı kontrol edilmiştir. Genotipleri tespit edilen 517 Siyah Alaca ineğin, kayıtlı olduğu işletme, laktasyon sayıları ve süt verim kayıtları incelenerek ilişki analizleri yapılmıştır. Çizelge 4.2 'ye bakıldığında Hardy-Weinberg dengesinde olan bu popülasyonda lokusların hepsinde gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, mevcut popülasyon için yapay tohumlamada kullanılan boğaların farklı genotiplere sahip olması ile açıklanabilir.

Çalışma kapsamında, Antalya yöresindeki Siyah Alaca sığır ırkında kappa-kazein geni *HinfI* polimorfizmi incelendiğinde, A allelinin (0.8279) B alleleline (0.1721) kıyasla oldukça yaygın olduğu görülmektedir. Kappa-kazein geninin *HinfI* polimorfizmi için yapılan analizler sonrasında, tespit edilen genotip farklılıklarının süt verimine bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Bununla birlikte, beklenildiği gibi işletmeler ve laktasyonlar arası farklılığın önemli olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Ayrıca laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının da önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Bkz. Çizelge 4.5). Daha önce yapılan çalışmaların ışığı altında, kappa-kazein geninin özellikle B allelinin peynir üretimindeki olumlu etkisinin, seleksiyon çalışmalarında göz önünde bulundurmanın faydalı olacağı düşünülmektedir.

Mevcut popülasyonda, β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi incelendiğinde, A (0.4662) ve B allellerinin (0.5338) birbirine yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir. SAS programı analizleri sonucunda ise, β -laktoglobulin geninin *HaeIII* polimorfizmi ile elde edilen genotip farklılıklarının süt verimine herhangi bir etkisinin olmadığı ($P>0.05$) (Bkz. Çizelge 4.8), diğer yandan işletmeler ve laktasyonlar arası farklılık ile laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Daha önceki çalışmalara bakıldığında (Ahmadi vd 2008, Heideri vd 2009, Mohammadi vd 2013), β -laktoglobulin genine ait genotip farklılıklarının süt kalite ve kompozisyonuna etkisi olabileceği görülmektedir, bu nedenle β -laktoglobulin geninin süt sığırı yetiştiriciliğinde marker olarak kullanılabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Prolaktin geni *RsaI* polimorfizminin incelendiği Siyah Alaca sığır ırkında, A allelinin oldukça yaygın olduğu tespit edilmiştir. A allel frekansı 0.8762 ve B allel frekansı 0.1238 olarak belirlenmiştir. SAS programı analizleri sonrasında, prolaktin geninin *RsaI* polimorfizmi sonucu tespit edilen genotip farklılıklarının süt verimine etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Bkz. Çizelge 4.11). Beklenildiği gibi, işletmeler ve laktasyonlar arası farklılıklarla birlikte, laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksiyonlarının önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$) (Bkz. Çizelge 4.11). Mevcut çalışmada, B allelinin süt verimine etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir, ancak BB genotipine sahip olan hayvanlarının sayısının çok az olması gözden

kaçırılmamalıdır. Süt sığırı yetiştiriciliğinde yapılacak seleksiyon çalışmalarında, elde edilen bu bilginin değerlendirilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizmi sonucu 3 genotip (KK, KA ve AA) belirlenebilmiştir. Siyah Alaca sığır ırkında lizin varyantının (K alleli) alanin varyantına (A alleli) kıyasla oldukça yaygın olduğu bu çalışmada, K allelinin allel frekansı 0.6441 ve A allelinin frekansı ise 0.3559 olarak hesaplanmıştır. Beklenildiği üzere, işletmeler ve laktasyonlar arası farklılıklarla birlikte, laktasyon x işletme ve yaş x laktasyon interaksyonlarının önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Bkz. Çizelge 4.14). Ancak, bu gene ait genotip farklılıklarının süt verimine herhangi bir etkisi tespit edilememiştir ($P > 0.05$). DGAT1 geninin lizin kodlayan K alleleline sahip hayvanların sütünde özellikle yağ veriminin yüksek olduğu, ancak protein ve süt veriminin düşük olduğu sonucuna varılan bildiriye karşın (Thaller vd 2003, Hori-Oshima ve Barreras-Serrano 2003, Komisarek vd 2004, Pareek vd 2005, Nowacka-Woszuk vd 2008, Barbosa da Silva vd 2010, Cerit vd 2014, Pirzad vd 2014) mevcut çalışmada, DGAT1 geninin *CfrI* polimorfizminin süt verimine etkisinin önemli olmadığı tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.14).

DNA'ya dayalı PCR-RFLP gibi yöntemlerin kullanımı, cinsiyet gözetmeksizin erken yaşlarda genotipleri tanımlama imkânını sağlamaktadır. Kullanılan bu yöntemler sonucunda, süt protein varyantlarına bakılarak istenilen özellikte yüksek verimli hayvanların erken yaşta tanımlanarak damızlık değer hesaplamalarında bir araç olarak kullanılması mümkün olmaktadır. Gerek yerli ırklarımızın gerekse Türkiye'de yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan kültür ırklarının süt proteinlerinin genetik varyasyonunun belirlenmesi ve verimle ilişkilendirilmesi seleksiyon çalışmalarında güçlü bir etken olabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, ülkemizde süt protein polimorfizmi ve bu polimorfizm ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmaların sayısının artırılması gerekmektedir.

Sonuç olarak elde edilen polimorfik sistemlere ait fenotiplerden seleksiyonda yararlanabilme olanaklarının araştırılması gerekmektedir. Bu bağlamda, süt yetiştiriciliğinde, damızlıkta kullanılacak inek ve boğa adaylarının söz konusu gen bölgeleri bakımından genetik yapılarının önceden belirlenmesi ve ona göre seçilmesiyle, süt işleme teknolojisine önemli katkılar sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

- AHMADI, M., MOHAMMADI, Y., DARMANI KUHI, H., OSFOORI, R. and QANBARI, S. 2008. Association of milk protein genotypes with production traits and somatic cell count of Holstein cows. *Journal of Biological Sciences*, 8 (7): 1231-1235.
- AKMAN, N. ve KUMLU, S. 2004. Türkiye Siyah Alaca populasyonunda 305-gün süt verimine ait genetik ve fenotipik parametreler. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 10 (3): 281-286.
- AKYÜZ, B., AĞAOĞLU, Ö.K. and ERTUĞRUL, O. 2012. Genetic polymorphism of kappa-casein, growth hormone and prolactin genes in Turkish native cattle breeds. *International Journal of Dairy Technology*, 65 (1): 38-44.
- AKYÜZ ve ÇINAR. 2014. Analysis of prolactin and kappa-casein genes polymorphism in four cattle breeds in Turkey. *Ann. Anim. Sci.*, 14 (4): 799-806.
- ALEXANDER, L.J., STEWART, A.F., MACKINLAY, A.G., KAPELINSKAYA, T.V., TKACH, T.M. and GORODETSKY, S.I. 1988. Isolation and characterization of the bovine kappa-casein gene. *European Journal Biochemistry*, 178 (2): 395-401.
- ALFONSO, E., ROJAS, R. HERRERA, J.G., ORTEGA, M.E., LEMUS, C., CORTEZ, C., RUIZ, J., PINTO, R. and GOMEZ, H. 2012. Polymorphism of the prolactin gene (PRL) and its relationship with milk production in American Swiss cattle. *African Journal of Biotechnology*, 11 (29): 7338-7343.
- ALIPANAH, M., KALASHNIKOVA, L.A. and RODIONOV, G.V. 2008. Kappa-casein and PRL-*RsaI* genotypic frequencies in two Russian cattle breeds. *Arch. Zootec.*, 57 (218): 131-138.
- ALPKENT, Z. ve GÖNCÜ, A. 2003. Peynir suyu ve peynir suyu proteinlerinin gıda, kozmetik ve tıp alanlarında kullanımı. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 15: 26-30.
- ANONİM 2013. TİGEM, Hayvancılık Sektör Raporu 2013. <http://tarim.kalkinma.gov.tr/wp-content/uploads/2014/10/2013-TIGEM-HAYVANCILIK-SEKTOR-RAPORU.pdf>. [son erişim tarihi: 06. 09. 2015]
- ANONİM 2015. TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002. [Son erişim tarihi: 09.08.2015]
- ANONİM 2016a. NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/281728>. [Son erişim tarihi: 12.05.2016]
- ANONİM 2016b. NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/280838>. [Son erişim tarihi: 12.05.2016]

- ANONİM 2016c. NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/280901>. [Son erişim tarihi: 12.05.2016]
- ANONİM 2016d. NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/282609>. [Son erişim tarihi: 12.05.2016]
- ASCHAFFENBURG, R. and DREWRY, J. 1955. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cows' milk. *Nature*, 176: 218-19.
- ATAMER, M. 2006. Sütün Bileşimi ve Besin Değeri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara, www.amasyadsyb.org. [Son erişim tarihi: 01.12.2016]
- AZEVEDO, A.L.S., NASCIMENTO, C.S., STEINBERG, R.S., CARVALHO, M.R.S., PEIXOTO, M.G.C.D., TEODORO, R.L., VERNEQUE, R.S., GUIMARAES, S.E.F. and MACHADO, M.A. 2008. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genetics and Molecular Research*, 7 (3): 623-630.
- BAL, O. ve AKYÜZ, B. 2014. Halk elinde yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara sığır ırklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 7-13.
- BALCIOĞLU, M.S., KARSLI, T., ŞAHİN, E., ULUTAŞ, Z. ve AKSOY, Y. 2014. Türkiye'de yetiştirilen bazı yerli koyun ırklarında Kalpastatin (Cast) geni polimorfizminin PCR-RFLP yöntemiyle belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 4:427-433.
- BARBOSA DA SILVA, M.V.G., SONSTEGARD, T.S., THALLMAN, R.M., CONNOR, E.E., SCHNABEL, R.D. and VAN TASSELL, C.P.V. 2010. Characterization of DGAT1 allelic effects in a sample of North American Holstein cattle. *Animal Biotechnology*, 21: 88-99.
- BARENDSE, W., VAIMAN, D., KEMP, S.J., SUGIMOTO, Y., ARMITAGE, S.M., WILLIAMS, J.L., SUN, H.S., EGGEN, A., AGABA, M., BAND, M., BISHOP, M.D., BUITKAMP, J., BYRNE, K., COLLINS, F., COOPER, L., COPPIETERS, W., DENYS, B. and DRINKWATER, R.D. 1997. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mamm Genome*, 8: 21-28.
- BARTONOVA, P., VRTKOVA, I., KAPLANOVA, K. and URBAN, T. 2012. Association between CSN3 and BCO2 gene polymorphisms and milk performance traits in the Czech Fleckvieh cattle breed. *Genetics and Molecular Research*, 11 (2): 1058-1063.
- BATISTA, J., ZUNIGA, B.A., HORES, A.R., DOMINGUEZ, R.N. and VALVERDE, R. R. 2015. Polymorphism of three milk protein genes in Mexican Jersey cattle. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18: 1-4.

