



**SİMMENTAL IRKI SIĞIRLARDA κ -KAZEİN (CSN3) GENİ
POLİMORFİZMİ VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİLERİ**

Hamiye ÜNAL

Yüksek Lisans Tezi

Zootekni Ana Bilim Dalı

Doç. Dr. Sinan KOPUZLU

2020

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANA BİLİM DALI

**SİMMENTAL İRKI SIĞIRLARDA κ -KAZEİN (CSN3) GENİ
POLİMORFİZMİ VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİLERİ**

(The Relationships Between κ -Casein (CSN3) Gene Polymorphism And Some Performance
Traits In Simmental Cattle)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hamiye ÜNAL

Danışman: Doç. Dr. Sinan KOPUZLU

Erzurum
Temmuz, 2020

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**SİMMENTAL IRKI SIĞIRLARDA κ -KAZEİN (CSN3) GEN POLİMORFİZMİ VE
BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLER**

Doç.Dr. Sinan KOPUZLU'nun danışmanlığında, Hamiye ÜNAL tarafından hazırlanan bu çalışma, 21/07/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı Biyometri ve Genetik Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (3/3)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof.Dr.Memiş ÖZDEMİR
Atatürk Üniversitesi

Danışman: Doç.Dr.Sinan KOPUZLU
Atatürk Üniversitesi

Jüri Üyesi: Dr. Öğr.Üyesi Zeynep SÖNMEZ
Iğdır Üniversitesi

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak *Doç. Dr. Sinan KOPUZLU* danışmanlığında sunulan “SİMMENTAL IRKI SIĞIRLARDA κ -KAZEİN (CSN3) GENİ POLİMORFİZMİ VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİ” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	28	30
Kaynak Özetleri	27	30
Materyal ve Yöntem	19	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	8	20
Tezin Geneli	20	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Hamiye ÜNAL	Doç. Dr. Sinan KOPUZLU
28.7.2020	28.7.2020

İmza:

İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yapılan bu çalışma 2019-2020 Eğitim-Öğretim yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü Yüksek Lisans Tez çalışması olarak hazırlanmıştır. Bugünlere gelmemde en büyük emeğin ve sabrın sahibi olan, tezimin gerçekleştirilmesi için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan ANNEM, BABAM ve kardeşim Ahmet Turan'a sevgi ve saygılarımı sunarım.

Eğitim dönemim süresince her türlü sabrı gösteren, iyi niyet ve yardımını esirgemeyen, beni yönlendiren Sayın Doçent Dr. Sinan KOPUZLU'ya sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımın her türlü aşamasında yardımlarını ve bilgisini esirgemeyen, tez çalışmamı bitirmemde büyük katkısı olan Sayın Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR'e ve tez süresi boyunca çeşitli aşamalarda sürekli yardım sağlayan ve fikirleriyle destek olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zeynep SÖNMEZ'e sonsuz minnet ve teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımın bir kısmında bana laboratuvar imkânı sağlayan Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU'na teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Hamiye ÜNAL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİMMENTAL İRKI SIĞIRLARDA κ -KAZEİN (CSN3) GENİ POLİMORFİZMİ VE BAZI PERFORMANS ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİ

Hamiye ÜNAL

Danışman: Doç. Dr. Sinan KOPUZLU

Amaç: Erzurum'da özel bir işletmede yetiştirilen 70 baş Simmental sığırlarda κ -Kazein (CSN3) gen lokusu bakımından genotipik yapılarının incelenmesi, ilgili genler bakımından sığırlara ait genotip ve allel frekanslarının dağılımının belirlenmesi ve belirlenen genotiplerin bazı performans özellikleriyle ilişkilendirmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılan Simental sığırlardan alınan kan örneklerinden izole edilmiş DNA'larda, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak CSN3/HinfI gen polimorfizmleri tanımlanmıştır. PCR-RFLP ürünleri elektroforez ortamında yürütülerek sonuçlar ultraviyole (UV) cihazında bantlar halinde görüntülenmiştir. Araştırmada genotip, allel frekans dağılımları ve popülasyonun Hardy-Weinberg genetik denge testleri ölçülmüş, CSN3 genotiplerinin incelenen performans özellikleri arasındaki ilişkileri Genel Linear Modele göre SPSS istatistik programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Bulgular: Hardy-Weinberg genetik denge testine göre çalışılan popülasyonda genotip frekansları dağılımının dengede olduğu ($P>0.05$) gözlenmiştir. Popülasyondaki CSN3 genine ait AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla %57,14, %3,86 ve %4,89, A allelinin frekansı 0,74 ve B allelinin frekansı 0,26 olarak tespit edilmiştir. AA, AB ve BB genotiplerinde ortalama değerler sırasıyla gerçek süt veriminde 5151±308,6, 5805±370.3 ve 5772±547,3 kg; 305 günlük süt veriminde 5313±233.9, 5784±280.7 ve 6458±414,8 kg; laktasyon süresinde 294±13,7, 316±16.5 ve 294±24,4 gün; günlük süt veriminde 17,9±0.75, 18,6±0.89 ve 19,6±1,32 kg olarak saptanmıştır. İstatistik analiz sonuçlarına göre sadece 305-günlük süt verimine genotipin etkisi önemli ($P<0.05$) olarak bulunmuştur.

Sonuç: Simmental ırkı ineklerden alınan kan örneklerinden PCR-RFLP yöntemi kullanılarak CSN3 genotipleri tespit edilmiştir. İncelenen sığır ırkı popülasyonda CSN3 gen lokusu dağılımının Hardy-Weinberg prensibine göre genetik dengede olduğu, CSN3 gen polimorfizmi bakımından belirlenen genotip ve allel frekansları ırkın genotip çeşitliliğini ortaya koymada yeterli sayılabildiği, CSN3 genotipleri ile performans özellikleri arasında ki ilişkilerin belirlenmesi için yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre CSN3 genotiplerin sadece 305-günlük süt verimiyle ilişkisinin önemli ($P<0,05$) olduğu, CSN3 BB genotipli hayvanların ekonomik olarak sürüde avantaj oluşturduğu ve CSN3'ün bu bakımdan markör yardımcı seleksiyon(MAS) amacıyla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: κ -Kazein, polimorfizm, Simmental, performans özellikleri, PCR-RFLP

Temmuz 2020, 45 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE RELATIONSHIPS BETWEEN κ -CASEIN (CSN3) GENE POLYMORPHISM AND SOME PERFORMANCE TRAITS IN SIMMENTAL CATTLE

Hamiye ÜNAL

Supervisor: Associate Prof. Dr. Sinan KOPUZLU

Purpose: This study aimed to investigate the genotypic structure of κ -Casein (*CSN3*) gene locus, determination of the distribution of cattle genotype and allele frequencies in terms of related genes and to associate with performance traits of the genotypes in 70 Simmental cattle raised in a private enterprise in Erzurum.

Method: *CSN3/Hinfl* genes polymorphism were defined by using the *PCR-RFLP* method in the DNAs isolated from blood samples taken from Simmental cattle used in this study. *PCR-RFLP* products were carried out in electrophoresis and the results were visualized as bands on the ultraviolet (UV) device. Genotype, allele frequency distributions, and Hardy-Weinberg genetic equilibrium test of the population were determined in the population studied. The relationships between *CSN3* genotypes and the performance characteristics discussed were calculated by using the SPSS statistics program, according to the General Linear Model.

Findings: It was observed that the distribution of genotype frequencies was stable ($P>0,05$) according to the Hardy-Weinberg genetic equilibrium test of the cattle population examined. The AA, AB, and BB genotype frequencies of the *CSN3* gene found in the population were 40 (%57,14), 23 (%32,86), and 7 (%4,89), and the frequency of the A allele and the B allele was found to be 0,74 and 0,26, respectively. The averages of AA, AB, and BB genotypes of *CSN3* were determined as $5151\pm308,6$, $5805\pm370,3$, and $6458\pm414,8$ kg for the actual milk yield, as $5313\pm233,9$, $5784\pm280,7$, and $6458\pm414,8$ kg for 305-day milk yield, as $294\pm13,7$, $316\pm16,5$, and $294\pm24,4$ days for lactation periods, and as $17,9\pm0,75$, $18,6\pm0,89$, and $19,6\pm1,32$ kg for daily milk yield, respectively. According to the results of statistical analysis, the effect of genotype on 305-day milk yield was found to be significant ($P<0,05$).

Results: *CSN3* genotypes were correctly identified by using the *PCR-RFLP* method in the blood samples collected from Simmental cattle. In the study was concluded that in the point of *CSN3* gene locus was in Hardy-Weinberg genetic equilibrium, the genotype and allele frequencies detected in terms of *CSN3* gene polymorphism were sufficient to reveal the genotype diversity of the breed, according to the statistical analysis results of the relationships between *CSN3* genotypes and performance traits, only the effect of genotype on 305-day milk yield was significantly ($P<0,05$), the cattle with *CSN3* BB genotype are economically advantageous in the herd, and therefore *CSN3* can be used for marker-assisted selection (MAS).

Keywords: *CSN3*, polimorfizm, Simmental, performance traits, *PCR-RFLP*

July 2020, 45 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	7
MATERYAL VE YÖNTEM	13
Materyal	13
Yöntem.....	13
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	20
DNA'nın Kantitatif Tayini.....	20
PCR sonuçlarının gözlenmesi	20
PCR-RFLP Sonuçları	20
Hardy-Weinberg Genetik Denge Testi.....	21
CSN3 genotip bakımından bazı performans özelliklerine ait varyans analiz sonuçları ..	21
SONUÇ.....	27
KAYNAKÇA	29
ÖZGEÇMİŞ.....	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. <i>CSN3</i> geninin primer dizilimi.....	15
Tablo 2. <i>CSN3</i> lokusu için PCR programı (Pinder <i>et al.</i> 1991).....	15
Tablo 3. Restriksiyon enzimi, tanıma bölgeleri ve beklenen bant uzunluğu	16
Tablo 4. NanoDrop 'da okunan DNA'ların kantitatif sonuçları (260-280 ng/ μ l)	20
Tablo 5. <i>CSN3</i> genotip frekansları ve Hard-Weinberg genetik denge testi sonuçları	21
Tablo 6. <i>CSN3</i> genotip bakımından süt verim özelliğine ait varyans analiz sonucu.....	22
Tablo 7. Gerçek süt verimi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (kg).....	23
Tablo 8. 305-günlük süt verimi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (kg).....	24
Tablo 9. Laktasyon süresi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (gün).....	25
Tablo 10. Günlük süt verimi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (kg).....	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Simmental sığırı (Anonim 2017)	3
Şekil 2. Sütün bileşenleri (Yetişmeyen 1995)	3
Şekil 3. Süt içerisinde bulunan proteinlerin bileşimi ve miktarları	7
Şekil 4. PCR ürünlerinin agaroz jel görünümü (M: markör, CSN3:351 bç)	20
Şekil 5. CSN3 genine ait PCR-RFLP kesim bölgeleri: BB;261/89, AA;131/131/89 AB;261/131/131/89 bp	21



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BLG	: Beta laktoglobulin
Bp	: baz çifti
C	: sitozin
°C	: Santigrat Derece
cDNA	: Complementary DNA (Komplementer DNA)
CSN1S1	: Alfa-S1 kazein
CSN1S2	: Alfa-S2 kazein
CSN2	: Beta kazein
CSN3	: Kappa kazein
dak	: Dakika
ddH₂O	: Double-distilled water
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinukleosid Trifosfat
dsDNA	: Çift sarmallı Deoksiribonükleikasit
EDTA	: Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (Etilendiamin Tetra Asetik Asit)
EtBr	: Ethydium Bromide (Etidyum Bromid)
g	: Gram
G	: Guanin
He	: Expected Heterozygosity (Beklenen Heterozigotluk)
H-E	: Hardy-WeinbergEquilibrium (Hardy-Weinberg Dengesi)
Hinfl	: Haemophilus influenzae Rfl
Ho	: Observed Heterozygosity (Gözlenen Heterozigotluk)
IU	: International Unit (Uluslararası Birim)
Kb	: Kilo baz
KCl	: Potasyum klorür
KDa	: Kilodalton
Kg	: Kilogram
LSM	: En küçük kareler ortalaması
m	: Metre
M	: Molar
MAS	: Marker Asisted Selection
MgCl₂	: Magnezyum klorür

ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mRNA	: Messenger RNA (Mesajcı Ribo Nükleik asit)
NaCl	: Sodyum Klorür
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
RBC	: Red Blood Cell
RE	: Restriction Endonuclease (Restriksiyon Endonükleaz)
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizm)
rpm	: Rotor Per Minute (Bir Dakikadaki Rotor Devir Sayısı)
ssDNA	: Tek sarmallı Deoksiribonükleik asit
TBE	: Tris Borik asit EDTA
Tm	: Melting Temperature (Erime Sıcaklığı)
UV	: Ultra violet (Ultra Viyole)
V	: Volt
β-cn	: Beta kazein
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
<	: küçüktür
>	: büyüktür

GİRİŞ

Dünya nüfusu 1950 yılında 2,5 milyar iken 2000’li yıllarda 6 milyara kadar ulaşmıştır. Bu artışın 2075 yılına kadar süreceği, nüfusun 2025 yılında 7,8 milyara, 2050 yılında 8,9 milyara ve 2075 yılında da 9,2 milyara ulaşacağı öngörülmektedir. Daha sonra ki dönemlerde nüfusun azalacağı, örneğin 2300 yılında yaklaşık 9 milyar olacağı tahmin edilmektedir. Bu öngörülere göre nüfus hızı azalsa da, nüfus artışı uzunca bir süre daha devam edecektir. Ayrıca 2000’li yılların başında dünya nüfusunun yaklaşık %15’i açlıkla karşı karşıya kaldığı bilinmektedir (Anonim 2018). Açlığı ortadan kaldırmanın insanlık görevi olduğu kabul edilir ve nüfusun artmaya devam edeceği hatırlanırsa, her geçen gün daha çok besin maddesi üretmenin ve bunları her insana ulaştırmaya çalışmanın önemi daha belirgin hale gelmektedir. Bu nedenle insanlığın beslenmesinde daha fazla besin madde üretimine gidilmesi gerekmektedir. Besin maddesi üretmenin daha çok artırılmasının iki yolu vardır. Bunlardan biri üretim miktarını artırmak, diğeri de üretim birimi başına üretim hacmini yükseltmektir. Bunların her ikisinde birden artış sağlamak da mümkündür. (Akman 2016).