- BIASE, F.H., GAMERO, A.D.V., BEZERRA, L.A.F., ROSA, A.J.M., LOBO, R.B. and MARTELLI, L. 2005. Analysis of restriction fragment length polymorphism in the kappa-casein gene related to weight expected progeny difference in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 28 (1): 84-87.
- BOZTEPE, S., KARABACAK, A., CUFADAR, Y., YILDIRIM, İ. ve AYTEKİN, İ. 2014. Genel Hayvan Yetiştirme. Desen Ofset Matbaacılık, Konya, 303 s.
- BRYM, P., KAMINSKI, S. and WOJCIK, E. 2005. Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. *J Appl Genet*, 45: 179–185.
- CASES, S., SMITH, S.J., ZHENG, Y.W., MYERS, H.M., LEAR, S.R., SANDE, E., NOVAK, S., COLLINS, C., WELCH, C.B., LUSIS, A.J., ERICKSON, S.K. and FARESE, R.V. 1998. Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95 (22): 13018-23.
- CARSAI, C.T., ALTEANU, A.V.B., VLAIC, A. and CHAKIROU, O. 2011. The study of prolactin *RsaI* polymorphism in Romanian Grey Steppe cattle breed. *Bulletin UASVM, Animal Science and Biotechnologies*, 68: 1-2.
- CERİT, H., DÜMEN, E. and SEZGİN, F.H. 2014. Comparison of DGAT1 K232A polymorphism and its effects on some milk quality parameters in Holstein and Native Black race cattles. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 20 (2): 301-305.
- CERİT, H. and DÜMEN, E. 2015. Identification of K232A mutant allele of DGAT1 gene encoding diacylglycerol acyltransferase enzyme. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 12 (3): 171-176.
- CONTRERAS, V.I.P., JARAMILLO, D.L.L., BRACAMONTE, G.M.P., GONZALEZ, J.C.M. and RINCON, A.M.S. 2011. Convenient genotyping of nine bovine K-casein variants. *Electronic Journal of Biotechnology*, ISSN: 0717-3458.
- DAYIOĞLU, H. ve DOĞRU, Ü. 1991. Esmer, Siyah-Alaca ve Sarı-Alaca sığır sütlerinde belirlenen beta-laktoglobulin fenotipleriyle laktasyon özellikleri arasındaki ilişkiler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (2): 170-180.
- DEMİRCİ, N. ve AKYÜZ, B. 2014. Halk elinde yetiştirilen Simental, İsviçre Esmeri, Güney Anadolu Kırmızısı ve Boz ırk sığırlarında beta-laktoglobulin gen polimorfizminin PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9 (1): 23-29.
- DİNÇ, H., ÖZKAN, E., KOBAN, E. and TOGAN, I. 2013. Beta-casein A1/A2, kappa-casein and beta-lactoglobulin polymorphisms in Turkish cattle breeds. *Archiv Tierzucht*, 56 (65): 650-657.

- DOĞRU, U., ÖZDEMİR, M. and ERCİŞLİ, S. 2008. Genetic polymorphism in kappa-casein gene detected by PCR-RFLP in Cattle. *J. Appl. Anim. Res.*, 33: 65-68.
- DOKSO, A., IVANKOVIC, A., BRKA, M. ZECEVIC, E. and IVKIC, Z. 2014. Effect of β -lactoglobulin, κ -casein and α s1-casein polymorphic allelic variant on milk production traits in Croatian population of Holstein, Simmental and Brown cattle breed. *Kolicina i kvaliteta mlijeka u Hrvatskoj, Mljekarstvo*, 64 (1): 49-56.
- DÜZGÜNEŞ, O., ELÇİN, A. ve AKMAN, N. 1991. Hayvan Islahı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1212. Ankara.
- DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T. ve GÜRBÜZ, F. 1983. İstatistik Metodları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 861, Ders Kitabı, Ankara, 229 s.
- DYBUS, A. 2002. Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with production traits in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 20 (4): 203-212.
- DYBUS, A., GRZESIAK, W., KAMIENIECKI, H., SZATKOWSKA, I., SOBEK, Z. BLASZCZYK, P., PIATKOWSKA, C.E., ZYCH, S. and MUSZYNSKA, M. 2005. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 48 (2): 149-156.
- ECHEVERRI, J., SALDAMANDO, C.I. and LOPEZ-HERRERA, A. 2015. Genetic structure analysis of a Holstein cow population in Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuaria*, 28: 54-63.
- ELMACI, C., ÖNER, Y. and BALCIOĞLU, M.S. 2006. Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene in native Turkish sheep breeds. *Biochemical Genetics*, 44 (7): 379-384.
- EWAN, H. and ZEMEL, M. B. 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential aminoacids: mechanisms underlying health benefits for active people. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14 (5): 251-258.
- FARHADI, G., BEIGI NASSIRI, M.T., FAYAZI, J. and ROSHANFEKR, H. 2014. Investigation of kappa casein gene polymorphism by PCR-RFLP in Najdi cattle breed population in Khuzestan province. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4 (2): 281-284.
- FONTANESI, L., CALO, D.G., GALIMBERTI, G., NEGRINI, R., MARINO, R., NARDONE, A., AJMONE-MARSAN, P. and RUSSO, V. 2014. A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle. *International Foundation for Animal Genetics*, 45: 576-580.

- FOX, P.F. and MCSWEENEY, P.L.H. 1998. Milk proteins: general and historical aspects. In: P.F. Fox, P.L.H. McSweeney (Editors), *Advanced Dairy Chemistry*, Springer, 1346 s.
- GHAFOOR, A., RIAZ, M.N., ZAHUR, A.B., ABBAS, N., YOUSAF, M., SHAH, A., ISHAQ, F. and SULEMAN, M. 2015. K-CN gene polymorphism in Nili-ravi buffalo, Achai and Sahiwal cattle of Pakistan. *International Journal of Dairy Technology*, 68 (1): 105-110.
- GHASEMI, N., ZADEHRAHMANI, M., RAHIMI, G. and HAFEZIAN, S.H. 2009. Associations between prolactin gene polymorphism and milk production in montebeliard cows. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 1 (3): 48-51.
- GRISART, B., FARNIR, F., KARIM L., CAMBISANO, N., KIM, J., KVASZ, A., MNI, M., SIMORI, P., FRERE, J., COPPIETERS, W. and GEORGES, M. 2004. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 2308-2403.
- GÜRCAN, E.K. 2011. Association between milk protein polymorphism and milk production traits in black and white dairy cattle in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 10 (6): 1044-1048.
- HEIDARI, M., AHANI AZARI, M., HASANI, S., KHANAHMADI, A. and ZEREHDARAN, S. 2009. Association of genetic variants of β -lactoglobulin gene with milk production in a herd and a superior family of Holstein cattle. *Iranian Journal of Biotechnology*, 7 (4): 254-257.
- HERNANDEZ-LEDESMA, B., RECIO, I. and AMIGO, L. 2008. β -Lactoglobulin as source of bioactive peptides. *Amino Acids*, 35: 257–265.
- HRISTOV, P., NEOV, B., SBIRKOVA, H., TEOFANOVA, D., RADOSLAVOV, G. and SHIVACHEV, B. 2014. Genetic polymorphism of kappa casein and casein micelle size in the Bulgarian Rhodopean cattle breed. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 30 (4): 561-570.
- HORI-OSHIMA, S. and BARRERAS-SERRANO, A. 2003. Relationships between DGAT1 and Pit-1 genes polymorphism and milk yield in Holstein cattle. *J Anim Sci*, 81 (1): 252.
- ILIE, D.E., SALAJEANU, A., MAGDIN, A., NEAMȚ, R. and VINTILA, I. 2010. Early determination of animals with favorable genes in milk production for profitable private farms. *Animal Science and Biotechnologies*, 43 (1): 279-282.
- KAPLAN, S. and BOZTEPE, S. 2010. The determination of prolactin gene polymorphism using PCR-RFLP method within indigenous Anatolian water

buffalo and Brown Swiss. 2nd International Symposium on Sustainable Development, Saraybosna.

- KARAGÖZLÜ, C. ve BAYARER, M. 2004. Peyniraltı suyu proteinlerinin fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, No: 2, s. 197 – 207.
- KARIMI, K., NASSIRI, M.T.B., MIRZADEH, K., ASHAYERIZADEH, A., ROUSHANFEKR, H. and FAYYAZI, J. 2009. Polymorphism of the β -lactoglobulin gene and its association with milk production traits in Iranian Najdi cattle. Iranian Journal of Biotechnology, 7 (2): 82-85.
- KARSLI, T., ŞAHİN, E., KARSLI, B.A., ALKAN, S. and BALCIOĞLU, M.S. 2011. Identification of alleles for factor XI (FXID) and uridine monophosphate synthase (DUMPS) deficiencies in Holstein cows reared in Antalya, Kafkas Univ Vet Fak Derg, 17 (3): 503-505.
- KAUPE, B., WINTER, A., FRIES, R. and ERHARDT, G. 2004. DGAT1 polymorphism in bos indicus and bos taurus cattle breeds. Journal of Dairy Research, 71: 182-187.
- KAYGISIZ, A. and DOĞAN, M. 1999. Siyah Alaca ineklerde süt protein polimorfizminin genetiği ve süt verim özellikleriyle ilişkisi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23 (3): 447-454.
- KELLY, P.A., DJIANE, J., POSTEL-VINAY, M.C. and EDERY, M. 1991. The prolactin/growth hormone receptor family. Endocrine Review, 12: 235-251.
- KEPENEK, E.Ş. 2007. Polymorphism of prolactin (PRL), diacylglycerol acyltransferase (DGAT-1) and bovine solute carrier family 35 member 3 (SLC35A3) genes in native cattle breeds and its implication for Turkish cattle breeding. Thesis, Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, 68 p.
- KHATAMI, S.R., LAZEBNY, O.E., MAKSIMENKO, V.F. and SULIMOVA, G.E. 2005. 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, 41 (2): 167-173.
- KHAIZARAN, Z.A. and AL-RAZEM, F. 2014. Analysis of selected milk traits in Palestinian Holstein-Friesian cattle in relation to genetic polymorphism. J. Of Cell and Animal Biology, 8 (5): 74-85.
- KOMISAREK, J., WASKOWICZ, K., MICHALAK, A. and DORYNEK, Z. 2004. Effects of DGAT1 variants on milk production traits in Jersey cattle. Animal Science Papers and Reports, 22 (3): 307-313.