Dünya nüfusunun yaklaşık %1,1’ini oluşturan ve nüfus bakımından dünyanın en büyük 19. ülkesi olan Türkiye’de nüfus, dünya nüfusunun artışına paralel olarak yıllar itibariyle zaman zaman artış hızında azalmalar görülse de nüfus artış oranı giderek yükselmektedir. 2020 nüfus verilerine göre nüfus artış hızı %13,9’a gerilediği bildirilmiştir (Anonim 2020).

Nüfusun artması, beraberinde beslenme ihtiyacının özellikle hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasını gerektirmektedir. Buda hayvancılık sektörünün her yönüyle gelişmesiyle mümkündür. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de bu ihtiyacın giderilmesinde hayvancılık sektöründe önemli bir yer tutan sığır varlığının ve verim potansiyelinin büyük önemi vardır. Hayvancılığın temelini ve merkezini ileri tarım tekniği ve hayvancılık sektörü gelişmiş ülkelerde, hayvan başına et ve süt verimi daha fazla olan sığır yetiştiriciliği oluşturmaktadır. Hayvancılık sektörü içerisinde süt sığırcılığı ayrı ve önemli bir yere sahip olup nitekim ülkelerin gelişmişlik düzeyine göre çeşitlilik gösterse de dünyada süt üretiminin yaklaşık %93’ü sığırlardan elde edilmektedir (Hodoğlugil 1996; Kopuzlu 2003).

Nitekim Türkiye’de, tarım sektörü içerisinde en önemli alanlarından biri olan hayvansal üretime ve hayvansal üretim içerisinde de sığır yetiştiriciliğine büyük önem verilmektedir. Nitekim Türkiye’de 2019 yılı istatistiklerine göre yetiştirilen toplam büyükbaş ve küçükbaş hayvan varlığı 66.169.618 baş olup bunun 17.688.139 başı sığırlardan

oluşmaktadır. Toplam hayvan varlığı içerisinde sığır varlığı yaklaşık %21,1'ini oluşturur (Anonim 2020).

Türkiye mevcut sığır varlığı yönüyle AB ülkeleri arasında Fransa'dan sonra 2. sırada yer almaktadır. Mevcut sığır varlığının % 49,4'ü saf kültür ırklarından, % 41,3'ü kültür ırklarının yerli ırklarla olan melezlerinden ve % 9,3'ü ise yerli ırklardan oluşmaktadır (Harmandar 2019).

2019 verilerine göre sığır yetiştiriciliği alanında ön soy kütüğüne kayıtlı toplam 1.142.422 işletme mevcut olup bu işletmelerde en fazla 8.559.855 başla kültür ırkı (48,39), 7.554.625 başla kültür melezi (%42,71) ve en az 1.573.659 başla yerli ırklar (%8,90) yetiştirilmektedir. Bu değerler esas alındığında Türkiye'de her bir işletmede ortalama işletme başına 16 baş sığır yetiştirilmektedir. Türkiye genelinde ise 2019 yılı itibariyle e-ıslah veri tabanına kayıtlı sığır varlığının yaklaşık % 38,93'ünü Siyah Alaca, % 36,11'ini Simmental, % 16,91'ini Esmer, % 4,84'ünü Yerli sığır ırkı ve % 3,21'ini diğer sığır ırkları oluşturmaktadır (Harmandar 2019).

Simmental ırkı dünyada adaptasyon yeteneğinin yüksek olması nedeniyle en eski ve en yaygın yetiştirilen ırklarından birisidir. Yetiştiriciliği günümüze kadar gelmesinden dolayı çok sayıda sığır genotipinin geliştirilmesine de kaynak teşkil etmiştir. Simmental ırkı verim potansiyeli değerlendirildiğinde yüksek süt ve döl verimine sahip olduğu aynı zamanda da besi performansı ve hastalıklara dayanıklılığı iyi olması gibi özellikleri nedeniyle üreticiler tarafından son yıllarda tercih edilen bir ırk olmuştur. Bu özelliklerinden dolayı dünyanın değişik ülkelerinde melezleme çalışmalarında tercih edilen kültür ırkları arasındadır (Akbulut 1998). Türkiye'ye, hayvancılığın gelişmesi amacıyla ülke dışından 1925 yılından itibaren kültür ırkı hayvanlar getirilmeye başlanmıştır. Bu amaçla ilk kez damızlık boğa, gebe, düve ve sperma olarak önemli sayıda kültür ırkı materyalin getirilmiş olup getirilen bu ırklar arasına 1970 yılların başlarından itibaren Simmental ırkının da girdiği bilinmektedir (Koç 2016; Akman ve ark. 1990). Bu ırk, Türkiye'ye devlet yetiştirme kurumlarında deneme amaçlı olarak 1970 yılında Almanya'dan ithal edilmiştir (Özbeyaz ve ark. 1991).

Adını, yetiştirildiği İsviçre'nin Simme vadisinden alanmıştır (Koç 2016). Simmental ırkının sayısı açısından Türkiye, Almanya'dan sonra ikinci sıradadır. Simmental ırkı hayvanlarının en yoğun yetiştirildiği bölgeler Orta Karadeniz (Amasya ve Çorum'unda içinde bulunduğu), İç Anadolu (özellikle Afyon), Ege ve Doğu Anadolu bölgeleridir. Yetiştiriciliğin en az olduğu bölge ise Akdeniz Bölgesidir (Yıldırım 2015).

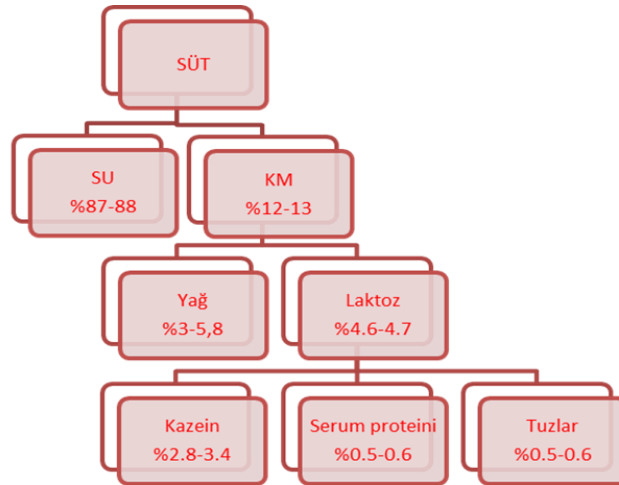
Simmental ırkının, hakim renk kompozisyonu sarı-beyaz veya kırmızı-beyaz alacadır (Şekil 1). İrkin baş, alın ve kirpik kısımları mutlaka beyaz renktedir, erkek ve dişileri

boynuzludur. Uzun ömürlüdürler. Anelik içgüdüğü yüksek bir ırktır (Sever 2020). Irkım laktasyon süt verimi ideal koşullarda 5.000-6.000 kg civarındadır. Buzağılarda doğum ağırlığı 40-45 kg, ergin dişilerde canlı ağırlık 600-650 kg, erkeklerde ise 900-1.100 kg civarındadır (Şenel 2020).



Şekil 1. Simmental sığırı (Anonim 2017)

Süt, memeli hayvanlarda doğum ile salgılanmaya başlayan, yavruların beslenmesi ve bağışıklık sisteminin gelişmesi yönünden büyük öneme sahip doğal halde bulunan sıvı bir besin kaynağıdır (Adıgüzel 2019). Sığırlardan elde edilen besin kaynaklarının başında süt ve süt ürünleri gelmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu 2019 yılı verilerine göre ülkemizde toplam 22.386.594 ton süt üretilmektedir. Üretilen sütün 20.782.374 tonu (%92,83) sığırlardan, geri kalan miktarın 79.341 tonu mandalardan (%0.35), 1.521.455 tonu koyunlardan (%6.80) ve 3.423 tonu keçilerden (%0.02) elde edilmektedir.



Şekil 2. Sütün bileşenleri (Yetişmeyen 1995)

Süt su, protein, yağ, karbonhidrat, mineraller ve vitaminlerden oluşur. Süt büyüme ve gelişmeyi, besin öğelerinin vücutta elverişli kullanılmasını, sinir sisteminin fonksiyonlarının yerine getirilmesini, vücut direncinin gelişmesini ve kan yapımında fonksiyonu olan çok sayıda vitaminleri içerir. Sütün besin öğesi içeriği elde edildiği hayvan türüne göre farklılık göstermektedir. Sütün büyük bir bölümünü (%88) su oluşturmaktadır (Şekil 2). Geriye kalanı

ise kuru maddedir. Kuru madde ise yağ, laktoz, kazein, serum proteinleri ve tuzlardan meydana gelmektedir. Süt, diğer besinlerin sahip olmadığı kadar kullanılabilirliği yüksek kalsiyum mineraline sahiptir. İnek sütü 100'den fazla farklı bileşen içermektedir. Sütün bileşimi her memeli türünde farklılık göstermektedir. Sağlıklı bireylerin yeterli ve dengeli beslenmesi için tüketilmesi tavsiye edilen süt miktarı yaş, cinsiyet ve fizyolojik duruma (büyüme ve gelişme dönemi, gebelik, emzicilik, yaşlılık) göre farklılık göstermektedir (Ünal 2008; Gedik 2009; Demirel 2019).

Artan nüfusun besleme ihtiyacının karşılanmasında hayvancılık sektöründe önemli bir yere sahip sığır varlığının ve verim potansiyellerinin önemi büyüktür. Ülkemiz sığır yetiştiriciliğinde verim artışını sağlamak için başta bakım, besleme, alt yapı gibi pek çok çevre faktörlerinin iyileştirilmesinin yanı sıra, hayvan ithali ve melezleme çalışmaları sonucunda sığır popülasyonunun genetik yapısının da büyük önemi vardır (Hodoğlugil 1996; Erdem 1997).

Hayvanlardan elde edilen verim fenotip, çevre ve genotipin ortak etkisi ile ortaya çıkmaktadır. Bundan dolayı hem çevreyi hem de genotipi iyileştirmek verim artışına sebep olmaktadır. Hayvancılıkta verimi esas alan ıslah çalışmalarında üzerinde durulan ilk konu, hayvanın genotipinde mevcut olan verim potansiyelini ortaya koyacak ideal çevre şartlarının sağlanmasıdır. Buna karşın verim artışında genotipi iyileştirme çabaları daha etkili, kârlı ve sürekli olmasına rağmen uygulanması daha güç, spesifik ve zaman alıcı olmaktadır. Hayvanlarda üstün fenotipi oluşturmak, karakteri etkileyen iyi ve verimli genleri tespit edip genotipte istenen genleri bir araya getirerek ve genler arası etkileşimden faydalanmakla mümkündür. Çiftlik hayvanlarından elde edilen verimlere ait karakterler hem çok sayıda genin kontrolü altında hem de çevre faktörleri tarafından büyük ölçüde etkilendiği için bu karakterlerde fenotipik değer çoğu zaman genotipik değeri yansıtamadığından fenotipe dayalı seleksiyon da verimlilikte azalmalar gözlenmektedir. Bu sebepten dolayı fenotip, çoğu zaman genotipin iyi bir göstergesi olamadığından ele alınan karakterin genotipik değerinin tahmin edilmesi oldukça önem arz etmektedir. Günümüzde genotipi iyileştirme çalışmaları, laboratuvar metot ve tekniklerinin gelişmesi, teknolojik şartların ilerlemesiyle melezleme ve seleksiyon gibi klasik ıslah metotlarından daha ileri boyutlara çekilmiştir. Çiftlik hayvanlarından elde edilen ve ekonomik önemi olan çeşitli verimlere (süt, yapağı, yumurta ve et gibi) ait karakterler fazla sayıdaki genin kontrolü altında ve çeşitli çevre faktörlerince büyük ölçüde etkilendiğinden söz konusu kantitatif karakterlerde fenotipik değer çoğu zaman genotipik değeri yansıtmamaktadır. Bu nedenlerden dolayı ele alınan bu tür karakterlerin genotipik değerinin tahmin edilmesi büyük önem taşır (Özdemir 2001).

Çalışmalar sonucunda araştırmacılardan Düzgüneş (1976) hayvanların hayatsal sıvı veya belirli vücut sıvılarında biyokimyasal unsurların kalitatif yönlerinin iyi bir göstergesi olduğu ve Soysal (1983) ise polimorfik özelliğe sahip bu karakterlerin bir gen yerinde lokalize olmuş bir dizi eşgenlerin kombinasyonu ile oluşan homozigot veya heterozigot tiplerden oluştuğu, eşgenler ise aralarında kodominantlık göstermekte ve bundan dolayı ele alınan karakterlerde fenotipik değer genotipik değeri verdiği sonucuna varmışlardır.

Konuyla ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar, kan parametrelerinin bazı polimorfik özellikleri ile kantitatif karakterler arasındaki ilişkinin varlığını belirlemek ve bundan seleksiyonda faydalanmak için yürütülmektedir. Bu çalışmalarda temel olarak polimorfik karakterlerde genotipin fenotipe eşdeğerde olduğunun bilinmesine, otozomal bir kalıtım yolunun izlemesine, genetik mekanizmanın basitliği ve genetik yapının kolayca belirlenmesine dayandırılmaktadır. Bu sayede polimorfik özellikler ile kantitatif karakterler arasında bir ilişkinin varlığı ortaya konarak, erken yaşta kan karakterleri tespit edilerek dolaylı seleksiyonu mümkün kılmakta, böylece generasyon arası süre kısaltılmakta, yetiştirme sistemleri yönlendirilebilmekte, popülasyonun genetik yapısı analiz edilebilmekte ve süreç içerisinde gen frekanslarında görülen değişimlerde gözlenebilmektedir (Ülker vd 1999).

Genotipik karakterler, polimorfik özellik göstermekte ve bir gen yerinde lokalize durumda bir dizi eşgenlerin kombinasyonu ile oluşan homozigot yada heterozigot tiplerden meydana gelmektedir. Diğer taraftan eş genler, aralarında kodominantlık göstermekte ve bundan dolayıdır ki fenotipik değer genotipik değeri vermektedir. Bu durum hayvancılık alanında dolaylı seleksiyon anlayışında çığır açarak verime yönelik ıslah çalışmalarına metot olarak dâhil olmuştur. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarla çiftlik hayvanlarında biyokimyasal polimorfizmin varlığını gerçekliğini belirledikten sonra polimorfik karakterlerle çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkileri ortaya koymaya çalışmışlardır. Bu ilişkilerin bulunması o özellikler bakımından erken seleksiyon imkânını vermektedir. Geliştirilen Deoksirübo Nükleik Asit (DNA)'e dayalı olarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon parça uzunluk polimorfizm (RFLP) analizi moleküler teknikler, cinsiyet gözetmeksizin çok erken yaşlarda genotipleri tanımlama imkânı vererek yüksek verimli hayvanların erkenden tanımlanması ve genotiplerin verim özellikleriyle büyüme performansı için damızlık değerlerinin tespitinde bir süreç olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Özdemir 2001).

Ekonomik karakterlerle polimorfik sistemler arasında yeterli derecede bir ilişkinin varlığını ortaya koyabilirse polimorfik karakterleri belirleyen gen, belirleyici gen (markör gen) olarak kabul edilmek suretiyle seleksiyonda bunlardan faydalanmak mümkün olacaktır.

Bu sayede süt verme yeteneğinde olmayan erkek damızlıklar ve ilk laktasyonuna girmiş ineklerde daha erken yaşta seleksiyon yapma imkânını mümkün kılacaktır. Diğer bir ifade ile belirleyici genlerden dolayı seleksiyonda faydalanmak mümkün olmaktadır (Haenlein et al. 1987, Özbeyaz 1991).

Süt protein sistemlerinin genetik temellerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda, son yıllarda geliştirilen çeşitli moleküler genetik yöntemlerden yaygın bir şekilde yararlanılmaktadır (Formaggioni *et al.* 1999). Bir kısım çalışmalarda süt kalitesi, bileşimi ve teknolojik özellikleri ile doğrudan ilişkileri nedeniyle süt proteinlerinden kazeinlerin genetik polimorfizmleri üzerinde durulmuştur (Martin 1993; Grosclaude *et al.* 1994).

Süt protein polimorfizmi üzerine yürütülmüş çalışmalar temel olarak süt proteininin kimyasal evrimini göstermek ve diğer proteinlerle bazı benzerlikler bulmak, farklı tür veya ırklar arasındaki ilişkileri yorumlamak, özellikle hayvan popülasyonların da farklı yer ve zamanlarda oluşan varyasyonu açıklamak, genetik varyantların biyolojik önemini anlamak için yapılmıştır (Doğru ve zdemir, 2002).ayvanların verimlerinde varyasyona neden olan polimorfik unsurların önemli kısmına hayvan sütlerinin protein yapılarında görülmüştür (zdemir 2001). Sütün % 80'lik bir bölümünü oluşturan kazein proteinlerinde çalışmalar yoğunlaşmış ve özellikle son yıllardaki çalışmalarda *CSN3* gibi süt protein lokusları bakımından tespit edilen biyokimyasal genetik varyasyon ile süt verimi ve süt bileşenleri arasında çeşitli ilişkilerin varlığı belirlenmiştir (Martin *et al.* 2002).

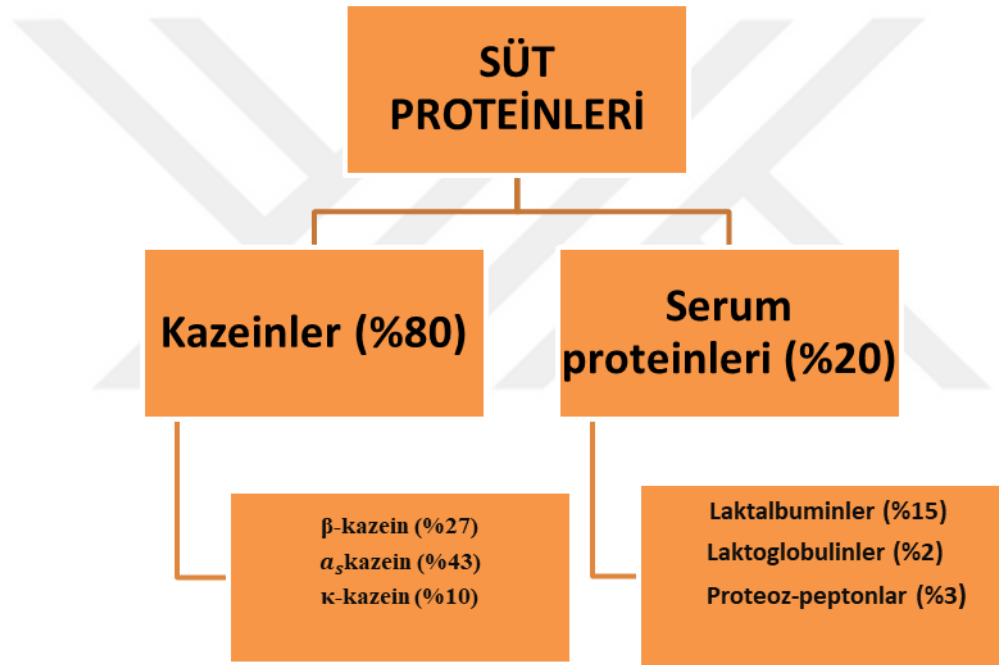
Süt kalitesi, bileşimi ve teknolojik özellikleri ile doğrudan ilişkileri nedeniyle kazeinlerin genetik polimorfizmleri çeşitli araştırmacılar için ilgi çekici olmuştur (Martin 1993; Grosclaude ve ark. 1994). Polimorfizm, iki ya da daha fazla fenotipin aynı tür popülasyonunda bulunmasına denilmektedir. Süt protein polimorfizmi üzerine yapılan çalışmaları süt proteininin kimyasal evrimini göstermek ve diğer proteinlerle bazı benzerlikler bulmak, farklı tür veya ırklar arasındaki ilişkileri yorumlamak, özellikle hayvan popülasyonlarında farklı yer ve zamanlarda oluşan varyasyonu açıklamak, genetik varyantların biyolojik önemini anlamak için yapılmıştır (zdemir 2001).

Bu çalışmada amaç, özel bir işletmede yetiştirilen Simmental ırkı sığırların PCR-RFLP yöntemi kullanılarak süt proteinlerinden *CSN3* gen lokusu bakımından göstermiş oldukları polimorfizmi araşmak, ilgili gen yeri bakımından hayvanlara ait genotip ve allel frekansların dağılımını ortaya koymaktır. Ayrıca genotipler ile bazı performans özellikleri arasındaki ilişkiler incelenerek farklılığın önemli olup olmadığını araştırmaktır.

KURAMSAL TEMELLER

İnsanın yaşamı boyunca beslemesinde önemli bir kaynak olan süt, C vitamini ve demir haricinde makro ve mikro besin öğelerini içermektedir. Süt bileşiminde mevcut olan makro elementler; sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, klor, fosfat, sülfat, bikarbonat ve sitrat'tır. Mevcut mikro elementler ise; demir, bakır, kobalt, çinko, kurşun, kalay, flor, iyot, brom, silisyum, selenyum ve bordur (Sever 2020).

Karmaşık yapıda olan süt proteinleri, 30'dan fazla komponentten oluşmakta olup 2 sınıfta toplanmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Süt içerisinde bulunan proteinlerin bileşimi ve miktarları

Süt proteinleri iki ana gruba ayrılır; kazeinler (süt proteinlerinin % 80'i) ve peynir altı suyu proteinleri. Kazein sütün çözünmeyen kısmı olup α S1-kazein, α S2-kazein, β -kazein ve Kappa kazein dört farklı kazeinden oluşur. Peynir altı suyu proteinleri çözünür fraksiyonu oluşturur ve en önemlileri α -laktalbumin ve β -laktoglobulin (BLG) olan birkaç farklı proteinden oluşur (Dinç 2009).

Sütün temel proteini olarak bilinen kazein, sütte mevcut olan toplam proteinin %80'ini içermektedir. Sütte bulunan kazeinlerin % 39-46'sı *CSN1S1*, % 8-11'i *CSN1S2*, % 25-35'i *CSN2* ve % 8-15'i *CSN3*'den meydana gelmektedir. Sığır sütlerindeki ortalama kazein oranı %2,63, koyun sütünde %4,5, keçi sütünde ise %3,1 miktarındadır (Kaminski et al. 2007).

CSN3 bir glikoproteindir. Kazein misellerinin en kararlı bileşenidir (Metin 2005). *CSN3* kazein proteini kazein misellerinin oluşup bir araya gelmesinde ve stabilizasyonunda önemli rol oynamaktadır (Bozkaya 2009). Kazeinin içerisinde bulunan *CSN3*, total kazeinin yaklaşık % 12'sini oluşturur (Volkandari *et al.* 2017).

Sığır ırklarında *CSN3* protein geni 6q31 kromozomu üzerinde bulunur, yaklaşık 13132 bp uzunluğundadır ve *CSN3* proteini için kodlama dizilerinin çoğu 4. ekzonda yer almaktadır. Araştırmacı *CSN3* geni 169 aminoasitten oluştuğunu ve genin 136. ve 148. kodonlarının belirleyici olduğunu bildirmiştir (Kabasakal 2015).

CSN3 yapısı ve diğer özellikleri açısından diğer kazeinlerden farklıdır. Sütün misel yapısının oluşumu sırasında stabilize edici bir faktör görevi görür (Prinzenberg *et al.* 2005). *CSN3* geni, sütün üretim özellikleri üzerindeki etkisinden dolayı genetik varyantları geniş çapta birçok çalışmada incelenmiş ve dokuz değişkeni olduğu ve bu değişkenlerin A, B, C, E, F, G, H, I ve A1 olduğu belirtilmiştir. Bu alellerin çoğunluğu çalışmada belirlenirken, birkaç sığır ırkında düşük bir frekansta bulunmasına rağmen neredeyse tüm sığır ırklarında A ve B alellerinin çok yaygın olduğu tespit edilmiştir (Akyüz ve ark. 2013).

CSN3'nin birçok varyantı bulunmasına rağmen bunlardan 136. (ACC) ve 148. (GAT) aminoasitleri A ve B allelleridir. Treonin 136. pozisyonda izolösin ile değiştirilir pozisyondayken 148. aspartik asit, A ve B için sırasıyla alanin ile değiştirilir pozisyondaydır (Azevedo *et al.* 2008).

Bir başka çalışmada, Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yetiştirilen 75 baş Esmer İsviçre (Brown-Swiss), 41 baş Siyah-Alaca (Holstein) ve 8 baş Simmental olmak üzere toplam 124 sığıra ait süt verim kayıtları kullanılmıştır. Bu çalışmada Esmer ve Siyah Alaca ırka ait verim özelliklerinden gerçek süt verimi, 305 gün süt verimi, laktasyon uzunluğu, günlük ortalama süt verimi incelenmiştir. Çalışmayla Esmer ve Siyah-Alaca *CSN3* lokusunda AA, AB ve BB fenotipleri belirlenmiştir. Irkların genelinde *CSN3* BB fenotipi en yüksek süt verimine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda günlük ortalama süt veriminde *CSN3* fenotipi etkisi önemli ($P < 0.05$) bulunurken gerçek süt verimine, 305-günlük süt verimine ve laktasyon uzunluğuna etkisi önemsiz bulunmuştur (Doğru ve Dayıoğlu 1996).