- KUCEROVA, J., MATEJICEK, A., JANDUROVA, O.M., SORENSEN, P., NEMCOVA, E., STIPKOVA, M., KOTT, T., BOUSKA, J. and FRELICH, J. 2006. Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech Journal Animal Science*, 51(6): 241–247.
- KUMLU, S. 1999. *Damızlık ve Kasaplık Sığır Yetiştirme*. Setma Matbaacılık, Ankara, 166 s.
- LACORTE, G.A., MACHADO, M.A., MARTINEZ, M.L., CAMPOS, A.L., MACIEL, R.P., VERNEQUE, R.S., TEODORO, R.L., PEIXOTO, M.G.C.D., CARVALHO, M.R.S. and FONSECA, C.G. 2006. DGAT1 K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. *Genetics and Molecular Research*, 5 (3): 475-482.
- LASAGNA, E., LANDI, V., MARTUSCELLI, G. and PANELLA, F. 2007. Slaughtering traits on Marchigiana beef cattle with and without muscle hypertrophy. *Italian J. Animal Science*, 6 (1): 147.
- LAZEBNAYA, I.V., LAZEBNY, O.E., KHATAMI, S.R. and SULIMOVA, G.E. 2013. Use of the bovine prolactin gene (bPRL) for estimating genetic variation and milk production in aboriginal Russian breeds of *Bos taurus* L. In: G.M. Nagy B.E. Toth (Editors), *Prolactin*. Rijeka, Croatia: InTech, pp. 35-52.
- LE PROVOST, F., LEROUX, C., MARTIN, P., GAYE, P. and DJIANE, J. 1994. Prolactin gene expression in ovine and caprine mammary gland. *Neuroendocrinology*. 60 (3): 305-313.
- LEWIN, H.A., SCHMITT, K., HUBERT, R., VAN EIJK, M.J.T. and ARNHEIM, N. 1992. Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: genetic mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics*, 13: 44–48.
- LEVENE, H. 1949. On a matching problem arising in genetics. *Ann. Math. Stat.* 20: 91-94.
- LI, J. T., WANG, A.H., CHEN, P., LI, H.B., ZHANG, C.S. and DU, L.X. 2006. Relationship between the polymorphisms of 5' regulation region of prolactin gene and milk traits in Chinese Holstein dairy cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 19 (4): 459-462.
- LORETZ, C.A. and BERN, H.A. 1982. Prolactin and osmoregulation in vertebrates. *Neuroendocrinology*., 35 (4): 292-304.
- MAHAJAN, V., PARMAR, S.N.S., THAKUR, M.S. and SHARMA, G. 2012. Association of prolactin gene polymorphism with milk production traits in Frieswal cattle. *Journal of Animal Research*, 2 (2): 173-177.

- MASHHADI, M.H. NASSIRI, M.R., MAHMOUDI, M., RASTIN, M., KASHAN, N.E.J., TORSHIZI, R.V., TABASI, N. and NOORAEI, S.E. 2012. Polymorphism and sequencing of DGAT1 gene in Iranian Holstein bulls. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 2 (1): 63-67.
- MATE, J.I. and KROCHTA, J.M. 1994. β -Lactoglobulin separation from whey protein isolate on a large scale. *J. Food Science*. 59 (5): 1111-1114.
- MATEJICEK, A., MATEJICKOVA, J., NEMCOVA, E., JANDUROVA, O.M., STIPKOVA, M., BOUSKA, J. and FRELICH, J. 2007. Joint effects of CSN3 and LGB genotypes and their relation to breeding values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech J. Anim. Sci.*, 52 (4): 83-87.
- METİN, M. 2005. Süt Teknolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 33. İzmir, 802 s.
- MOHAMMADI, Y., ASLAMINEJAD, A.A., NASSIRI, M. and KOSHKOEI, A.E. 2013. Allelic polymorphism of K-casein, β -lactoglobulin and leptin genes and their association with milk production traits in Iranian Holstein cattle. *Journal of Cell and Molecular Research*, 5 (2): 75-80.
- MOLEE, A., BOONEK, L. and RUNGSAKINNIN, N. 2011. The effect of beta and kappa casein genes on milk yield and milk composition in different percentages of Holstein in crossbred dairy cattle. *Animal Science Journal*, 82: 512-516.
- MULLIS, K.B. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*, 262 (4) :56-65.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 70 (12): 3321-3323.
- NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York.
- NOWACKA-WOSZUK, J., NOSKOWIAK, A., STRABEL, T., JANKOWSKI, T. and SWITONSKI, M. 2008. An effect of the DGAT1 gene polymorphism on breeding value of Polish Holstein-Friesian sires. *Animal Science Papers and Reports*, 26 (1): 17-23.
- ÖĞÜNÇ, A.V. ve YALÇIN, A.S. 2011. Süt serumu proteinlerinin in vitro koşullardaki antioksidan etkileri. *Marmara Eczacılık Dergisi*, 15: 18-24.
- ÖNER, Y., PULLU, M., AKIN, O. ve ELMACI, C. 2011. Bursa bölgesinde yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca ırkı sığırlarda beta laktoglobulin (β -lg) ve büyüme hormonu (bGH) gen polimorfizmlerinin HaeIII ve MspI restriksiyon enzimleri kullanılarak incelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(3): 371-376.

- ÖNER, Y. and ELMACI, C. 2006. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *Journal of Dairy Technology*, 59 (3): 180-182.
- ÖZDİL, F., MEYDAN, H., YILDIZ, M.A. and HALL, H.G. 2011. Genetic diversity of Turkish honey bee populations based on RFLPs at a nuclear DNA locus. *Sociobiology*, 58: 719-731.
- ÖZDİL, F. and İLHAN, F. 2012. DGAT1-exon8 polymorphism in Anatolian buffalo. *Livestock Science*, 149: 83-87.
- PAL, S., WOODFORD, K., KUKULJAN, S. and Ho, S. 2015. Milk intolerance, Beta-Casein and lactose. *Nutrients*, 7: 7285-7297.
- PAREEK, C.S., CZARNIK, U., ZABOLEWICZ, T., PAREEK, R.S. and WALAWSKI, K. 2005. DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide polymorphism in Polish Black-and-White cattle. *J. Appl. Genet.*, 46 (1): 85-87.
- PATEL, R.K., CHAUHAN, J.B., SINGH, K.M. and SONI, K.J. 2007. Allelic Frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian crossbred (*Bos taurus* × *Bos indicus*) dairy bulls. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 31(6): 399-402.
- PIRZAD, M., ANSARI-MAHYARI, S. and EDRISS, M.A. 2014. Influence of the bovine acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase1 (DGAT1) K232A on milk production and somatic cell ccore Holstein cows. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2 (5): 1300-1306.
- POULSEN, N.A., BERTELSEN, H.P., JENSEN, H.B., GUSTAVSSON, F., GLANTZ, M., MANSSON, H.L., ANDREN, A., PAULSSON, M., BENDIXEN, C., BUITENHUIS, A.J. and LARSEN, L.B. 2013. The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds. *Journal Dairy Science*, 96 (8): 4830-4842.
- PRIBYL, J. 1995. A way of using markers for farm animal selection. *Czech Journal Animal Science*, 40 (8): 375-382.
- PRINZENBERG, E.M. and ERHARDT, G. 1999. Molecular genetic characterization of ovine β -lactoglobulin C allele and detection by PCR-RFLP. *J. of Animal Breeding and Genetics*, 116: 9-14.
- RACHAGANI, S., GUPTA, I.D., GUPTA, N. and GUPTA, S.C. 2006. Genotyping of β -lactoglobulin gene by PCR-RFLP in Sahiwal and Tharparkar cattle breeds. *BMC Genetics*, 7(31): 1-4.
- RANGEL, A.H.N., SALES, D.C., URBANO, S.A., GALVAO JUNIOR, J.G.B., ANDRADE NETO, J.C. and MACEDO, C.S. 2015. Lactose intolerance and

- cow's milk protein allergy. Food Science and Technology, Food Sci. Technol, 36 (2): 179-187.
- REN, D., MIAO, S., CHEN, Y., ZOU, C., LIANG, X. and LIU, J. 2011. Genotyping of the k-casein and β -lactoglobulin genes in Chinese Holstein, Jersey and Water Buffalo by PCR-RFLP. Journal of Genetics, 90 (1): e1-4.
- RICE, V.A., ANDREWS, F.N., WARWICK, E.J. and LEGATES, J.E. 1966. Breeding and improvement of farm animals. Sixth Edition. Mc Graw Hill Book Company, New York.
- RINCON, G., ARMSTRONG, E. and POSTIGLIONI, A. 2006. Analysis of the population structure of Uruguayan Creole cattle as inferred from milk major gene polymorphisms. Genetics and Molecular Biology, 29 (3): 491-495.
- RIPOLI, M.V., CORVA, P. and GIOVAMBATTITAI, G. 2006. Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods. Res Vet Sci, 80: 287–290.
- RIVERA, T.D., FLORES, C.L., VALDOVINOS, M.A.A., CHIPRES, D.R.S., GARCIA, J.G., MARTINEZ, K.M. and COVARRUBIAS, E.G. 2014. Polymorphisms in beta and kappa-casein are not associated with milk production in two highly technified populations of Holstein cattle in Mexico. The Journal of Animal & Plant Sciences, 24 (5): 1316-1321.
- ROHALLAH, A., MOHAMMADREZA, M.A. and SHAHİN, M.B. 2007. Kappa-casein gene study in Iranian Sistani cattle breed (*Bos indicus*) using PCR-RFLP. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10 (23): 4201-4294.
- ROJAS, I., ARANGUREN-MENDEZ, J., PORTILLO, M., VILLASMIL-ONTIVEROS, Y., RINCON, X. and CONTRERAS, G. 2010. Allelic frequency of beta-lactoglobulin in Limonero Creole cattle. Revista Científica, FCV-LUZ / 2: 176 – 180.
- RUSSELL, D.H. 1989. New aspects of prolactin and immunity: a lymphocyte-derived prolactin like product and nuclear protein kinase C activation. Trends in Pharmacological Science, 10: 40-44.
- SAS, Institute Inc. 2009. SAS/STAT User's guide, version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SCOTTI, E., FONTANESI, L., SCHIAVINI, F., LA MATTINA, V., BAGNATO, A. and RUSSO, V. 2010. DGAT1 p.K232A polymorphism in dairy and dual purpose Italian cattle breeds. Italian Journal of Animal Science, 9 (16): 79-82.
- SINGH, U., DEB, R., KUMAR, S., SINGH, R., SENGAR, G. and SHARMA, A. 2015. Association of prolactin and beta-lactoglobulin genes with milk production traits