Kahramanmaraş ilinde Tarım İşletme 'sinde yürütülen bir çalışmada, 96 baş Siyah Alaca sığırlarda *CSN3* gen frekansları hesaplanmış, gen yeri bakımından popülasyonun dengede olup olmadığı test edilmiş ve popülasyondaki homozigot-heterozigotluk belirlenerek popülasyonun genetik yapısı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sürüsünde incelenen

özelliklerden günlük süt verimine *CSN3* tipinin etkisi önemsiz ve laktasyon süresine *CSN3* etkisi önemli ($P<0,05$) olduğu bulunmuştur (Kaygısız 1997).

Kahramanmaraş Tarım İşletmesi'nde yetiştirilen Siyah Alaca sığırlarda yürütülen bir çalışmada, *CSN3* gen frekansları hesaplanmış, popülasyonun dengede olup olmadığı belirlenmiş ve popülasyondaki homozigotluk-heterozigotluk belirlenerek popülasyonun genetik yapısı tespit edilmiştir. Araştırmacı *CSN3* lokusları bakımından AA genotipi (%51,2), AB genotipi (%35,5) ve BB genotipi (%13,3) olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda *CSN3* geninin en yüksek ve en düşük değerler günlük ortalama süt verimi bakımından AA genotipliler ($17,03 \pm 0,53$ kg) en düşük ise BB genotipliler ($16,01 \pm 1,12$ kg); 305-günlük süt verimi bakımından ise BB genotipliler (5366 ± 353 kg) ve AA genotipliler (5204 ± 176 kg); laktasyon süresi yönünden BB genotipliler ($326 \pm 22,1$ gün) ve AB genotipliler ($291 \pm 8,2$ gün); gerçek süt verimi bakımından ise BB genotipliler (5572 ± 542 kg) ve AB genotipliler (4798 ± 221 kg) olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda günlük süt verimi, gerçek süt verimi ve laktasyon süresi ile *CSN3* genotipleri arasındaki anlamlı bir ilişki bulunamadığı ifade edilmiştir. (Gürcan 2001).

Bir tarım işletmesinde yetiştirilen 155 baş Siyah Alaca sığırdaki *CSN3* polimorfizmi üzerinde incelenme yapılmıştır. Bu çalışmada süt sığırlarına ait süt proteinleri ile laktasyon süt verimi, laktasyon süresi, günlük ortalama süt verimi açısından damızlık değerler arasındaki ilişkiler belirlenmesi amaçlanmıştır. *CSN3* lokuslarına ait A ve B allel gen frekansları 0,68 ve 0,32 ve genotipler *CSN3* AA, *CSN3* AB ve *CSN3* BB olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak incelenen polimorfik karakter ile günlük süt verimi üzerine buzağılama mevsimini ve laktasyon sayısına etkisi önemli ($P<0,01$), laktasyon süresine buzağılama mevsimi ve laktasyon sayısının etkisi önemli ($P<0,05$) ve genotipe etkisi önemsiz bulunmuştur (Gürcan 2001).

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yetiştirilen Esmer ve Siyah Alaca sığırların yatay nişasta-jel elektroforezi ile *CSN3*, polimorfik sistemi bakımından genetik yapısı araştırılmıştır. Ayrıca Esmer İsviçre ve Siyah Alaca ırkları arasında tespit edilen fenotipler ile çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Çalışma sonucunda, gerçek süt verimine, 305-günlük süt verimi, laktasyon süresi ve günlük ortalama süt verimine *CSN3* genotiplerin (*CSN3*AA, *CSN3*AB ve *CSN3* BB) etkisini önemsiz bulunmuştur. Üzerinde durulan özellikler bakımından *CSN3* genotipler arasında Siyah alaca ırklarda *CSN3* AA fenotipi ve Esmer İsviçre ırkında 305-günlük süt verimi hariç en düşük değer *CSN3* BB fenotipinde belirlenmiştir (Özdemir and Doğru 2005).

Fleckvieh Czech ırkına ait popülasyonda süt üretim parametrelerinin genotiple ilişkisi incelenmiş olup *CSN3* geni genotiplerinin genotip frekansları en yüksek AB (46,8), AA (35,4) ve BB (13,0) olarak belirlenmiştir. Çalışma ile AA genotipi süt verimini artırma eğiliminde ve BB genotipinin ise süt verimini azaltma eğiliminde olduğu saptanmıştır (Kucerova et al 2006).

Genetik belirleyicilerin ya da verimlilik ve kalite (et ve süt kalitesi) gibi konularla ilişkili genetik tanımlayıcıların dolaylı seleksiyonu için morfolojik, biyokimyasal veya DNA/RNA varyasyonlarına dayalı markörlerin kullanımını kapsayan bir sürece markör yardımcı seleksiyon (MAS; Marker Assisted Selection) denilmektedir. Bu seleksiyonda polimorfizm gösteren markörler, verim özelliği ile markör allel frekansları arasındaki farklılıklar ele alınarak bir korelasyon aramak şeklinde yapılmaktadır. Günümüzde moleküler genetik teknolojileri sayesinde verimi yüksek hayvanların tanımlanması için üzerlerinde durulan özellikler ile yüksek bir korelasyon gösteren, erken dönemlerde ve cinsiyete bağlı olmaksızın belirlenebilen genetik karakterlerden faydalanmasına olanak tanımaktadır. İslah çalışmalarında, uygulanan bu yöntem sayesinde ekonomik, hızlı ve daha doğru seleksiyon yapılmasına imkân sağlamaktadır (Özdemir ve Doğru, 2008).

Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM)'ne bağlı Bala ve Ceylanpınar Tarım İşletmeleri'nde yetiştirilen 167 baş Siyah Alaca popülasyonlarında *CSN3* polimorfizmi bakımından tanımlanması amaçlanmıştır. *CSN3* lokusunda elde edilen 874 bç'lik PCR ürünleri HindIII restriksiyon enzimiyle kesilmiştir. Ceylanpınar (89 baş) 167 adet Siyah Alaca sığırının 115'i *CSN3* AA (%0,69), 44'ü *CSN3* AB (0,26), 8'i ise *CSN3* BB (%0,05) genotipinde bulunmuştur. Bala popülasyonunu oluşturan toplam 78 baş sığırın 50'si *CSN3* AA (%64), 25'i *CSN3* AB (%32), 3'ü ise *CSN3* BB (%4) genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada belirlenen polimorfizmin hayvan ıslahı çalışmalarında kullanılabilirliğinin saptanması ve Türkiye hayvan genetik kaynaklarının tanımlanması ve geliştirilmesine yeni olanaklar sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Gedik 2009).

Kayseri ili ve civarında yetiştirilen Esmer, Holstein ve Simmental ırklarında *CSN3* gen polimorfizminin belirlenmesi Çalışmasında, Simmental ve Holstein'lerde A allelinin frekansları B allelinden daha yüksek olduğu ve bu değerlerin sırasıyla Simmentallerde %62 ve %38; Holsteinlerde %82 ve %18 olarak bulunduğu bildirilmiştir. *CSN3* AA, *CSN3* AB ve *CSN3*BB genotiplerinin frekansları ise sırasıyla Simmental ırkında %54, %36 ve %10, Esmer İsviçre ırkında %18, %36 ve %28 ve Holstein ırkında %69, %26ve %5 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacı *CSN3* gen polimorfizmi ile ilgili veriler sığır ırklarının genetik tanımlanmasında, ırkların genetik orijinlerini ve ırklar arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabileceğini ifade etmiştir (Akyüz 2011).

Erciyes Üniversitesi'nde 2013 yılında 50 Simmental ırkı hayvanla *CSN3* gen polimorfizmlerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, *CSN3*'in genotiplerini AA (%25,8), BB (%3,8) ve AB (%20,4) genotipi olarak belirlemiştir. *CSN3*'e ait allel frekanslar ise %72 değeri ile en yüksek A allelinde ve %28 değeri ile B allelinde saptanmıştır. Bu ırka ait genotip frekans dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre dengede ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir (Akyüz et al. 2013)

Akyüz ve Çınar (2014)'ın birlikte Simmental ırkla *CSN3* gen polimorfizmini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada, 108 hayvana ait kandan DNA'lar izole edilmiş ve gen frekansları belirlenmiştir. Bu ırkta *CSN3* genin AA, AB ve BB genotiplerinin gen frekansları sırasıyla 0,500, 0,343 ve 0,157, A ve B allel frekansları ise 0,671 ve 0,329 olarak belirlenmiştir. Ayrıca genotip frekans dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre dengede ($P>0.05$) olduğu bildirilmiştir.

Dünyanın farklı bölgelerinde, farklı sığır ırkları üzerinde çeşitli süt proteinleri polimorfizm çalışmaları yapılmıştır (Lien vd 1995; Beja-Pereira ve ark. 2006; Jann vd 2004; Farrell 2004; Çardak ve ark. 2005; Heck vd 2009). Bu çalışmaların temel amaçları; süt protein lokuslarının evrimsel tarihini belirlemek, farklı sığır tür ve ırkları arasındaki akrabalık ilişkilerini incelemek, zaman ve mekânın sığır popülasyonu içinde farklılıklarını gözlemek, sütün özellikleri (süt verimi ve sütün bileşimi) ve genetik varyantları arasındaki ilişkilendirmek, sığırların üreme ve adaptasyon yeteneği üzerine etkisini belirlemektir (Kabasakal 2014).

Kazeininin genetik polimorfizmi, süt kalitesiyle doğrudan ilişkili olmasından dolayı birçok araştırmada incelenmiştir. Özellikle araştırmalarda alfa-S1 kazein geninin, yüksek bir polimorfizm göstermesi nedeniyle kalite ve besin değeri yönünden sütle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, *CSN3* ile ilgili yapılan araştırmalarda farklılığın genetikten, yani DNA düzeyindeki polimorfizminden kaynaklandığı doğrulanmıştır. Moleküler genetik yöntemlerinde hayvan ıslahına yönelik olarak yapılan araştırmalarda kullanılan yöntemler verime dayalı, varyasyona etkili farklı gen bölgelerinin ve majör genlerin belirlenmesinde imkân sağlamıştır. Genin fenotipe etkili olduğu önceden gen ve gen kısımlarının bilinmesi sayesinde dişi ve erkek hayvanlardaki genotipler doğdukları andan itibaren saptanabilmektedir (Karadağ 2016).

Holstein ırkı ineklerde *CSN3* gen polimorfizmine laktasyon süt verimi ve 305-günlük süt verimi arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Yapılan çalışmada aynı sürüde bulunan 189 baş Holstein inekte *CSN3* gen polimorfizmi ile laktasyon süt verimi arasında ilişki bulunmazken, 305-günlük süt verimi arasındaki anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ($P<0.005$). *CSN3* için AA, AB ve BB genotipleri belirlenmiş ve 305-gün süt verimi ortalamaları bakımından en

yüksek 305 gün süt verimine heterozigot yapıda olan AB genotipine sahip (8633 kg) ineklerde rastlanırken, en düşük 305-gün süt verimine BB genotipine sahip (8287 kg) ineklerde rastlanmıştır (Soyudal 2017).

Demirel (2019) tarafından yürütülen bir çalışmada üçüncü laktasyonda olan 150 baş Siyah alaca ırkı inekler araştırılmıştır. Bu sürüde PCR analiz yöntemiyle GHRH - *HinfIII* polimorfizmlerinin belirlenmesi yapılmış ve sonunda elde edilen 451 bç'lik PCR ürünleri *Hinf III* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Araştırılan örneklerin GHRH - *HinfIII* ve PLR - Rsa I polimorfizmleri açısından allel, genotip frekansları ve Ki-kare analizleri yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilmiştir. GHRH - *HinfIII* ve PLR - Rsa I polimorfizmleri yönünden belirlenen genotipler ile süt verimi arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önem kontrolü yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin *HinfIII* enzimi ile kesimleri sonunda AA genotipindeki ırklarda 312, 94 ve 45 bp uzunluğunda üç bant, BB genotipindeki ırklarda 194, 118, 94 ve 45 bç'lik dört bantın ve AB genotipindeki ırklarda ise 312, 194, 118, 94 ve 45 bç'lik dört bantın görülmesi beklenmiştir. Çalışma sonunda incelenen örneklerde A allel frekansının en düşük (0,32), B allel frekansının ise en yüksek olduğu (0,68) ortaya konmuştur. Bu çalışmada, araştırmacı incelenen örneklerin GHRH - *HinfIII* polimorfizmi yönünden HW dengesinde olduğunu belirlemiştir. Çalışmanın sonucunda; Türkiye'de yetiştirilen Siyah Alaca ırkı sığırlarda GHRH - *HinfIII* polimorfizmi açısından varyasyonun devam ettiği ortaya konmuştur. Çalışma materyali olan sığırlarda, AB genotip frekansının (0,46) diğer genotiplerden daha yüksek ve AA genotip frekansının (0,087) ise en az olduğu sonucuna varılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmanın hayvan materyalini Erzurum'da özel bir işletmede entansif olarak yetiştirilen 70 Baş Simmental ırkı sığırlar oluşturmuştur. Çalışmanın çeşitli laboratuvar aşamaları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Yararlanılan alet ve cihazlar

Çalışmada Buzdolabı (Arçelik), Hassas Terazı (Shimadzu), Vorteks (Yellow Line) Elektroforez sistemi (Biogen, Apelex, France, SN 280800), çeşitli amaçlar için kullanılan türlü cam malzemeler, Mikrodalga Jel Görüntüleme Sistemi (Bio Rad), Otomatik Termocycle Sistem (Bioner), Nanodrop (Thermo scientific), Santrifüj (Kubota), Spektrofotometre (Shimadzu), Saf Su Cihazı (Ateks), Fırın (Blueline), Otoklav gibi aletler ve cihazlar kullanılmıştır.

Yöntem

Hayvanlardan kan alımı

Erzurum'da özel bir işletmede yetiştirilen 70 baş Simmental sığına ait kan örnekleri işletmeden toplanıp 10 ml'lik K3 EDTA(Etilen DiaminTetra-Asetik Asit)'li vakumlu tüplere alınmış ve bu tüpler +4 °C buz kalıplarının bulunduğu numune taşıma çantaları ile işletmeden Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvar'a getirilene kadar taşınmıştır. Kan numunelerinin hangi hayvana ait olduğunu belirtmek için alınan her bir kan numunesine ait tüpler etiketlenmiştir.

Kullanılan çözeltiler

1. Liziz Çözeltisi
2. 5xRetik Salın Çözeltisi
3. 3.Fenol/Kloroform
4. Proteinaz K
5. TE Çözeltisi
6. Fenol
7. STE Çözeltisi

8. Amonyum asetat
9. RNaz
10. Etanol
11. İzopropanol
12. 1 X TBE Elektroforez / Jel Tampon Çözeltisi (10XTBE, Deiyonize bdH₂O)
13. 10 X TBE Elektroforez / Jel Stok Tampon Çözeltisi (Tris Borik Asit 0,5 M EDTA (pH 8,0) Deiyonize bdH₂O)

Genomik DNA izolasyonu.

Simmentallerden elde edilen kan örneklerinden DNA İzolasyonu Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvar 'nda yapılmıştır.

1. Tüplere numara verilerek her numune için 2'şer ml'lik tüpler hazırlandı.
2. 900 µl RBC (red blood cell) solüsyonu eklenen tüplerin üzerine 300 µl kan eklenerek karışması için alt-üst edildi.
3. Oda ısısında 10-15 dakika bekletildi.
4. 1 dakika 13.000 g de santrifüj edilip süpernatant bir pipet ile tüp dibinde 5-10 µl kalacak şekilde uzaklaştırıldı. Süpernatantın homojeniz asyönünü sağlamak için vortekslendi.
5. Homojenat üzerine 300 µl Cell lysis ve 100 µl Protein Precipitation ilave edilip vortekslendi ve daha sonra 2 dak. 13.000 rpm de santrifüj edildi.
6. 2. Yeni bir tüp hazırlanarak üzerlerine 300 µl izopropanol eklendi. 1. tüpteki serenattan 2. tüpe eklenip alt üst edilerek izopropanol ile karışması sağlandı.
7. DNA olan tüpler 13.000 rpm de 2 dakika santrifüj yapıp ve süpernatant atıldı.
8. Attıktan sonra üzerine 300 µl %70'lik etanol eklendi.
9. Ardından 13.000 g de 2 dak santrifüj edildi. Süpernatantı atıldı.
10. 5-10 dakika tüplerin ağzı açık bir şekilde açık havada kuruması için bekletildi.
11. DNA miktarına göre 100 µl dehidrasyon solution eklendi.
12. Etüvde 65 °C de 5 dakika bekletildi.
13. DNA'nın çözünmesi sağlandıktan sonra -20 °C de spektrofotometrik ölçüm anına kadar muhafaza edildi.

DNA'nın kalitatif tayini

0,60 gram agaroz, 50 ml 1XTBE tamponu içerisine konularak mikrodalga fırın içerisinde 600 Watt 'da 2 dakika tutularak eritilerek elde edilen % 1,2'lik agaroz jel eriyik

içerisine 3 µl EtBr ilave edilerek taraklı jel kabine hava kabarcığı olmayacak şekilde döküldü ve jelin donması bekledi.

Daha sonra genomik DNA izolasyonu yapılarak elde edilen DNA'lardan % 1,2'lik agaroz jele yükleme yapıldıktan sonra 1XTBE tamponuyla dolu olan elektroforez tankına yerleştirildi. 80 volt 'ta 30 dakika süreyle yürütüldü. Daha sonra dikkatlice çıkartılan jeldeki bantların ultraviyole (UV) ışığı altında görüntülenmesi sağlanmıştır.

DNA'nın kantitatif tayini

Ekstrakte edilmiş DNA'ların saflıkları ve derişimleri NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, İnç.) spektrofotometrede okuma yapılarak belirlenmiş ve DNA derişimi düşük bulunan örnekler istenilen derişim elde edilene kadar kan örneklerinden DNA izolasyon işlemleri tekrarlanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemi

PCR belli bir DNA parçasının kopyalarının primer adı verilen yapılar tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro (canlı dışında, tüpte) bir tekniktir. PCR işlemi başlangıçta belirli bir genin yalnızca küçük bir kısmı elde edilirken şu anda günümüzde DNA polimeraz enzimi PCR ile birlikte uygulanarak birkaç saat içerisinde sadece bir geni milyonlarca kopyalayıp çoğaltabilmektedir. Tablo 1'de PCR işlemi için kullanılan primerler (Doğru ve ark. 2008) ve PCR işlemleri; sıcaklık, döngü sayı ve süreleri aşağıdaki programa göre yürütülmüştür (Tablo 2)

Tablo 1. CSN3 geninin primer dizilimi

F: 5'- ATTTATGGCCATTCCACCAA-3'	(Doğru ve ark. 2008)
R: 5'- ATTAGCCCATTTGCGCTTCT-3'	

Tablo 2. CSN3 lokusu için PCR programı (Pinder *et al.* 1991)

95°C → 5 dk	30 döngü	DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>initial denaturation</i>)
95°C → 1 dk		DNA eksenlerinin birbirlerinden ayrılması (<i>denaturation</i>)
57°C → 1 sn		Primerin komplementer kalıp DNA eksenini bölgesiyle hibritlenmesi (<i>annealing</i>)
74°C → 3 dk		Üzerinde durulan DNA bölgesinin sentezinin yapılması (<i>extension</i>)
72 → 5 dk		

PCR ürünlerinin gözlenmesi

PCR işlemi gerçekleştirildikten sonra amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek için %2'lik agaroz jelde her bir PCR ürünü yürütülmesi gerekmektedir. Bu amaçla 80 ml'lik 1XTBE Tamponu içerisinde 0,60 gr agaroz, 3500 Watt 'da çalışan mikrodalga fırınında 2 dakika kadar bekletilip alınır. İçerisine 3 μ l EtBr (%1'lik) damlatılarak karışması sağlanmıştır ve hazırlanan taraklı jel kabine jel donduktan sonra (yaklaşık 25-30 dak) hava kabarcığı kalmayacak şekilde döküldü. Döküldükten sonra 30 dakika polimerize olmaya bırakıldı. Tarakları çıkartılarak jel kuyucuklara 8 μ l aldıktan sonra parafin kâğıt üzerinde bulunan yükleme tamponu ile karıştırdıktan sonra otomatik pipet aracılığı ile yüklemesi yapılarak 1XTBE tamponuyla dolu olan elektroforez tankına yerleştirildi ve 80 Watt 'da 25 dak yürümeye bırakıldı. Daha sonra jeldeki bantları UV ışığı ile görüntülendi. Amplifikasyonu gerçekleşmiş olanlar -20 °C'de muhafaza edildi.

Restriksiyon enzimiyle DNA'ların kesimi.

Amplifikasyonu gerçekleşen her bir örnekten 9 μ l alınıp 0,2 ml'lik steril ependorf tüplere konularak, üzerine 5 μ l ilgili bölge için *HinfI* RE enzimi, 5 μ l Buffer R ve 2,4 μ l Buffer Tango ilave edildikten sonra üzerini kapatacak şekilde yaklaşık 3 μ l kadar mineral oil ekledikten sonra 8-10 sn. kadar 1300 rpm 'de santrifüj yapıldı. Daha sonra inkübatöre yerleştirilerek 37 °C'de 12 saat süreyle inkübasyon işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3. Restriksiyon enzimi, tanıma bölgeleri ve beklenen bant uzunluğu

RE	PCR ürünü (bç)	Tanıma Bölgesi (5'-3')	Genotip ve Bant Büyüklüğü (bç)
			AA:131/131/89
<i>HinfI</i>	351	A [^] T	AB: 261/131/89 BB:261/89

Örneklerin yüklenmesi ve yürütme işlemi

HinfI RE'ler ile DNA'ların kesim işlemleri tamamlandıktan sonra, sonucunu gözlemek için; etüvden çıkarılan restriksiyon kesimi uygulanmış örneklerin her birine 3 μ l yükleme tamponu ilave edilmiş otomatik pipet yardımıyla alındıktan sonra parafin üzerinde gezdirilip daha önceden hazırlanan %2,8'lik agaroz jele tüm ürünlerin sırasıyla ayrı ayrı yüklenerek 1XTBE tamponuyla doldurulmuş olan elektroforez tankına yerleştirildi. Daha sonra 35 Watt 'da 180 dak süreyle elektroforez işlemi uygulanmıştır. Elektroforez işlemi yapılan jel alınarak UV ışığı altında görüntülenerek incelenmiştir.

RFLP(Restriction Length Polymorphism)

Restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA moleküllerinin 4-8 baz çifti (bp) arasındaki özgün bölgeleri tanıyarak kesen enzimlerle fragmentlere ayrılması ve elde edilen DNA parçalarının jel elektroforez yöntemi ile görüntülenmesi işlemi RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism/Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) olarak adlandırılmaktadır. Bu yöntemde PCR ürünü, RE enzimi ve tampon olarak kullanılacak enzimler karıştırıldı ve üzerine yaklaşık 1 damla kadar mineral oil damlatılarak santrifüj yapıldı. Daha sonra 37 °C etüvde genellikle 12 saat kadar inkübe edildi. Sonrasında % 1,2'lik agaroz jelde yürüterek UV de görüntüsü alındı.

İstatistiksel analizler

Süt verimlerinin tespiti, hesaplanması ve süt verim özelliklerinin analizi

Süt verimleri işletmede 12 saat aralıklarla otomatik sağım sistemleri ile sabah ve akşam olmak üzere 2 kez sağılmaktadır. Günlük süt verimi olarak sabah ve akşama ait sağımlarda elde edilen sütler oluşturmaktadır. Otomatik sağım ünitelerinde sağılan her bir hayvanın süt verim kayıtları sağım ünitelerine entegre olan 100 g hassasiyetli bir sistemle kayıt altına alınmıştır. Buzağılamadan sonraki ilk gününden 305. güne kadar ki süt verimi standart laktasyon olarak alınmıştır. 305 günün üstünde laktasyon süresi olan hayvanların 305. gün laktasyonları esas alınmış ve altında olanları ise 305-gün süt verimine göre düzeltilmiştir. Düzeltme katsayıları buzağılama mevsimi, sağılan günler ve buzağılama yaşı esas alınarak belirlenmiştir.

Erzurum ilinde özel bir işletmede yetiştirilen 70 baş hayvana ait verim kayıtları kullanılarak yapılan istatistiksel ilişkilendirme çalışmasında, performans özellikleri olarak, gerçek süt verimi, 305-gün süt verimi, laktasyon süresi ve günlük süt verimi gibi süt verim özellikleri incelenmiştir. Bu verim özelliklerinde laktasyon sayısı, genotip gibi faktörler üzerinde durulmuştur. Araştırmadaki verim özelliklerine göre aşağıdaki istatistik model kullanılmıştır.

$$Y_{ijkl} : \mu + a_i + b_j + c_{kk} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : Herhangi bir Simmental ineğin ele alınan performans (gerçek süt verimi, 305 günlük süt verimi, laktasyon süresi ve günlük süt verimi) özelliklerinin her hangi biri bakımından değeri

μ : popülasyon ortalaması

a_i : i. Genotip etkisi (AA, AB ve BB)

b_j : j. Laktasyon sırasının etkisi (2.-7),

c_k : k. Buzağılama mevsiminin etkisi (1: Kış ve ilkbahar, 2: Yaz ve Sonbahar)

e_{ijkl} : Hata payı

Kullanılan modelde hata haricinde kalan bütün faktörler sabit, hata ise şansa bağlı olarak kabul edilmiştir.