- and somatic cell count among Indian Frieswal (HF X Sahiwal) cows. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 7: 38-42.
- SMITH, S.J., CASES, S., JENSEN, D.R., CHEN, H.C., SANDE, E., TOW, B., SANAN, D.A., RABER, J., ECKEL, R.H. and FARESE, R.V. 2000. Obesity resistance and multiple mechanisms of triglyceride synthesis in mice lacking DGAT. *Nature Genetics*, 25: 87-90.
- SODHI, M., MUKESH, M. MISHRA, B.P., PARVESH, K. and JOSHI, B.K. 2011. Analysis of genetic variation at the prolactin-RsaI (PRL-RsaI) locus in Indian native cattle breeds (*Bos indicus*). *Biochem Genet.*, 49 :39–45.
- SOYSAL, İ.M. 1983. Atatürk Üniversitesi koyun populasyonunun bazı kalıtsal polimorfik kan proteinleri bakımından genetik yapısı ve bu biyokimyasal karakterler ile çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkiler. Doktora tezi. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölüm, Erzurum.
- SPELMAN, R.J., FORD, C.A., MCELHINNEY, P., GREGORY, G.C. and SNELL, R.G. 2002. Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. *J. Dairy Sci.*, 85: 3514–3517.
- STRZALKOWSKA, N., KRZYZEWSKI, J. and RYNIEWICZ, Z. 2002. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cow's age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Anim. Sci. Paper Rep.*, 20: 21-35.
- ŞAHİN, E., KARSLI, T., ELMACI, C. and BALCIOĞLU, M.S. 2011. Beta-actoglobulin gene types in Turkish fat-tailed sheep breeds. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 17: 1031-1033.
- ŞAHİN, E., KARSLI, T., GALİÇ, A. and BALCOĞLU, M.S. 2013. Identification of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) and bovine citrullinaemia (BC) alleles in Holstein cows reared in Antalya region. *J App Anim Res*, 41: 56–60.
- TAHIRA, I., MAHMOOD, A., SAQLAIN, M., HANIF, N.Q. and RAJA, G.K. 2014. Study of β -lactoglobulin milk protein variants in Buffalo. *Pakistan J. Zoology*, 46(2): 549-552.
- THALLER, G., KUHN, C., WINTER, A., EWALD, G., BELLMANN, O., WEGNER, J., ZUHLKE, H. and FRIES, R. 2003. DGAT1 , a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Animal Genetics*, 34: 354–357.
- TSIARAS, A.M., BARGOULI, G.G., BANOS, G. and BOSCO, C.M. 2005. Effect of Kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *Journal Dairy Sciences*, 88: 327–334.

- TRUJILLO, A.J., JORDANA, J., GUAMIS, B., SERRADILLA, J.M. and AMILLS, M. 1998. El polimorfismo del gen de la caseína α 1 caprina y su efecto sobre la producción, la composición y las propiedades tecnológicas de la leche y sobre la fabricación y la maduración del queso. *Food Science Technology International*, 4: 217-235.
- UDDIN, R.M., BABAR, M.E., NADEEM, A., HUSSAIN, T., AHMAD, S., MUNIR, S., MEHBOOB, R. and AHMAD, F.J. 2013. Genetic analysis of prolactin gene in Pakistani cattle. *Mol Biol Rep*, 40: 5685–5689.
- ÜNAL, E.Ö., KEPENEK, E.Ş., DİNÇ, H., ÖZER, F., SÖNMEZ, G., TOĞAN, İ.Z. and SOYSAL, M.İ. 2015. Growth hormone (GH), prolactin (PRL), and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene polymorphisms in Turkish native cattle breeds. *Turkish Journal of Zoology*, 39: 1-15.
- WALSTRA, P. and JENNESS, R. 1984. Dairy Chemistry and Physics. In: J. Willey and Sons, New York, 407 s.
- WALLIS, M. 1974. The primary structure of bovine prolactin. *The Federation of European Biochemical Societies Letter*, 44: 205–208
- WINTER, A., KRAMER, W., WERNER, F.A.O., KOLLERS, S., KATA, S., DURSTEWITZ, G., BUITKAMP, J., WOMACK, J.E., THALLER, G. and FRIES, R. 2002. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-coa:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 9300-9305.
- VIDOVIC, V., LUKAC, D., NEMES, Z. and TRIVUNOVIC, S. 2014. β -lactoglobulin genetic variants in Serbian Holstein-Friesian dairy cattle and their association with yield and quality of milk. *Animal Science Papers and Reports*, 32 (2): 179-182.
- VIORICA, C., VLAIC, A. and GABOREANU, I. 2007. *Hinf*I polymorphism of k-casein and pit1 genes in Romanian Simmental cattle. *Zootehnie Biotehnologi*, 40 (1): 59-63.
- YALÇIN, A.S. 2006. Emerging therapeutic potential of whey proteins and peptides. *Curr Pharm Des.*, 12: 1637-1643.
- YEH, F.C., YANG, R.C., BOYLE, T.B.J., YE, Z.H. and MAO, J.X. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.

7. EKLER

Ek-1

7.1. Sığır Kappa-kazein geni

GenBank: AJ849456.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS AJ849456 874 bp DNA linear MAM 26-JUL-2016
 DEFINITION Bos taurus partial csn3 gene for kappa casein, exon 4.
 ACCESSION AJ849456
 VERSION AJ849456.1 GI:54114662
 KEYWORDS csn3 gene; kappa casein.
 SOURCE Bos taurus (cattle)
 ORGANISM [Bos taurus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata;
 Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria;
 Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Le Thi,T., Luu Quang,M., Nguyen Van,H., Pham Doan,L., Tran
 Thi Thu,T., Nguyen Trong,B. and Nguyen Dang,V.
 TITLE The polymorphism of the kappa casein gene fragment of some
 Vietnamese Bos taurus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 874)
 AUTHORS Nguyen Dang,V.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (29-SEP-2004) Nguyen Dang V., Director, Institute
 of Animal husbandary, Thuy Phuong, Tu Liem, Hanoi, 10000,
 VIETNAM
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..874/organism="Bos taurus"/mol_type="genomic
 DNA"/isolate="18Coc"/db_xref="taxon:[9913](#)"/tissue_
 type="ear tissue"/country="Viet
 Nam:Vinhphu"/note="breed: Coc"
[gene](#) <1..>454 /gene="csn3"
[mRNA](#) <1..>454 /gene="csn3" /allele="B"
[exon](#) <1..>454 /gene="csn3" /number=4 /allele="B"
[CDS](#) <1..420 /gene="csn3" /codon_start=1
 /allele="B"/product="kappa
 casein"/protein_id="[CAH60992.1](#)"/db_xref="GI:54114

663"/db_xref="GOA:[Q5ZET1](#)"/db_xref="InterPro:[IPR000117](#)"/db_xref="UniProtKB/TrEMBL:[Q5ZET1](#)"

/translation="VLSRYPSYGLNYYQKPVALINNQFLPYPYAKPAAVRSQAQILQWQVLSNTVPAK
SCQAQPTTMARHPHPLSFMAIPPKNQDKTEIPTINTIASGEPTSTPTTEAVESTVATLEASPEVIESP
PEINTVQVTSTAV"




ORIGIN

```

1 gtgctgagta ggtatcctag ttatggactc aattactacc aacagaaacc agttgcacta
61 attaataatc aatttctgcc ataccatata tatgcaaagc cagctgcagt taggtcacct
121 gcccaaattc ttcaatggca agttttgtca aatactgtgc ctgccaaagc ctgccaaagc
181 cagccaacta ccatggcagc tcaccacacac ccacattt[at catttatggc cattccacca
241 aag]aaaaatc aggataaaac agaaatccct accatcaata ccattgctag tggtgagcct
301 acaagtacac ctaccaccga agcagtagag agcactgtag ctactcta[ga agcttc]tcca
361 gaagttattg agagcccacc tgagatcaac acagtccaag ttacttcaac tgcggtctaa
421 aaactctaag gagacatcaa agaagacaac gcaggtaaat aagcaaaatg aataacagcc
481 aa[gattca]tg gacttattaa taaaatcgta acatctaaac tagcgtagat ggataaatta
541 aa[tctgttac agagaaggcg aaatgggc]ta attataactt acatttgctg gttctttatc
601 atgtatatac tagattcttt cccaacaaga aagttttaa atattttaca aaatgagtaa
661 aaattgcaga ttttattatt aaacctttt caacaattgg tatactcctt gaatctatta
721 gttttatfff acttctgttc acacacaaaa acagtaaagt acagtgtcca ctcagatfff
781 ttcttatctc aaaaatattg tttcttagaa aaaaatcata taggatatga gtttaaatat
841 attttaattg tataccagtg ttggtgcact ctac

```

//

 Forward primer
 Reverse primer
 *Hinf*I enzimi kesim bölgesi

Ek-2

7.4. Sığır β -laktoglobulin geni

GenBank: X14710.1

[FASTA Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS X14710 7877 bp DNA linear MAM 20-MAY-1992

DEFINITION B.taurus beta-lactoglobulin gene.

ACCESSION X14710

VERSION X14710.1 GI:127

KEYWORDS Alu repetitive sequence; beta-lactoglobulin; transport protein.

SOURCE Bos taurus (cattle)

ORGANISM [Bos taurus](#)
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.

REFERENCE 1

AUTHORS Alexander,L.J., Beattie,C.W., Hayes,G., Pearse,M.J., Stewart,A.F. and Mackinlay,A.G.

TITLE Isolation and Characterization of the Bovine Beta-lactoglobulin gene

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 7877)

AUTHORS Mackinlay,A.G.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (16-MAR-1989) Mackinlay A.G., University of New South Wales, School of Biochemistry, P.O.Box 1, Kensington, N.S.W. 2033, Australia

COMMENT F100.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..7877 /organism="Bos taurus"/mol_type="genomic DNA"/db_xref="taxon:9913"/clone="lambda F100"/tissue_type="calf thymus"/clone_lib="lambda EMBL3A"

[regulatory](#) 2143..2148 /regulatory_class="TATA_box"

[exon](#) 2171..2305 /product="beta-lactoglobulin"

/note="exon 1"

[exon](#) 2975..3114 /product="beta-lactoglobulin"

/note="exon 2"

[exon](#) 3976..4049 /product="beta-lactoglobulin"

/note="exon 3"


```

    exon                5167..5277 /product="beta-lactoglobulin"
/note="exon 4"
    exon                5953..6057 /product="beta-lactoglobulin"
/note="exon 5"
    exon                6279..6321 /product="beta-lactoglobulin"
/note="exon 6"
    exon                6711..6893 /product="beta-lactoglobulin"
/note="exon 7"
    regulatory         6869..6874
/regulatory_class="polyA_signal_sequence"
    polyA_site         6893      /note="polyA site"
    repeat_region     7372..7877
                                /note="artiodactyl Alu-like repetitive sequence"

```

ORIGIN

```

    1 ggccttgaa aagattgtcc agcctccctc ccatagtggc cagtgccagc tgccccaggc
   61 cagaggtgct ttatttccgt ctctctctct ggatggtatt ctctggaagc tgaaggttcc
  121 tggaaagtat gaatagcttt gccatgaagg gcatggtttg tggcatggtt tcacaggaac
  181 ttgggagacc ctgcagctcg gacgttcctg aggttggtgg caccctgatt tcctaagctc
  241 gctggggaac ggggtgctac ttctccctgg ctgacctccc tctgctctcg atcaccagct
  301 tctgagagca gagtggtgct gggggcacag cctctcgcat ctgaccttgg tgttcaaacc
  361 acccatgctg gtgttcgggg ggccacctat ggggaaggct cctcactgca ggggtgcccc
  421 tgtccccgta gagatcagaa gtcccagtct ggatgtcgaa tggccgagct cctccagag
  481 gctccaggga gggatccttg cccctccgc cgccgcctcc agctcctggt gccgcacct
  541 tgggcccgat ctcgtagacg cctcagtcca gtctctgcct ccgtgttcac tggcattctc
  601 cccatgtccc ctctgtgtcc ccgttttctc tcacaaggac accggacata agattagccc
  661 ccgttccagc atcacctgaa cagctcacat ctgtaaagac ctgattcca aacaagattc
  721 catcctgaag ttctgtgtgg acgtgagttc tggagcgacg cccttcaacc ccatcacagc
  781 ttgcggttca tcgcaaaaca cggaacctgg gatttatcgt aaaaccaggg ttcttctgta
  841 aacctgagc ttcgaggctt gttgcaagaa ttaaagggtc taatacagat cagggcaagg
  901 accgaagctg gccaaagctc ctctttccat cacagaaaag ggaggtctgg gggcgccggg
  961 gggctctgct ccgtgggtgg gctctttctg gtacagtcac caacagtctc tccggaagg
 1021 aaaccagagg ccagagagca agccagagct agtctaggag atccctgagc ctccacccaa
 1081 gatgccgacc agccagcggg cccctggaa agaccctaca gtctaggggg ggaacaggag
 1141 ccgacccgcc agggccccgc tatcaggaga caccccaacc ttgctcctgt tcccctacc
 1201 cagtacgccc acccgacccc tgagatgagt ggtttacttg cttagaatgt caattgaagg
 1261 cttttgtacc ccctttgcca gtggcacagg gcaccacag cccgctgggt actgatgcc
 1321 atgtggactc agccaggagg actgtcctgc gccctccctg ctggggcccc ctccatactc
 1381 agcgacacac ccagcaccag cattcccacc actcctgagg tctgaaggca gctcgtgtg
 1441 gtctgagcgg tgcggaggga agtgccctgg gagatttaa atgtgagagg tgggaggtgg
 1501 gaggttgggt cctgtaggcc tcccacccc acgtgcctgc acggagccct agtgctactc
 1561 agtcatgccc ccgcagcacc cctcaggta ctttccatc ctgggggta ttatgactgt
 1621 tgtcattgtt gttgcctttt tgctacccta actgggcagc ggggtcctgc agagccctcg
 1681 atactgacca ggttcccccc tcggagctcg acctgaacc catgtcacc tcgccccagc




```

1741 ctgcagaggg tgaggtgact gcagagatac cctttacca aggccacagt cacatggttt
 1801 ggaggagatg gtgcccaagg cagaagccac cctccaggac acacctgccc ccagtgctgg
 1861 ctctgacctg tccttgtcta agaggctgac cccagaagtg ttcttggcgc tggcagccag
 1921 cctggacca gagcctggac accccctgcg cccccacttc tggggcgtac caggaaccgt
 1981 ccaggcccag agggggcctt cctgcttggc ctgcaatgga agaaggcctc ctattgtcct
 2041 cgtagaggaa gcaaccccag ggccaagga taggccaggg gggattcggg gaaccgctg
 2101 gctggggggc cggccgggc tggttggctg gccctcctcc tgtataaggc cccgagcccg
 2161 ctgtctcagc cctccactcc ctgcagagct cagaagcgtg accccagctg cagccatgaa
 2221 gtgcctcctg cttgccctgg ccctcacttg tggcgcccag gccctcattg tcaccagac
 2281 catgaagggc ctggatatcc agaaggttcg agggtgcccg ggtgggtggt gagttcagg
 2341 gctggctggg gagctgggccc tcagagacca agggaggctg tgacgtctgg gattcccatc
 2401 agtcagctag agccgcctga caaatcgccc gccacaggct tcaaccaggc ctttagtgtc
 2461 ttgcattctg gaggttggaa gctgcaatcc gggcatcggc ccagctggct tctcctgccc
 2521 ccaactctccg gggagcagac agccatcttc tccctgtgtc ctttgctgtc cctggtttcc
 2581 tcttctctgtg aggtcaccag gcctgctgga tccacgcccg cccacacagc ctcacgtaac
 2641 ctttctcatc tctttaaagg cgtgtctcc agtctgtgt tgaggttctg ggggttaatg
 2701 ggacacagtt cagcccctaa aagagtccgc tctgcccctc aaattttccc cacctccagc
 2761 tatggtctcc ccaagatcca aatgttgcca cgtgtgcccg ggctcatctg ggtccctctt
 2821 tgggctcaga gtgagtctgg ggagagcatt cctcagggtg ccgagttggg gggaggcatc
 2881 tcagggtctg ccaggccagg gtgggacaga gagccactg tggggctggg ggccccttcc
 2941 cgcccctgga gtgcagctca aggtccctcc ccagggtggc gggacttggg actccttggc
 3001 catggcggcc agcgacatct ccctgctgga cgcccagagt gccccctga gagtgtatgt
 3061 ggaggagctg aagcccacc ctgagggcga cctggagatc ctgctgcaga aatggtgggc
 3121 gtcccccca aaaaaagcat ggaacccca ctcccaggg atatggacc cccggggtg
 3181 ggtgcaggag ggaccagggc cccagggtg gggaacggg cttggagttt cctggtacc
 3241 ctggaggctc acccaaggct gcttatccag ggctttctct tcttttttt ccccaactt
 3301 ttattaattt gatgcttcag aacatcatca aacaaatgaa cacaaaacat cttttctgtt
 3361 aacttggag ggagataaaa atccactgaa gtggaaatgc ataggaaaga tacatacagt
 3421 aaggcaggta ttctgaattc gctgttagtt tgaggattac aaatgcactt gagcaacaga
 3481 gagacgtttt cattatttct cgttctgaac agctcagtat ctaaaatgaa caagatgtca
 3541 tggagacaaa gccggcgggg gagaggcccg tgtgaaggcc gctgggcgtg cagacctggg
 3601 tcctcggggc ccaggcagtt cccactacca gccctgtcca ccctcagacg ggggtcagag
 3661 tgcaggagag agctgggtgg gtgtggggca gagatgggga cctgaacccc aggactgcct
 3721 tttggggtgc ctgtgttcaa ggctctcccc aaccttttct ccctggctcc atctgacttc
 3781 tcctggccca tccaccgggt cacctgtggc cccagagggt acagtgagtg cagccaaggc
 3841 cggttggcca gccggccccc tatgccacg ccaccgcct ccagcccctc ctggggccgc
 3901 cttctgcccc tggccctcag ttcatactga tgaaaatggt ccatgcccgt ggctcagaaa
 3961 gcagctgtct ttcagggaga acggtgagtg tgctcagaag aagatcattg cagaaaaaac
 4021 caagatccct gcggtgttca agatcgatgg tgagtgtctg gtcccaggg gacgcccacc
 4081 acccccagg gactgtgggc aggtgcaggg ggctggcgtc agggcccag atgctaaggg
 4141 gctggtggtg atgaagacac tgccgtgcca cctgcttccc tggcctccct gccacctgcc
 4201 cggggccttg ggccggtggc cgtgggcagg tcccggctgg gcaggctctg caccaccagg
 4261 tgacaccgca gctctctttg ctgaggggtg ggtggtgctc ggggcccctca ggctgagctc

4321 aggaggtccc tgtgccacc caggggtaac cgagagccgc tgcccgtcc aggggtccag
 4381 gtgccccacg atcccagccc accccacggc tccttcatct cctgaagacg aactctgtcc
 4441 gccctcgctc attcacttgt ttgtcctaaa tccaagatga gaaagcttgc aggtggggtt
 4501 ggggttccat cagggcctgc ccttccgccc ggagcctgg gccacatctg cccttggcct
 4561 cttcaggact cactctgact ggaggcctg cactgactga tgccagggtg cccagcccag
 4621 ggtctcctgt gccatccggc tgcacggggt ttggatgctg gtccctgccc caagtgtccc
 4681 agacactgca gggcagctgg ggccaccgc aggcctcggc cagggagagc cccagctgcc
 4741 cccgctcagc gctgcccccc aacaattccc cagtccctcag gacgcatccc tcttcccttg
 4801 ctgggcagtg ttcagcccca cccgagatcg gggaaagcct atttcttgac cactccggtc
 4861 cctggggagg gggcctcag actcagtggg gagtgttccc aagtccagga ggtggtggag
 4921 ggtccctggc ggatccagag ttgggcttcc agagtgaggg cttcctgggc cccatgtgcc
 4981 tggcagtggc agcaggaag gggccacacc attttggggc tgggggatgc cagagggcgc
 5041 tccccacccc gtctcacca agtggtgacc cggggggagc cccgctggtt gtgggggggtg
 5101 ctgggggctg accagaaacc cccctcctgc tggaaactcac tttcctcccg tcttgatctc
 5161 ttccagcctt gaatgagaac aaagtcttgc **tgctggacac** **cgactacaaa** **aagtacctgc**
 5221 **tcttctgcat** **ggagaacagt** **gctgagcccg** **agcaaagcct** **ggcc**tgccag **tgccctgggtg**
 5281 **ggtgcccaacc** **ctggctgccc** **agggagacca** **gctgtgtggt** **cctcgtgca** **acgg****ggcc**gg
 5341 **gggggacggt** **gggagcagg** **agcttgattc** **ccaggaggag** **gagggatggg** **gggtccccga**
 5401 **gtcccgcag** **gagaggggtg** **tcatataccg** **ggagc**cggtg **tcctgggggc** **ctgtgggtga**
 5461 ctggggacgg gggccagaca cacagctgg gagacgggg gctgcagcgc tctgtgtga
 5521 ccatcacgat ggagccggcg gtcactatga atctaacagc ctttgitacc ggggagtttc
 5581 aattatttca tcaaataaga actcaggcac aaagctgtct tcaactgtc acgtcctgaa
 5641 aacaaatggc aggtgacatt ttccatgcca tagcagtgcc actgggcatt ttcagggccc
 5701 atgtgccagg agggcgtggg catcggcgag tggaggctcc tggccgtgtc agctggccca
 5761 gggggaggag gggaccaga cagccagagg tggggagcag gctttcccc tgtgacgctg
 5821 cagaccacc gactgcctt gggaggaagg ggagggact gggccaagg ggaagggcag
 5881 gtgtgctgga ggccaaggca gacctgaca ccacctgga gagcaggggt tgacccctgc
 5941 cggccccac agtcaggacc cggaggtgg acgacaggc cctggagaaa ttcgacaaa
 6001 ccctcaaggc cctgcccctg cacatccggc tgccttcaa cccaaccag ctggaggggtg
 6061 agcaccaggg ccccacctg ctctggggc aggaagccac cgggccagg accacctct
 6121 cccatggtga ccccagctc cccaggcctc cgggaggat ggagacgggg tgcagggccc
 6181 cgaggtggcc cctccccac cccctccca gctccctctg tctgggggtg tccagtccca
 6241 tctgacgct cccccgccac ggtctctcct cccccacaga gcagtgccac atctaggtga
 6301 gcccctgccc ggcctctggt ggtaagctgc ctgcccctgc ccacgtcctg ggacacaca
 6361 tggggtaggg gttcttgggt gggcccggga gccccatta ggccctgggg tccccgtag
 6421 gaatggctgg aagctgggt ccttctgga gactacagag cgggctggcc acatgctcgc
 6481 tcttgtgggg tgacctgtgt cctggcctca ctcacacgct gatctctcc acctccttc
 6541 tggcagacct aaggccaag gtggagggt caggaagtga cacctaagg ggaggtagg
 6601 ggggtccttc tcccaaagga ggggcccgtc tgaatccca gccacggaca ggctgccaag
 6661 ggtctggcag gtaccccagg aatcacagg gagccccatg tccatttcag agcccgggag
 6721 ccttggcccc tctggggaca gacgatgtca tccccgctg cccatcagg ggaccaggag
 6781 gaaccgggac cacattcacc cctcctggga cccagcccc tccagcccc tctggggccc
 6841 tctgcttgg ggccgtcct ccttcagcaa taaagcata aacctgtgt ctccctctg

6901 agtcttttctt g gatgatggg ccgggggtgg agaaggcccg ggacaggggtg gggagtggtc
6961 tggctcagag gatgatggta gggctgggat ccagggcgtc tgcattacag tcttgtgaca
7021 tctggggggcc cacacacatc tacggctctt tgaaactttc aggaaccagg tagggagtgc
7081 gcagagacat ctgccagtta acttggagtg ttcagtcaac acccaaactc gacaaaggac
7141 aggaagtgga aatggctgc tcttagtcta ataaatattg atatgaaaac tcaagttgct
7201 catggatcaa attatgcctt tttatgaatc cagccactac agtcgggtatc aaacttcatg
7261 tactcaaac gcactgatct tttctgtgct aaaatgaaat aaagagattt cccaagata
7321 caggagctgg gcaaaagagg tcacggttgg aaggggactt gttctgcaca cacagcaagg
7381 agatccagcc agtccatcct aaaggagatc agtcctgggt gttcattgga gggactgatg
7441 ttgaagctga aactccaata ctttggccac atgatgcgga gagctgactc atttgaaaag
7501 accctgatac tgggaaagat tgagggcagg aggagaaggg gatgacagag gatgagatgg
7561 ttggatggca tcaccgacaa aatggacatg ggtttgggtg gactccagga gttggtgatg
7621 gacagaaagg cctggcatgc tgcgggtccat ggggtcacia agagtgggac acgactgagc
7681 gactgaactg aactgaactg aatggaaaag aggtatacag caacgtgggg attttttaga
7741 taataagaat aatttacgca taacatagtg tatactcata tttatatata tacgtgaatg
7801 ctcaagtcaca ctcaagtcata tctgactctg tgacctatgg actgtagccc tccaggctcc
7861 ttctgtccac agaattc

//

 Forward primer
 Reverse primer
 HaeIII enzimi kesim bölgesi

Ek-3**7.3. Sığır PRL geni**

NCBI Reference Sequence: NM_173953.2

[FASTA Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS NM_173953 907 bp mRNA linear MAM 24-APR-2016

DEFINITION Bos taurus prolactin (PRL), mRNA.

ACCESSION NM_173953

VERSION NM_173953.2 GI:46810276

KEYWORDS RefSeq.

SOURCE Bos taurus (cattle)

ORGANISM [Bos taurus](#)
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata;
Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria;
Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.

REFERENCE 1 (bases 1 to 907)

AUTHORS Pratt SL, Calcaterra SM, Stowe HM, Dimmick MA, Schrick FN, Duckett SK and Andrae JG.

TITLE Identification of bovine prolactin in seminal fluid, and expression and localization of the prolactin receptor and prolactin-inducible protein in the testis and epididymis of bulls exposed to ergot alkaloids

JOURNAL Theriogenology 83 (4), 662-669 (2015)

PUBMED [25533929](#)

REMARK GeneRIF: The presence and localization of prolactin receptor are consistent with expression data reported for other species, and the presence of PIP and prolactin in seminal fluid is consistent with data generated in humans.

REFERENCE 2 (bases 1 to 907)

AUTHORS Lebedeva IY, Singina GN, Volkova NA, Vejlsted M, Zinovieva NA and Schmidt M.

TITLE Prolactin affects bovine oocytes through direct and cumulus-mediated pathways

JOURNAL Theriogenology 82 (8), 1154-1164 (2014)

PUBMED [25212395](#)

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..907/organism="Bos taurus"/mol_type="mRNA"/db_xref="taxon:[9913](#)"/chromosome="23"/map="23"

```

gene          1..907/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/note="prolactin"/db_xref="BGD:BT12480"/db_xref
              f="GeneID:280901"
misc_feature  38..40/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/note="upstream in-frame stop codon"
CDS          68..757/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/note="growth hormone
              A1"/codon_start=1/product="prolactin
              precursor"/protein_id="NP_776378.2"/db_xref="GI:46810
              277"/db_xref="BGD:BT12480"/db_xref="GeneID:280901"

/translation="MDSKGSQKGSRLLLLLLVSNLLLCQGVVSTPVCPNGPGNCQVSLRDLFDRAVMVS
HYIHDLSSSEMFNEFDKRYAQKGFITMALNSCHTSSLPTPEDKEQAQQTHHEVLMSLILGLLRSWNDPLY
HLVTEVRGMKGAPDAILSR AIEIEENKRLLEGMEMIFGQVIPGAKETEPYPVWSGLPSLQTKDEDARYS
AFYNLLHCLRRDSSKIDTYLKLLNCRIIYNNNC"

mat_peptide   158..754/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/product="prolactin"
misc_feature  233..235/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/experiment="experimental evidence, no
              additional details recorded"/note="Phosphoserine.
              {ECO:0000269|PubMed:8250856};propagated from
              UniProtKB/Swiss-Prot (P01239.1);phosphorylation
              site"
misc_feature  257..259/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/experiment="experimental evidence, no
              additional details recorded"/note="Phosphoserine.
              {ECO:0000269|PubMed:8250856};propagated from
              UniProtKB/Swiss-Prot (P01239.1); phosphorylation
              site"
misc_feature  425..427/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/experiment="experimental evidence, no
              additional details recorded"/note="Phosphoserine.
              {ECO:0000269|PubMed:8250856};propagated from
              UniProtKB/Swiss-Prot (P01239.1);phosphorylation
              site"
STS          389..565/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1;
              Prol"/standard_name="PRL"/db_xref="UniSTS:278963"
polyA_site   907/gene="PRL"/gene_synonym="GHA1; Prol"

```


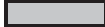

ORIGIN

```

1 tgcttggtg aggagccata ggacgagagc ttcttggtga agtgtgtttc ttgaaatcat
61 caccaccatg gacagcaaag gttcgtcgca gaaaggtcc cgctgctcc tgctgctggt

```


121 ggtgtcaaat ctactcttgt gccaggggtgt ggtctccacc cccgtctgtc ccaatgggcc
 181 tggcaactgc caggtatccc ttcgagacct gtttgaccgg gcagtcattg tgtcccacta
 241 catccatgac ctctcctcgg aatgttcaa cgaatttgat aaacggatg cccagggcaa
 301 agggttcatt accatggccc tcaacagctg ccatacctcc tcccttcta cccggaaga
 361 taaagaaca gccaacaga cccatcat **ga agtccttatg agcttgattc tt**gggttgc
 421 **g**cgctcctgg aatgaccctc tgtatcacct agtcaccgag **gtac**ggggta tgaaggagc
 481 **cccagatgct atcctatcga gggccataga gattgaggaa** **gaaaacaaac gacttctgga**
 541 **aggca**tggag atgatatttg gccaggttat tctggagcc aaagagactg agccctacc
 601 tgtgtggca ggactcccgt cctgcaaac taaggatgaa gatgcacgtt attctgctt
 661 ttataacctg ctccactgcc tgcgagggga ttcaagcaag attgacactt accttaagc
 721 cctgaattgc agaatcatct acaacaaca ctgctaagcc cacattccat cctatccatt
 781 tctgagatgg ttcttaatga tccattccct ggcaacttc tctgagctt atagcttgt
 841 aatgcatgct tggctctaat gggtttcac ttaaataaaa acagactctg tagcgatgc
 901 aaaatct

 Forward primer
 Reverse primer
 *RsaI* enzimi kesim bölgesi

Ek-4

7.4. Sığır DGAT1 geni

GenBank: AY065621.1

[FASTA Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS AY065621 8593 bp DNA linear MAM 11-FEB-2002

DEFINITION Bos taurus diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) gene, complete cds.

ACCESSION AY065621

VERSION AY065621.1 GI:18642597

KEYWORDS .

SOURCE Bos taurus (cattle)

ORGANISM [Bos taurus](#)
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata;
Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria;
Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.

REFERENCE 1 (bases 1 to 8593)

AUTHORS Grisart,B., Coppieters,W., Farnir,F., Karim,L., Ford,C., Berzi,P.,Cambisano,N., Mni,M., Reid,S., Simon,P., Spelman,R., Georges,M. And Snell,R.

TITLE Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition

JOURNAL Genome Res. 12 (2), 222-231 (2002)

PUBMED [11827942](#)

REFERENCE 2 (bases 1 to 8593)

AUTHORS Grisart,B., Coppieters,W., Farnir,F., Karim,L., Ford,C., Berzi,P., Cambisano,N., Mni,M., Reid,S., Simon,P., Spelman,R., Georges,M. And Snell,R.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (05-DEC-2001) Genetics, University of Liege, Bd de Colonster, 20, Bat B43, Liege 4000, Belgium

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..8593/organism="Bos taurus"/mol_type="genomic DNA"/db_xref="taxon:9913"/chromosome="14"

gene <1..8593/gene="DGAT1"

mRNA join(<1..191,3809..3896,5840..5880,5960..6045,6138..6190,6406..6511,6601..6714,6815..6889,6960..7063,7154..7192,7271..7312,7386..7430,7505..7617,7705..7770,7858..7945,8027..8089,8162..8593)gene="DGAT1"/product="diacylglycerol acyltransferase 1"

CDS join(1..191,3809..3896,5840..5880,5960..6045,6138..6190,6406..6511,6601..6714,6815..6889,6960..7063,7154..7192,7271..7312,7386..7430,7505..7617,7705..7770,7858..7945,8027..8089,8162..8317)gene="DGAT1"/EC_number="[2.3.1.20](#)"
/codon_start=1/product="diacylglycerol acyltransferase 1"/protein_id="[AAL49962.1](#)"/db_xref="GI:18642598"

/translation="MGDRGGAGGSRRRRTGSRPSIQGGSGPAAAEVVRDVGAGGDAPVRDTRDKDGDVDV
GSGHWDLRCHRLQDSLFSDDSGFSNYRGILNWCVVMLILSNARLFLENLIKYGILVDP IQVVSFLFKDPY
SWPALCLVIVANIFAVAAFQVEKRLAVGALTEQAGLLHGVNLTILCFPAAVAFLLSITPVGSVLALM
VYTILFLKLF SYRDVNLWCRERRAGAKAKAALAGKKANGGAAQRTVSYPDNLT YRDLYYFLFAPTLCYEL
NFPRSPRIRKRFLRLRLEMLFLTQLQVGLIQQWMPAIQNSMKPFKMDYSRIVERLLKLAVPNHLIWL
IFFYWL FHSCLNAVAELMQFGDREFYRDWNNSESITYFWQNNIPVHKWCIRHFYKPLRRGSSKWAART
AVFLASAFFHEYLVSIPLRMFRLWAFTGMMAQIPLAWIVGRFFRGNYGNAAVWLSLIIGQPVAVLMYVHD
YYVLNREAPAAGT"

ORIGIN

```


1 atgggcgacc gggcgggcgc gggcgggctcc cggcgccgga ggacggggtc gggcgcttgc
61 atccagggcg gcagtgggcc cgcggcagcg gaagaggagg tgcgggatgt gggcgccgga
121 ggggacgcg cggctccgga cacagacaag gacggagacg tagacgtggg cagcgccacc
181 tgggacctga ggtagcggtg cgcgtgacct ctaacctttg acccctgata cggggcccct
241 gcgaccaaac ctggtggccc aggcctgtcg gcggcagctc gggctcgagt ccgagagtct
301 ggcgcctgga ccttggtgca cagctgtgcc cctcgggcct ccacggggaa acttagcggg
361 aggttggggg cggaggggtct cctgcccgga acaccagggt acgggggccc aggggagggc
421 agcggctcaa cttctagacg ccctccctct gccttccttt ggtgggttct gaagctttcc
481 cagggtgagc ccactacgca cagtgtcctc tacctggaag gagatacagg ggtccttctc
541 gagggctatg aggggtgcct tgtgggttga taaagctccc gggggaggag ggtggaccgg
601 cggagaacag aggcaggggc agtgctaggg gatttctcat ccctcgcaga ccctccagag
661 aatggtcttc acaaaggctc ctcacccgct acccggcgat tgactggcct aggatcctgc
721 ttattaccag cacaaatggc tgctctaggg tcaaagtggg tcctgtaatg ggacctcac
781 ccctggttgg ggtacagggg aggagttgga agtgcgaca cccacagggt ggcgcccctgc
841 ttagctgaag gactgatggg aaggagttgg gggagcaagc tgcggctgaa agggaggatc
901 tgaccacagt gggcatcagc taagtctgct tggctgcctc caggcgttcc ctttgccatc
961 ctccacgccc ctccccggg gcctgacctt catcctggtc aagggtctc aggggtctg
1021 gttttgggat cagctccaga gctagaggtt atcaaggagg aagtgggcaa caggtcagtc
1081 agcaaggatt tgctatctc actgggtgct gtggggaggg gagggacaag ggcagttggg
1141 gtgcaggcac tgtccctgcc cttggggggc acacagttca cctgagagat aagatagccc
1201 cagccctgaa gactgagagc aaaggtcagg cacagagttc aggatgacac caggggaggg
1261 tggctctgtg aggggcaact gcttctaca ggccccagg ggtcctgagg gggcggtctg
1321 aaaggccagg agggccacag gccctctgct cactcctgg ggaactggat ttggggtcac
1381 tttgtatgag gtggggcggt gtaccagctt tgggccaagc tgtcacctg gatgggcat
1441 cacttgctg ctctgtatag gccagatggc cagaagctgc tcctgtcctg ttgatggccc
1501 atcctcgagg tctggaccct cgggaagagg agcagttggt ggcagggatg ggccaccgga

```

1561 gaccctcctg acctccagga cacgcagctg tgtgtgcctg tccccaagcc acatgccaca
 1621 tggctagggg cctcctgggg cagggctggg cattgggtctg gctactcttg gtatcgccca
 1681 tggcttccct gcctcccagt catcatcctc ccacctctgc ctccctgcct gttcctctct
 1741 ttctcctcag gcccttccgg acatttctctg ctcacctagg tctgggcagg cggggtcagg
 1801 tgccgggtgt gagctcactc cttccggcag caaggtgtag ctatgtgccg gaaggaaggc
 1861 cgctgctggt gcctcgcctc tgagtgcac ccttccaggt cctccacact ccctgtgcc
 1921 ccgacacctg gtgcgtcctt cagccattgg ttcattgtgtc ctccaggcac agctttctag
 1981 tccagagcct ctaggctggg tgcaggaagt gctgaggaag tggcagccgg gagggcagct
 2041 ggcaccctgt ccctccttgt tctgtccgtc cctgcccctg gaccgtatgg ccccgcattg
 2101 gtgatcccca cttggggctg tgcctctggg caagttggga agcttgggtg gcctcatttt
 2161 catgtgcccg cctcccagta ctgatgtgca ggttgaatga ggtgccaaact gtaatgagtt
 2221 ggaatggccc tgctggctgg gtgggactgg ggagcagggt ggggcccgtg gggggcacag
 2281 aggcacaccc agtgccctcag tcagggagag ggtgacagag aagctctggg tgaggcccca
 2341 cctccactct ggccatggct gctgcccttt ggtccactgc agtgaactgt gccatggggc
 2401 tggacctctg tggggattgg tgggcagtgg gctttcttcc cgcttggggc ctctgacctc
 2461 tgggggcagg gcgctgcccg ggtgggacag tcggaaggct ggtagaggga cctgaggggt
 2521 ctgtgtggtg gctgggggca ggcctcagga atttgacagc agggatctgg aaaagcttta
 2581 ataacattat ttgttctcag gattgggaaa tgctcccctc cccctcccc ctctttcctc
 2641 ttagagactg ctgcacatct ggtcagtgtg gtcttcttgg tggcccccaa ggtggcaggg
 2701 gtcacactgt tatgaaaccg tcccctgggt atgtggtgca gacatgcaca tgcagatggt
 2761 gattggcagg ttgtagcatg aggtggcttt gggacgggtc cagtgcagct gagtgggctg
 2821 gatctggggg gttctgggca ggtccatcaa gcggataccc ccacagactg tcctcttggg
 2881 atagttgggc ctgggagccc tgcttgcctt gccaaaaggc agggcgagag tcatgaagaa
 2941 gagggcttgg gggctcagag ccccactgtg tgtgcagccc aggggtggacc tggaggaggt
 3001 gcgtgggcag gctgggcccg ccggggcggg ggggtggggg gcctggtgtg aaagggacc
 3061 agggccagac tgtcagcgtc gcctggctga ggatgctggc accctgtcct cccagccgt
 3121 ctgtctcctg ggtgcagcca tctgagtgtc gaccccagcc gccctgggag gctggctggt
 3181 ctctgtgcc ctattgctgg ggacatgtgt ccacaggagg gaaaggaag cccggcctc
 3241 tccccttaca aaactggagg ccttgcctca tgccctggat ggctcctgg tggcagggtg
 3301 gttggtggga ggtggggctg ctgcttagaa cccgccagcg ggctggggc tgggctgagc
 3361 tgcacccctc cacctctgcc tccagctgag ggttggcttc catctccacc aggccagca
 3421 ctgggcacag ggctctcaga ggcaggctct gaaagtcccc tgctggcttc tgcagtggac
 3481 tccagggccc gagccccag ggggctcgca ttgogctcac cctgcgaagc cacgtgaagg
 3541 ctgggtcctc ccctccgaa gggccaaatg cagggcatgg gtggtttgaa tgggtggccc
 3601 tgggctcccc ggagggacca gctgctgtga gggccgcccc ctccccactt ccgtcttgca
 3661 tcaccagctc ctgtggcact cccacgccc cgtccccag tgggagcggc agggccccgg
 3721 tggctctgcc cgcggagggg gatgtgtggg cggcgggggt gccttgcctc cagatgctct
 3781 gccccagtg tccgtctccg ctctccaggt gtcaccgct gcaggattcc ctgttcagtt
 3841 ctgacagtgg cttcagcaac tacctgggca tcctgaattg gtgtgtggtg atgctggtac
 3901 gtagagtgac accttggagc aaggtcctg acggccgggg ggccatgggc tcttctccag
 3961 gggtaggtgt ctgtacttgt gtagctgtgg tgaatggagc tctgtgctgg cgggtggggg
 4021 ccctggagca gccgtaccct gggaccctac cgggagcatg ctcatgccgt ccctgctgaa
 4081 tcccaggaga tgctgcaga gggcagcctg ggagcctctg agctgggggtc tgcgccccag

4141 ggggcaactgg agtctcccca gggggcgaga gagagtaggc agggatggtc tgggtggccct
 4201 ggggtggggga tggctgctcc gtgggccag gccctccctg gcagacacagg tgagtggctc
 4261 tgggggtcca cgtagaactt cctcttctgt tccaaattgc cctcatgggt gcggcatgcc
 4321 tgggtgaacc tgggggagca gggtaggac atgcttctca gccagccca cagctccagg
 4381 ccacactctg caggactctg gcccctccct cagccctgga gggagcagga ctggagtcc
 4441 gtgtccgcct tgctctgacc tggccgaggc cactgctgtg gggccccagc aggcctgccc
 4501 agcagaaggt ggagtgcagg gaccccagg gcagcctca ggggtgggca gggtagggc
 4561 cgactgggcc cagccccacc gctcagtgt gatgtgggc gaggccttcg cccctccagc
 4621 tgacgtgtct gcctgcctg ggtgtggctc cagaggctgc ctgtgtacca ggggccccca
 4681 cgcttctgtt tgtggttctg ggcagtcccc tggggagcgg tggggctgt gtgccagtcc
 4741 agaccagta gtccacgcgt cctggtctct ggaggccgtg gctggtccag gactgtggca
 4801 aggtggtcgt gcagggcagg ccctcagcag cctgtctgtt ctccctcagc ccccagcctc
 4861 ctggcccttt ggtgcacca caaagctccc cctccccca ggagctgggg ccgctgctg
 4921 cgtcctctcg gcagcctggg cttccagggtg gctgggcctc ttagcagctc caactcttgc
 4981 ctgtggtggg ctctcaggac aggcaactgc cagtcggcag acattgcagg accacgtgtg
 5041 tcctgtaag ctggctggtt aggtgtttag ctgggggatg gtgtggcagg tggcccctgc
 5101 atctctgagc ctgtcacctc ctcggaagc cttctgggtg ggggactcca cccatgtcgc
 5161 ctggagaagc atcacttttc cacagagcct tctgcaacct ccgtggggcc tgagcctggg
 5221 gtgggggagg tgggtggccc tgctcctgca gaggccagcc aggcacttg ccccaggcca
 5281 ctggcaagag ctcgttgtgt tgggggatct gtcctttgct gctgctgag gageggccga
 5341 ggcaggcggg ggcgtgagta ggggtggaga cccaggccca gcttcccag cccctcagga
 5401 ccggcctgct ctttcccacc accccaccaa gtgcgtgggc acaccgcc tgtgaggatg
 5461 ggcccgttg gcagggcggg gccctgggag ggtggcagtg cgcgggcag gcttggactt
 5521 cactggggct tggggttgtc gctgtggcca ggggcgctga cccgcttggg gggacggacg
 5581 gccgctgggc agcaggtttc ttctgccacg gtggcacagg cacctggggg tgtggttggc
 5641 tccaggcggg cgggggctgc gtgccctgc gcaggacat aggcctggg tggggagtct
 5701 cagagcttgg cgtgaggctc cacagggtc ggcctgcagg atggaggcca ctgtcctgag
 5761 ctgcaggtgc tggcaggagc tggggtgggc gttctggggc cgtggctgac agcgttatgt
 5821 ccctctctct ctatcgaga tcttaagcaa cgcacggtta tttctagaga acctcatcaa
 5881 gtgagtgggc cccggcctgc cccagcccct gccacctcac cctcgccta cacagacct
 5941 caccacctg cgtctgcagg tatggcatcc tggtgacc ccatcagggt gtgtctctgt
 6001 tcctgaagga cccctacagc tggccagctc tgtgcctggt cattggtgag ctgggtgccc
 6061 aggaggcctc aggccggcg tgggtgggac agggctgatc tgggcctgaa cctgccctgg
 6121 gttgcttctg tcctcagtgg ccaatatctt tgccgtggct gcgttccagg tggagaagcg
 6181 cctggccgtg gtaagcagtg ccctcacgcc ctcccctgac ttgctcaag gtccttacca
 6241 gtcgggctta gggcgggcca ccagctggtc cactgtgct tcagggtttt gggccttctg
 6301 tggccttctc gagaggggct gcacctcagg cctggtggct cttcctcagg gaggtcctct
 6361 gaccaggag gggggtccct ggctgacgct ctgctccac cccagggagc tctgacggag
 6421 caggcggggc tgctgctgca cggggtcaac ctggccacca ttctctgctt cccagcggcc
 6481 gtggcctttc tcctcgagtc tatactcca ggtgggcccc accccgcc cggccccgc
 6541 ccacgctgtc tcggccacgg gcagcgggg gggcgtggcc tgagcttgc tctcccacag
 6601 tgggtccgt gctggccctg atggtct **aca ccctcctctt cctcaag** ctg ttctcctacc
 6661 gggacgtcaa cctctggtgc cgagagcgca gggctggggc caaggccaag gctggtgagg

6721 gctgcctcgg gctggggcca ctgggctgcc acttgctcgc ggaccggcag gggctcggct
 6781 cacccccgac ccgccccctg ccgcttgctc gtagctttgg caggtaagaa **ggcc**aacggg
 6841 ggagctgccc agcgcaccgt gagctacccc gacaacctga cctaccgcgg tgaggatcct
 6901 gccgggggct ggggggactg cccggcggcc tggcctgcta gccccgcct cccttcaga
 6961 tcttactac ttctcttcg cccccacct gtgctacgag ctcaacttc cccgctcccc
 7021 ccg**catccga aagcgttcc** tgctgcggcg actcctggag atggtgaggc ggggcctcgc
 7081 ggccaggggt gggcgggcct gccggcaccc ggcaccggg ctcagctcac tgtccgcttg
 7141 cttcttccc cagctgttcc tcaccagct ccaggtggg ctgatccagc aggtacgtgc
 7201 ccggggggg ggggggggg gggggggga ctctggggc gttggggagc tgactctgcg
 7261 ctttttgcag tggatggtcc cggccatcca gaactccatg aagcccttca aggtgagcag
 7321 gcaggcctgg caggggtgggt tccggggtca gggctgaggg agccagctgt gcctgtgcc
 7381 cacaggacat ggactactcc cgcctcgtg agcgcctcct gaagctggcg gtgagtgacc
 7441 tgctgggtgg ggacgcgtgg gggcgggtgg ggctgttctg gcacctggca cccactcccc
 7501 acaggtcccc aaccacctca tctggctcat cttcttctac tggctcttcc actcctgcct
 7561 gaacgcctg gctgagctca tgcagtttgg agaccgcgag ttctaccggg actgggtggg
 7621 ggtggccttg ccggggcggg ggtgggtggg gccccgcctg gggctggggc cggagcccc
 7681 gcccactctg ccccgcccc gcaggaactc cgagtccatc acctacttct ggcagaactg
 7741 gaacatccct gttcacaagt ggtgcatcag gtgggtgtgc gcctgggggc ggggggttg
 7801 gggtgggac ggggtcgcgt gggccggcg cccagcccac tgccgcctcc cccgcagaca
 7861 cttctacaag cccatgctcc ggcggggcag cagcaagtgg gcagccagga cggcagtgtt
 7921 tctggcctcc gccttcttcc acgaggtcag tgcactgagg gcgcgcctg cccctggtgg
 7981 gggtgggggt ggggggtggg gctcgcctg gcccctctcc cctcagtacc tgggtgagcat
 8041 ccccctgcgc atgttccgcc tctgggcctt caccggcatg atggcgcagg tgagcagccc
 8101 tggacccccg ctccgccccg ccccgcgagc gcagaggctc actcccgtcc tgtgtcccca
 8161 gatcccgcctg gcctggatag tgggcccgtt ctccgcggc aactacggca acggggcctg
 8221 gtggctgtca ctcatcatc ggcagccggt ggcgctcctg atgtacgtcc acgactacta
 8281 cgtgctcaac cgtgaggcgc cggcagccgg cacctgagcg cctccaggct ggccccctg
 8341 tgggtgttg actgcttgc cgcgctgct gcggctggac tagagcctgc cccaacctgg
 8401 gcgcagcagg aggaggcctg gctgggtgaa gctgcctcct ggcctccacc aggcctctgc
 8461 ctgaagggtc tcctctgcc aggggagagc agggccgacg cagttctggc cctggggag
 8521 tgccatgct ctggaacc tacagatctc gccaagggt ctgaatgtgt caataaagt
 8581 ctgtgcacag tga


 Forward primer
 Reverse primer
CfrI enzimi kesim bölgesi

ÖZGEÇMİŞ



1981 yılında Samsun'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Terme'de tamamladı. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü'nde 2001 yılında lisans eğitimini tamamladı. Bu bölümde Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisans eğitimini 2005 yılında tamamlayarak aynı yıl doktora eğitimine başladı. 2013 yılında Akdeniz Üniversitesi Korkuteli Meslek Yüksekokulu'na Öğretim Görevlisi olarak atandı. Halen Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine devam etmektedir.