Genotip frekanslarının hesaplanması

Simmental sığır popülasyondaki genotip ve allel sayıları jel görüntülerine bakılarak tespit edilmiştir. Genotip frekansları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$f(AA)=p^2= \Sigma(AA)/N \quad (3.1)$$

$$f(AB)=2pq= \Sigma(AB)/N$$

$$f(BB)=q^2= \Sigma(BB)/N$$

Denklemden;

N: İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Popülasyonların genotip frekanslarına göre allel frekansları aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$f(A)=p=(2n_{AA}+n_{AB})/2N \quad (3.2)$$

$$f(B)=q=(2n_{BB}+n_{AB})/2N$$

$P+q=1$ eşitliğine göre

Eşitliklerde;

$f(A)=p$ =A allelinin frekansını,

$f(B)=q$ =B allelinin frekansını

N: İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Gen frekanslarının standart hataları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\text{St. Hata} = \sqrt{q(1-q)/2} \times N \quad (3.3)$$

Burada;

Q =Verilen bir allel genin frekansını

N= İncelenen toplam birey sayısını göstermektedir.

Popülasyonların Hardy-Weinberg prensibine göre genetik denge analizi

Hardy-Weinberg Prensibi, evrim mekanizmalarının yokluğunda popülasyonun ulaşacağı genetik dengeyi ortaya koymaktadır. Yani Hardy-Weinberg Dengesi, bir popülasyonda göç, mutasyon ve seleksiyonun olmadığı, popülasyonun yeterli büyüklükte ve

eşleşmelerin rastgele meydana geldiği koşulların sağlandığı takdirde gen ve genotip frekanslarının sabit kalacağı anlamı taşımaktadır.

Bu denge test edilirken ilk başta genotip frekansları hesaplandıktan sonra genotip frekanslarından allel frekansları hesaplanır. Hesaplanan allel frekanslar kullanılarak genotip frekanslar tahmin edilir. Hardy-Weinberg denge eşitliği için genotiplerin beklenen değerleri eşitlik (3.4)'de göre hesaplandı.

$$E(AA)=p^2n \quad (3.4)$$

$$E(AB) = 2pqn$$

$$E(BB) = q^2 n$$

Eşitlikte,

p: C allelinin frekansı

q: T allelinin frekansı

n: popülasyondaki birey sayısı

Genetikte gözlenen sapmaları değerlendirmek önemlidir. Başlangıçta beklenen değerler ile ölçülen değerler arasında gerçek bir fark olmadığı kabul edilerek H_0 hipotezi kurulur. İstatistiksel analizler ile bu hipotez test edilerek sıfır H_0 hipotezi ya reddedilir ya da kabul edilir. Eğer bu hipotez reddedilmişse beklenen orandan sapma sadece şansa bağlanmaz. Dolayısıyla istatistiksel analizler, gözlenen verilerin tahmin edilen ya da beklenene ne kadar iyi uyduğunu, ondan ne kadar farklılık gösterdiğini incelememiz için matematiksel bir temel oluşturur. Bu teste, uyumun mükemmelliği (Goodness of fit) adı verilir. Sıfır hipotezinin mükemmellik uyumuna karar vermek ve gözlenen ve beklenen değerler arasındaki farkın önemli olup olmadığını test etmek için geliştirilen en basit istatistiksel testlerden biri Ki-kare (χ^2) analizi kullanıldı. Ki-kare analizi eşitliği;

$$\chi^2 = \sum \frac{(G_i - B_i)^2}{B_i}$$

Eşitlikteki,

G_i : i kategorisi için gözlenen değeri,

B_i : i kategorisi için beklenen değeri

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

DNA'nın Kantitatif Tayini

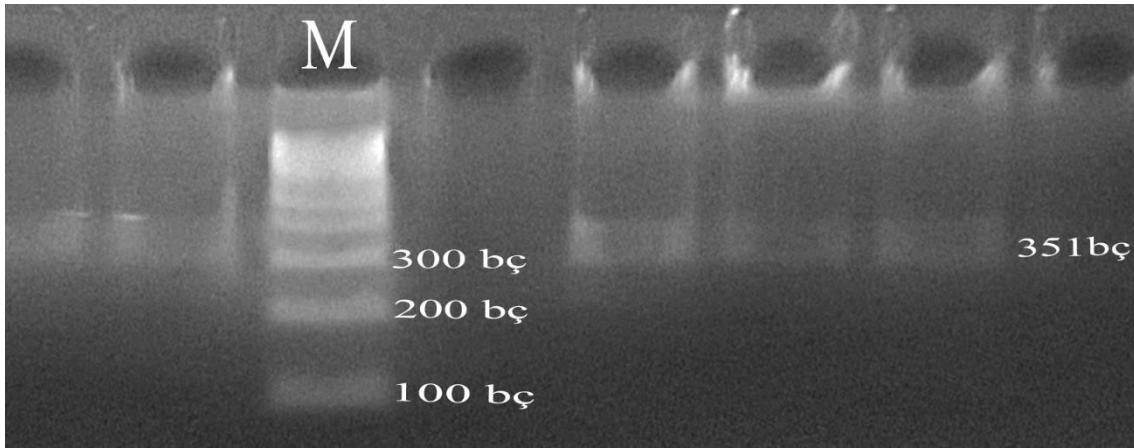
Ekstraksiyonu yapılmış olan DNA'ların derişimleri ve saflıkları NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies İnc.) spektrofotometrede okuma yapılarak belirlenmiştir (Tablo 4)

Tablo 4. NanoDrop 'da okunan DNA'ların kantitatif sonuçları (260-280 ng/µl)

Tarih	Örnek No	Değer (ng/µl)
04.05.2020	1	1,556
04.05.2020	2	2,422
04.05.2020	3	1,323
04.05.2020	4	1,333
04.05.2020	5	1,609
04.05.2020	6	1,419
04.05.2020	7	2,144

PCR sonuçlarının gözlenmesi

Simmental sığırların kanlarından elde edilen DNA örneklerinin her birine PCR yapılarak %1,2'lik agaroz jelde yürütülmüş ve DNA bantları elde edilmiştir. Şekil 4'de PCR ürünlerine ait agaroz jel görüntüsü görülmektedir.

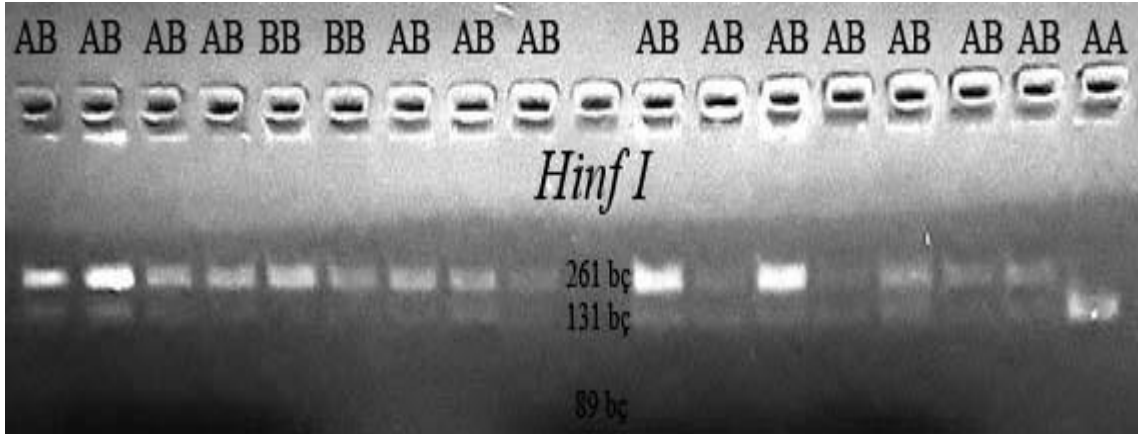


Şekil 4. PCR ürünlerinin agaroz jel görünümü (M: markör, CSN3:351 bç)

PCR-RFLP Sonuçları

Simmental ırkı sığırlardan elde edilen DNA örnekleri PCR cihazında çoğaltılmış ve *HinfI* Restriksiyon Endonükleaz enzimiyle kesilmesiyle *CSN3* geni polimorfik bölgeleri tespit edilmiştir. Teorik olarak; BB;89-261, AA;89-131-131 ve AB;89-262-31-131-89 bç

uzunluğunda bantlar vermektedir. Şekil 5’de PCR-RFLP sonucuna ait örnek bir agaroz jel görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 5. *CSN3* genine ait PCR-RFLP kesim bölgeleri: BB;261/89, AA;131/131/89 AB;261/131/131/89 bp

Hardy-Weinberg Genetik Denge Testi

Genotip frekansları, Hardy-Weinberg Genetik Denge Testi ve X^2 bağımsızlık testi yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 5. *CSN3* genotip frekansları ve Hardy-Weinberg genetik denge testi sonuçları

N	Gözlenen			Beklenen			X ² testi
	AA	AB	BB	AA	AB	BB	
70	40	23	7	37,89	27,22	4,89	0,1945 ÖS

ÖS: Önemsiz

70 baş Simmental ineğe ait genotip frekansları dağılımının Hardy-Weinberg genetik denge testine göre dengede ($p>0.05$) olduğu saptanmıştır.

Aynı ırkla daha önce yapılan çalışmalarda Burchberger et al. (1983), Seibert et al. (1987), Akyüz et al. (2013), Akyüz ve Çınar (2014) gibi araştırmacıların bildirdiği Hardy-Weinberg genetik denge testi sonuçları bulduğumuz sonuçlarla uyumludur.

CSN3 genotip bakımından bazı performans özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

CSN3 genotiplerin süt verimi ile ilişkilendirilmesi yapılmış olup yine *CSN3* genotip bakımından performans özelliklerinden gerçek süt verimi, 305-günlük süt verimi, laktasyon süresi ve günlük süt verimi gibi özellikler ele alınmış bu özelliklere *CSN3* genotipli laktasyon sırası ve buzağılama mevsiminin etkisi incelenmiş ve bunlara ait varyans analiz sonuçları Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. *CSN3* genotip bakımından süt verim özelliğine ait varyans analiz sonucu

GERÇEK SÜT VERİMİ				
Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ort.	F	P
<i>CSN3</i> Genotipi	2	7450301,210	1,066	ÖS
Laktasyon Sırası	5	14213884,65	0,814	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	1641862,875	0,470	ÖS
Hata	49	283009804,4		

305-GÜNLÜK SÜT VERİMİ				
Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ort.	F	P
<i>CSN3</i> Genotipi	2	12676767,09	3,157	*
Laktasyon Sırası	5	10426971,5	1,039	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	714394,694	0,356	ÖS
Hata	49	162629785,5		

LAKTASYON SÜRESİ				
Varyasyon Kaynakları	S.D.	Kareler Ort.	F	P
<i>CSN3</i> Genotipi	2	7570,934	0,546	ÖS
Laktasyon Sırası	5	42621,590	1,230	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	381,363	0,055	ÖS
Hata	49	561425,930		

GÜNLÜK SÜT VERİMİ				
Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ort.	F	P
<i>CSN3</i> Genotipi	2	28,981	0,712	ÖS
Laktasyon Sırası	5	106,956	1,051	ÖS
Buzağılama Mevsimi	1	24,444	1,201	ÖS
Hata	81	1648,018		

ÖS: Önemsiz; *p<0,05

Gerçek süt verimi

Simmental sığırlarına ait gerçek süt veriminin varyans analiz sonuçları Tablo 7’de ve ortalamaları ve ortalamaların standart hataları Tablo 7’de verilmiştir. Bu ırk için gerçek süt verimine ait genel ortalama $5576 \pm 242,0$ kg olarak belirlenmiştir. Elde edilen değerlendirmeler sonucunda gerçek süt verimi açısından *CSN3* genotiplerden en yüksek ortalama AB genotipinde ($5805 \pm 370,3$ kg) ve en düşük ortalama AA genotipinde ($5151 \pm 308,6$ kg) belirlenmiştir. Burada AB genotipli sığırlardan elde edilen ortalama gerçek süt verimi değeri AA ve BB genotipli sığırlardan elde edilenlerden 654 ve 33 kg kadar daha fazla elde edilmiştir. Bu özellik bakımından varyans analiz tablosu incelendiğinde üzerinde

durulan faktörlerden genotip, laktasyon sırası ve buzağılama mevsiminin gerçek süt verimine etkisi önemsiz olduğu gözlenmiştir.

CSN3 genotipi gerçek süt verimini ilişkilendirilmesi ile ilgili Gürcan (2001) ve Demirel (2019) tarafından Siyah Alacalarla yapılan çalışmalarda ve Esmer ve Siyah Alacalarla yapılan diğer çalışmalarda (Doğru ve Dayıoğlu 1996; Özdemir and Doğru, 2005) bu çalışmanın paralelinde gerçek süt verimine *CSN3* genin etkisi önemsiz bulunmuştur. Çalışmada bu özellik bakımından en düşük ortalama değer *CSN3* AA genotipinde bulunmuş olup bu sonuç Özdemir and Doğru (2005)'nin Siyah Alacalar üzerinde yaptığı çalışma ile benzerlik göstermiştir.

Tablo 7. Gerçek süt verimi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (kg)

GENEL		N	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ö.S.
GERÇEK SÜT VERİMİ		90	5576±242,0	Ö.S.
CSN3 Genotipi	AA	49	5151±308,6	ÖS
	AB	29	5805±370,3	
	BB	12	5772±547,3	
Laktasyon Sırası	2.	9	5063±650,0	ÖS
	3.	17	5739±481,6	
	4.	19	5820±468,6	
	5.	21	5222±433,5	
	6.	16	5187±489,1	
	7.	8	6426±681,6	
	Buzağılama Mevsimi	Kış-İlkbahar	53	
Yaz-Sonbahar		37	5405±360,4	

ÖS: Önemsiz.

305-günlük süt verimi

Özel işletmede yetiştirilen Simmental ırkı ineklerden elde edilen 305-günlük süt verimine etkili olduğu düşünülen *CSN3* genotip, laktasyon sırası ve buzağılama mevsimi faktörlerine göre analiz yapılmış olup detaylı olarak Tablo 8'de gösterilmiştir. Toplam 70 baş sığira ait verim kayıtları esas alındığında analiz sonuçlarında 305-günlük süt verimi genel ortalaması 5852±183,5 kg olarak belirlenmiştir. Bu değerler AA, AB ve BB *CSN3* genotiplerine göre sırasıyla 5313±233,9, 5784±280,7 ve 6458±414,8 olarak belirlenmiştir. 305-günlük süt verimi ortalamaları arasında oluşan farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Diğer taraftan laktasyon sırasının ve buzağılama mevsiminin etkisi önemsiz bulunmuştur (Tablo 8).

Yapılan süt protein polimorfizminin genetiği ve süt verimi özellikleriyle ilişkilendirme çalışmalarında 305-günlük süt verimine genotipin etkisini Holstein ırkı ineklerde (Soyudal 2017) önemli bulurken, Siyah Alaca ve Simmentallerde (Doğru ve Dayıoğlu 1996; Kaygısız ve Doğan 1999; Demirel 2019) çalışmalarımızın aksine önemsiz bulunmuşlardır. Hayvan ıslahında 305-günlük süt verimi esas alındığında *CSN3* genotiplerinden BB genotipi diğer iki genotipe göre daha yüksek ortalama süt verdiği için BB genotipine sahip ineklerin sürüde çoğaltılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Tablo 8. 305-günlük süt verimi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (kg)

GENEL		N	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ö.S
305-GÜNLÜK SÜT VERİMİ		90	5852±183,5	
CSN3 Genotipi	AA	49	5313±233,9 ^b	*
	AB	29	5784±280,7 ^{ab}	
	BB	12	6458±414,8 ^a	
Laktasyon Sırası	2.	9	5406±492,7	ÖS
	3.	17	6046±365,1	
	4.	19	5817±355,2	
	5.	21	6114±328,6	
	6.	16	5330±370,7	
	7.	8	6399 ±516,7	
Buzağılama Mevsimi	Kış-İlkbahar	53	5965±253,8	ÖS
	Yaz-Sonbahar	37	5739±273,2	

ÖS: Önemsiz, *: P<0.05; a, b farklı harfle gösterilenler ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

Laktasyon süresi

Araştırmada kullanılan Simmental ineklerin süt verimini önemli derecede etkileyen en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları Tablo 9’da ve varyans analiz sonuçları ise Tablo 9’da verilmiştir. Tablo 9 incelendiğinde laktasyon süresi genel ortalaması 301±10,8 gün olarak bulunmuştur.

Araştırmada işletme şartlarında yetiştirilen ineklerin laktasyon süresi genel ortalaması 301±10,8 gün bulunmuştur. Bu özellik bakımından genotipler incelendiğinde en yüksek değeri 316±16,5 ile AB genotipi alırken, AA (294±13,7 gün) ve BB (294±24,4 gün) genotipleri birbirine yakın değerler almıştır.

Tablo 9. Laktasyon süresi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (gün)

GENEL		N	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ö.S.
LAKTASYON SÜRESİ		90	301±10,8	Ö.S.
CSN3 Genotipi	AA	49	294±13,7	ÖS
	AB	29	316±16,5	
	BB	12	294±24,4	
Laktasyon Sırası	2.	9	292±29,0	ÖS
	3.	17	288±21,5	
	4.	19	328±20,	
	5.	21	269±19,3	
	6.	16	309±21,8	
	7.	8	321±30,4	
	Buzağılama Mevsimi	Kış-İlkbahar	53	
Yaz-Sonbahar		37	304±16,1	

ÖS: Önemsiz.

CSN3 genotiplerine göre AA genotipi 294±13,7, BB genotipi 294±24,4 ve AB genotipi 316±16,5 gün olarak tespit edilmiştir. CSN3 genotipleri içerisinde laktasyon süresi ortalaması en büyük olan AB genotipinde AA genotipine göre 25 gün ve BB genotipine göre ise 30 gün daha uzun belirlenmiştir. AB genotipinde daha fazla laktasyon süresine sahip olduğundan gerçek süt verimi AB genotipli ineklerde daha fazla süt veren genotip olmuştur. Buzağılama mevsimi değerlendirildiğinde yaz-sonbahar mevsiminde (304±16,1) doğan ineklerde laktasyon süresi kış-ilkbahar mevsiminden(299±14,9) doğanlara göre yaklaşık 5 gün daha fazla olmuştur. Bu özellik açısından söz konusu genotipler, laktasyon sırası ve buzağılama mevsimi arasında oluşan ortalamalar arasındaki farklar istatistiki olarak anlamlı olmamıştır. 2., 3., 4., 5., 6., ve 7. laktasyon sırasına göre laktasyon süresi ortalamaları sırasıyla 292±29,0, 288±21,5, 328±20, 269±19,3, 309±21,8 ve 321±30,4 gün olarak belirlenmiştir.

Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda laktasyon süresinin CSN3 genotipine etkisini bu çalışmada olduğu gibi Doğru (2011) Esmer, Siyah alaca ve Simmental ırklarında ve Gürçan (2001) Siyah Alaca ırkında önemsiz, çalışmanın aksine Kaygısız (1997) Siyah Alaca ırkında önemli bulmuşlardır(P<0,05).

Günlük süt verimi

Üzerinde çalışılan sürüde Simmental ineklerinde günlük süt verimlerine ait genel ortalama değer 18,7±0,58 kg olup bu değer CSN3 genotipi, AA, AB ve BB genotiplerinde

sırasıyla 17,9±0,75, 18,6±0,89 ve 19,6±1,32 kg olarak bulunmuştur. Sürü genelinin sahip olduğu en düşük ve en yüksek günlük süt verimi ortalamalarına bakıldığında *CSN3* genotipleri, laktasyon sıraları ve buzağılama mevsimleri bakımından düşük bir varyasyon olduğu dikkati çekmektedir.

İstatistiksel analizler sonucunda genotipler arasında genotipler, laktasyon sıraları ve buzağılama mevsimleri arasındaki oluşan günlük ortalama süt verimi farkları önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Kaygısız (1997), Gürçan (2001) ve Demirel (2019) tarafından Siyah Alaca ırkı sığırlarla, Doğru ve Dayıoğlu (1996) tarafından Esmer ve Simmental ırkı sığırlarla yaptıkları çalışmada *CSN3* genotipi ile günlük süt verimini ilişkilendirmişlerdir. *CSN3* genotipleri ile süt verimi ilişkisi açısından ortaya koydukları sonuçlar değerlendirildiğinde yaptıkları çalışmalarda bu çalışma sonucuyla uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Tablo 10. Günlük süt verimi özelliği bakımından en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (kg)

NBGENEL		N	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ö.S.
GÜNLÜK SÜT VERİMİ		90	18,7±0,58	
CSN3 Genotipi	AA	49	17,9±0,75	
	AB	29	18,6±0,89	ÖS
	BB	12	19,6±1,32	
Laktasyon Sırası	2.	9	17,5±1,57	
	3.	17	19,8±1,16	
	4.	19	18,2±1,13	
	5.	21	19,1±1,05	ÖS
	6.	16	17,0±1,18	
	7.	8	20,4±1,65	
	Buzağılama Mevsimi	Kış-İlkbahar	53	19,3±0,81
Yaz-Sonbahar		37	18,0±0,87	ÖS

ÖS: Önemsiz.

SONUÇ

Erzurum'da özel bir işletmede yetiştirilen 70 baş Simmental ırkına ait alınan kan örneklerine *PCR-RFLP* yöntemi kullanılarak *CSN3* genotipleri tespit edilmiştir. Belirlenen genotipler ile Simmental sığırlarına ait süt verim performansları arasındaki ilişki incelenmiştir.

Popülasyon genelinde *CSN3* polimorfizmi AA, AB ve BB sırasıyla %57,14, %32,86 ve %4,89 olarak belirlenmiştir. Popülasyonda bulunan *CSN3* 'e ait AA, AB ve BB sırasıyla 40, 23 ve 7 olarak hesaplanmıştır. A allelinin frekansı 0,74 ve B allelinin frekansı 0,26 olarak belirlenmiştir. Hardy-Weinberg genetik denge testine göre üzerinde çalışılan popülasyonda genotip frekansları dağılımının dengede ($X^2=0,1945$) ($P>0,05$) olduğu gözlenmiştir.

Araştırmada Simmental sığırlarına ait gerçek süt verimi genel ortalaması $5576\pm 242,0$ kg olarak belirlenmiştir. Bu açıdan *CSN3* genotiplerinden elde edilen değerlerden AB genotipi ($5805\pm 370,3$ kg), AA ve BB genotiplerine göre en yüksek değeri almış olup, bu değer genel ortalama ($5576\pm 242,0$ kg) değerden 229 kg kadar daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İstatistik analiz sonucunda gerçek süt verimine *CSN3* genotipleri laktasyon sırasının ve buzağılama mevsiminin etkisi önemsiz bulunmuştur.

Araştırma sürüsünde çalışılan Simmental ineklere ait 305 gün süt verimi genel ortalaması $5852\pm 183,5$ kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasında belirlenen ortalama 305-günlük süt verimi bakımından BB genotipi ($6458\pm 414,8$ kg) değeriyle en yüksek değere sahiptir. Bu değeri AB genotipi ($5784\pm 280,7$ kg) ve AA genotipi ($5313\pm 233,9$ kg) takip etmektedir. Sürüde *CSN3* gen polimorfizmi bakımından, *CSN3* genotipleri ile 305-günlük süt verimi arasındaki ilişkinin önemli düzeyde anlamlı olduğu, BB genotipli hayvanların ekonomik olarak sürüde avantaj oluşturduğu ve *CSN3*'ün bu bakımdan markör yardımcı seleksiyon (MAS) amacıyla kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Çalışma sürüsünde Simmental ırkına ait 6 laktasyonda ortalama günlük süt verimi ortalaması $18,7\pm 0,58$ kg'dır. *CSN3* genotiplerinde ortalamalar bakımından en yüksek değer BB ($19,6\pm 1,32$ kg), laktasyon sırasında 7. Laktasyonda ($20,4\pm 1,65$) elde edilmiştir. Bu özelliğe ait varyans analiz testine göre *CSN3* genotipleri, laktasyon sırası ve buzağılama mevsimi günlük süt verimine etkisi önemsiz olarak tespit edilmiştir.

Araştırma hayvan materyalinde laktasyon süresi genel ortalaması $301\pm 10,8$ gün; AA, BB ve AB *CSN3* genotiplerinde sırasıyla $294\pm 13,7$, $294\pm 24,4$ ve $316\pm 16,5$ gün olarak

belirlenmiştir. En uzun ortalama laktasyon süresine sahip genotip AB genotipidir. Bu değer bakımından ($316\pm 16,5$) genel ortalama laktasyon süresinden 15 gün daha fazla değere ulaşmıştır. Simmental ırklarında laktasyon süresi genotiplerle ilişkisi incelendiğinde *CSN3* genotipi, laktasyon sırası ve buzağılama mevsimi açısından önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak Simmental ırklarından alınan kan örneklerinden PCR-RFLP yöntemi kullanılarak her bir bireye ait *CSN3* genotipleri saptanmıştır. *CSN3* gen polimorfizmi açısından belirlenen genotip ve allel frekansları ırkın genotip çeşitliliğini ortaya çıkarmada yeterli sayılabildiği ve yapılan ilişkilendirme sonucu *CSN3* geni *CSN3* genotipleriyle üzerinde durulan süt verimi performans özelliklerinden sadece 305-günlük süt verimiyle ilişkinin önemli düzeyde anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu tür çalışmalar yapılarak belirlenen polimorfizmin hayvan ıslahında kullanılabilirliğinin ortaya konması ve sonuçların sığır yetiştiriciliğinde kullanılmasına yönelik daha büyük popülasyonlarda çalışılarak ülke hayvancılığının tanımlanmasında ve geliştirilmesinde yeni olanaklar sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Adıgüzel C., 2019. Karacabey Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah Alaca ve Simental Irkı Sığırlarda Farklı Laktasyon Süt Verimi Tahmin Metotlarının Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- Akbulut, Ö., 1998. Simental sığırların Türkiye'de verim performansı üzerine bir değerlendirme. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg, 29, (1), 43-49.
- Akman N, Eliçin A, Yener SM, Mutaf S (1990) Türkiye'de büyükbaş hayvan yetiştiriciliği ve damızlıkların etkin olarak kullanılması. Türkiye Ziraat Mühendisliği 3. Teknik Kongresi. 8-12 Ocak 1990, Ankara.
- Akman, N., 2016. Hayvan Islahı. Anadolu Üniversitesi Yayınları, No: 1, 28 s, Erzurum.
- Akyüz, B., 2011. Kayseri ve Civarında Yetiştirilen Holştayn, İsviçre Esmeri ve Simmental Sığır Irklarında κ -Kazein, Büyüme hormonu ve Prolaktin Gen Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Kayseri.
- Akyüz, B., Arslan, K., Bayram, D., & İşcan, K. M., 2013. Allelic frequency of kappa-casein, growth hormone and prolactin gene in Holstein, Brown Swiss and Simmental cattle breeds in Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19(3), 439-444.
- Akyüz, B., & Çınar, M. U., 2014. Analysis of prolactin and kappa-casein genes polymorphism in four cattle breeds in Turkey. Annals of Animal Science, 14(4), 799-806.
- Alpan, O., 1990. Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği. I. Basım. Medisan Yayın No: 3, 28 s, Ankara.
- Anonim, 2020. Yıllık istatistikler. <http://www.tuik.gov.tr>, Erişim Tarihi: 30/06/2020
- Anonim 2017. Simmental et sorununu çözecek.
<https://www.yeniasir.com.tr/ekonomi/2017/07/03>
- Anonim 2018. Nüfus artış hızı. <https://cevreselgostergeler.csb.gov.tr>.
- Azevedo, A. L. S., Nascimento, C. S., Steinberg, R. S., Carvalho, M. R. S., Peixoto, M. G. C. D., Teodoro, R. L., ... & Machado, M. A., 2008. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. Genetics and Molecular Research, 7(3), 623-630.
- Beja-Pereira A., Caramelli D., Lalueza-Fox C., Vernesi C., Ferrand N., Casoli A., Goyache F., Royo L. J., Conti S., Lari M., Martini A., Ouragh L., Magid A., Atash A., Zsolnai A., Boscato P., Triantaphylidis C., Ploumi K., Sineo L., Mallegni F., Taberlet P., Erhardt G., Sampietro L., Bertranpetit J., Barbuhan G., Luikart G. And Bertorelle G., 2006. The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA. P. Natl. Acad. Sci. USA, 103 (21), 8113–8118.
- Bozkaya, F., 2009. Keçilerde kazein genlerindeki çeşitlilik ve önemi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 4(2), 133-145.
- Burchberger, J., Kiermeier, F., Kirchmeier, O., Graml, R. and Pirchner, F., 1983, Effect of genetic variants of milk proteins on milk composition. Anim. Breed. Abst., 51, 3506.
- Caner, V., & Çarlı, K. T., 2001. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve bazı tavuk infeksiyonlarındaki yeri. J Fac Vet Med, 20, 137-145.
- Chessa S., Budelli E., Gutscher K., Caroli A., Erhardt G., 2003. Short Communication: Simultaneous Identification of Five κ -Casein (CSN3) Alleles in Domestic goat by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphismmilk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. J of Dairy Sci, 92: 5335-5352.

- Çardak A.D., 2005. Effects of genetic variants in milk protein on yield and composition of milk from Holstein-Friesian and Simmentaler cows. *South African J. Anim Sci*, 35:(1), 41-47
- Demirel, F., 2019. Siyah Alaca Sığırlarda Alfa-Kazein, Beta-Kazein Ve Kappa-Kazein Gen Polimorfizminin Süt Verimi ve Süt Bileşenlerine Etkisinin Pcr-Rflp Yöntemiyle Araştırılması. Doktora Tezi, Sağlık Bilimler Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Dinç, H., 2009. Genotyping of Beta-Casein, Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin Genes in Turkish Native Cattle Breeds and Efforts To Delineate BCM-7 on Human PBMC. Doktora tezi, A Thesis Submitted to the Graduate School of Natural And Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara.
- Doğru, Ü., & Dayıoğlu, H., 1996. Sığırlarda süt kazein fenotipleri ile çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkiler. *Atatürk Ü. Zir. Fak. Der*, 27(2), 226-241.
- Doğru, Ü., & Özdemir, M. 2002. Sığırlarda süt protein polimorfizmi'nin anlam ve önemi/importance and meaning of milk protein polymorphism in cattle. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(4).
- Düzgüneş, O., 1976. Hayvan ıslahı.Çukurova Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Yayın No:93.
- Eigel WN, Butler JE, Ernstrom CA, Farrell HM, Halwarkar VR, Jenness R, Whitney RM, 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. *J Dairy Sci* 67: 1599–1631.
- Erdem, H., 1997. Gökhöyük Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Siyah Alaca Sığırların Süt ve Döl Verim Özellikleri ve Bu Özelliklere Ait Bazı Parametrelerin Tahmini Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Samsun.
- Farrell, H.M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E. and Creamer, L.K., 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk – sixth revision. *J Dairy Sci.*, 87, 1641-1674.
- Formaggioni, P., Summer, A., Malacarne, M. and Mariani, P. 1999. Protein Polymorphism: Detection and Diffusion of the Genetic Variants In Bos Genus. *XIX Università degli Studi de Parma*.
- Gedik, Y., 2009. Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Siyah Alaca Sığır Populasyonlarında Beta-Laktoglobulin ve Kappa-Kazein Genotiplerinin Pcr-Rflp Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Gürçan K., 2001. Siyah Alaca Süt Sığırlarında Çeşitli Süt ve Kan Protein Polimorfizmi ve Bu Özelliklerle Bazı Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ.
- Haenlein, G.F., Gonyon, D.S., Mather, R.E., Hines, H.C., 1987. Association of bovine blood and milk polymorphism with lactation traits: Guernsey. *Journal of Dairy Sci.* 1987; 70: 2599-2609.
- Harmandar A., 2019. Siyah Alaca, Esmer ve Simental Irkı Sığırların Bazı Süt Verim Özellikleribakımından Karşılaştırılması.Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.
- Heck, J. M. L., Schennink, A., van Valenberg, H. J. F., Bovenhuis, H., Visker, M. H. P. W., & van Arendonk, J. A. M., *et al.*, 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *J. Dairy Science*, 92, 1192-1202.
- Hodoğlugil, S., 1996. Ereğli Koyunculuk Üretim İstasyonunda Yetiştirilen Siyah Alaca ve Esmer İsviçre Sürülerinin Döl Ve Süt Verim Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi Selçuk üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Konya.
- Jann O.C., Ibeagha-Awemu E.M., Ozbeyaz C., Zaragoza P., Williams J.L., Ajmone-Marsan P., Lenstra J.A., Moazami-Goudarzi K, Erardt G., 2004. Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genet Sel Evol*, 36, 243–257.

- Kabasakal, A., 2014. Boz Irk Sığırlarda Süt ve Et Verimi İle İlişkili Genlerin Analizi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Kabasakal, A., Dündar, E., Cemal, Ü. N., & Seyrek, K. (2015). Analysis of kappa-casein (κ -casein) gene of associated with milk yield on Turkish Grey cattle breed. *Van Veterinary Journal*, 26(2), 87-91.
- Kahya, S., Buyukcangaz, E., & Carlı, K. T., 2013. Polimeraz zincir reaksiyonu (pcr) optimizasyonu. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine/Veteriner Fakültesi Dergisi*, 32(1).
- Kamiński, S., Cieślińska, A. and Kostyra E. 2007. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health . *J. Appl. Genet.* 48(3); 189-198.
- Karadağ O., 2016. Honamlı Keçisinin Bazı Morfolojik Özellikleri Döl Verimi ve Kazein Genleri Polimorfizmi Bakımından İncelenmesi. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Kaygısız, A., & Doğan, M., 1999. Siyah Alaca İneklerde süt protein polimorfizminin genetiği ve süt verim özellikleriyle ilişkisi. *Turk J Vet Anim Sci*, 23(3), 447-454.
- Koç, A., 2016. Simmental yetiştiriciliğinin değerlendirilmesi: 1. Dünyada ve Türkiye'deki yetiştiriciliği. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2016; 13(2) : 97 – 102.
- Kopuzlu, S., 2003. Esmer Ve Siyah Alaca Irkı Sığırların Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü İşletmesi Şartlarında Süt Verimi, Döl Verimi, Büyüme Ve Yaşam Gücü. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum.
- Kucerova, J., Matejicek, A., Jandurová, O. M., Sorensen, P., Nemcova, E., Stipkova, M., ... & 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 of Animal Science*, 51(6), 241.
- Lien, S., Gomez-Raya, L., Steine, T., 1995. Associations between casein haplotypes and milk yield traits. *J. Dairy Sci*, 78, 2047-2056.
- Martin, P., Szymanowski, M., Zwierzchowski, L. and Leroux C., 2002. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reprod. Nutr. Dev.*, 42; 433–459.
- Metin M., 2005. Süt Teknolojisi-Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. 6. Baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 2 s, İzmir.
- Orhan, K. 2016. Honamlı Keçisinin Bazı Morfolojik Özellikleri Döl Verimi ve Kazein Genleri Polimorfizmi Bakımından İncelenmesi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı. Balıkesir. 18, s
- Özbeyaz, C., Bayraktar, M., Alpan, O., Akcan, A., 1991. Jerseylerde Süt protein polimorfizmi ve ilk laktasyon süt verimiyle ilişkisi. *Lalahan Hayvanlık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1991, 31: 27-33.
- Özdemir M., Doğru Ü., 2008. Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Önemli Moleküler Markörler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 39,(1), 127-135.
- Özdemir, M., & Doğru, Ü., 2005. Relationship between kappa-casein polymorphism and production traits in brown swiss and holstein, *journal of applied animal research*, 27:2, 101-104.
- Pinder, S.J., Perry, B.N., Skindmore, C.J. and Savva D. 1991. Analysis of polymorphism in the bovine casein genes by use of the polymerase chain reaction. *Animal Genetics*, 22; 11-20.
- Prinzenberg, E. M., Gutscher, K., Chessa, S., Caroli, A., & Erhardt, G., 2005. Caprine κ -casein (CSN3) polymorphism: new developments in molecular knowledge. *Journal of Dairy Science*, 88(4), 1490-1498.

- Prinzenberg, E. M., Jianlin, H., & Erhardt, G., 2008. Genetic variation in the κ -casein gene (*CSN3*) of Chinese yak (*Bos grunniens*) and phylogenetic analysis of *CSN3* sequences in the genus *Bos*. *Journal of dairy science*, 91(3), 1198-1203.
- Querci, M., Jermini, M. ve Van den Eede, G., 2006. Gıda örneklerinin genetik olarak değiştirilmiş organizmaların varlığı için analizi. Eğitim Kursu Açık, <http://mbg.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/documentation.htm> (27.07.2020)
- Roginski H, 2003. *Encyclopedia of dairy sciences*. Academic Press, London.
- Scibert, B., Erhardt, G. And Senft, B., 1987, Detection of a new k-casein variant in cow's milk. *Animal Genetic*, 18, 269-272.
- Sever C.Y., 2020. Holstein mi? Simental mi? <http://www.turktarim.gov.tr/Haber/322/holstein-mi-simental-mi-> (07.07.2020)
- Somma, M. ve Querci, M., 2010. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR). ,Gıda Örneklerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizleri, Querci, M., Jermini, M., ve den Eede, G.V. Avrupa Birliği Resmi Yayınlar Dairesi, Luksenburk, 9-18. <http://mbg.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/documentation.htm> (06.06.2020).
- Soysal, İ.M., 1983. Atatürk Üniversitesi Koyun Populasyonunun Bazı Kalıtsal Polimorfik Kan Proteinleri Bakımından Genetik Yapısı Ve Biyokimyasal Karakterler İle Çeşitli Verim Özellikleri Arasında İlişkiler. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum.
- Soyudal, B., Holstein Irkı Sığırlarda Süt Verim Özelliklerinin İşaretleyici Yardımlı Seleksiyonu. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Bursa.
- Şenel E., Süt Proteinleri. 2020. <http://cv.ankara.edu.tr/duzenleme/kisisel/dosyalar/12012015132355.pdf> (12.05.2020)
- Ülker, H., Baş, S., Vanlı, Y., Karaca, O., Aygün, T., 1999. Transferrin polimorfizmin karakaş kuzularının bazı verim özellikleriyle ilişkileri. *Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimler Dergisi*, 9(1),s23-28
- Ünal, R. N., & Besler, H. T., 2008. Beslenmede sütün önemi. Sağlık Bakanlığı Yayın, 727 s, Ankara.
- Volkandari, S. D., Indriawati, I., & Margawati, E. T., 2017). Genetic polymorphism of kappa-casein gene in Friesian Holstein: a basic selection of dairy cattle superiority. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42(4), 213-219.
- Yıldırım, A., Hayvancılıkta Simental Rüzgarı Eseccek. 2015 <https://www.dunya.com/kose-yazisi/hayvancilikta-simental-ruzgari-> (12.05.20)
- Yuca E., 2017. Esmer Irkı Sığırlarda IGF-I Gen Polimorfizmi ile Bazı Performans Özellikleri Arasındaki İlişkiler. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Hamiye ÜNAL
Doğum tarihi:	30 Ocak 1994
Doğum Yeri:	Merzifon/Amasya
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Tel:	0546 7806010
E-mail:	hmy30011994@gmail.com
Eğitim	
Lise:	Gümüşhacıköy Anadolu Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Biyometri ve Genetik Bilim Dalı (2020)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi