



## Analysis of Kappa-casein ( $\kappa$ -casein) Gene of Associated with Milk Yield on Turkish Grey Cattle Breed

Adem KABASAKAL<sup>1</sup> Ekrem DÜNDAR<sup>2</sup> Cemal ÜN<sup>3</sup> Kamil SEYREK<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Balıkesir University, Susurluk High School, Department of Food Processing, Balıkesir, Turkey

<sup>2</sup> Balıkesir University, Faculty of arts and Sciences, Department of Biology, Balıkesir, Turkey

<sup>3</sup> Ege University, Faculty of Science, Department of Biology, Izmir, Turkey

<sup>4</sup> Balıkesir University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Balıkesir, Turkey

Received: 15.05.2015

Accepted: 09.06.2015

### SUMMARY

In the present study, kappa-casein ( $\kappa$ -casein) gene related to milk yield were analysed in Turkish Grey steppe Grey cattle breeds. The blood samples used in the study were taken from 88 pure Turkish Grey steppe cattle breed at the Bandırma Sheep Research Station. Genomic DNA was isolated from blood samples taken. Polymerase chain reaction (PCR) was employed to amplify the  $\kappa$ -casein fragments from each genomic DNA sample. These fragments obtained were sequenced. Sequence analyses proved that there are A1, B, G2 and H alleles of  $\kappa$ -casein gene in Grey cattle breeds B allele frequency correlated with high milk yields of  $\kappa$ -casein gene (0.23) was relatively low in Grey cattle breed. A1 and H alleles of bovine  $\kappa$ -casein gene detected here were defined in *Bos indicus* and G2 allel of bovine  $\kappa$ -casein gene also determined in this study was reported to be found in *Bos grunniens*. These results indicate that there may be a relationship between Grey cattle breed (*Bos taurus*) and both *Bos indicus* and *Bos grunniens*.

**Key Words:** Turkish Grey steppe cattle breed, Kappa-casein gene ( $\kappa$ -casein), Allele and genotype frequency

### ÖZET

## Boz Irk Sığırlarda Süt Verimi İle İlişkilendirilen Kappa-kazein ( $\kappa$ -kazein) Geninin Analizi

Bu çalışmada, Boz ırk sığırlarda süt verimi ile ilişkilendirilen kappa-kazein geninin ( $\kappa$ -kazein) analizi yapılmıştır. Çalışma kapsamında, Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonunda bulunan 88 adet saf Boz ırk sığırdan kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi. Daha sonra Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanılarak her bir genomik DNA örneğinden  $\kappa$ -kazein fragmanları çoğaltıldı. Elde edilen bu fragmentler dizilendi. Dizilerin analizi sonucunda,  $\kappa$ -kazein geni için A, A1, B, G2 ve H allelleri tespit edildi. Yüksek süt evrimi ile ilişkilendirilen  $\kappa$ -kazein geninin B allelinin Boz ırk sığırlarda (0.23) düşük olduğu tespit edildi.  $\kappa$ -kazein genin A1 ve H allelleri *Bos indicus*'ta ve G2 alleli ise *Bos grunniens*'te tanımlanmıştır. Bu durum, Boz ırk (*Bos taurus*) sığırların *Bos indicus* ve *Bos grunniens* sığırlarla bir bağlantısının olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Boz ırk sığır, Kappa-kazein geninin ( $\kappa$ -kazein), Allel ve genotip frekansı

### GİRİŞ

*Bos taurus primigenus*'dan köken alan Boz ırk Anadolu ve Trakya'nın yerli ırkıdır. Step sığıru ve Plevne sığıru olarak bilinen Boz ırk sığır, uluslararası literatürde, Anatolian Grey veya Turkish Grey olarak adlandırılmaktadır. Türkiye dışında Ukrayna, Bulgaristan, Yunanistan, Romanya ve İtalya gibi ülkelerde yayılma alanı bulmuştur. Türkiye'de Sivrihisar'dan başlayıp Ege ve Marmara bölgesini kapsayacak şekilde yayılma alanı bulur (Kök ve Gürcan 2012). Boz ırk sığır, yerli ırk sığırlar arasında vücut konstitüsyonu ve kemik yapısı ile belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Et, süt ve özellikle iş gücünden

faýdalanılmasından dolayı kombine verim yönlü bir ırktır. Step iklimine iyi adapte olan ve zor çevre koşullarına karşı dayanıklı, hastalıklara ve zararlılara karşı direnci yüksek olan Boz ırkın kaba yemleri değerlendirme yeteneği yüksektir. Boz ırk geç gelişen bir ırktır. Ancak diğer yerli ırklara göre daha iyi canlı ağırlık göstermekte ve besleme durumuna göre günlük 600 ile 1000 gr. arası canlı ağırlık artışı sağlayabilmektedir. Boz ırkın cidago yüksekliği 120 cm. ve vücut ağırlığı 300 kg civarındadır. İlkine doğum yaşı 3-4 yaş civarındadır. Çok kolay doğum yapabilen Boz ırkın sürü doğum oranı %86.5, buzağı yaşama gücü %99dur. Laktasyon süresi ortalama 220 gündür. Besleme şartlarına bağlı olarak %4 yağlı 1000 ile 3000 lt civarında süt

vermektedir (Kök ve Gürçan 2012; Alpan ve Aksoy 2012).

Süt proteinleri, kazeinler ( $\alpha S1$ -,  $\alpha S2$ -,  $\beta$ - ve  $\kappa$ -kazein) ve serum proteinleri ( $\alpha$ -laktoalbumin (LALBA),  $\beta$ -laktoglobulin (LGB)) olmak üzere iki gruba ayrılır (Eigel ve ark., 1984). Süt proteinlerinin %80'i kazeinden oluşur (Fox ve Brodtkorb 2008).  $\kappa$ -kazein, toplam kazeinin %12'sini oluşturur ve 6 minor komponenti bulunur. 169 aminoasitten oluşan  $\kappa$ -kazein, yaklaşık 19.2 kDa ağırlığındadır (Farrell ve ark. 2004). Oransal olarak toplam kazein içinde miktarı az olmasına rağmen kazeinin temel yapısını oluşturmaktadır. Güçlü elektrik yükü sayesinde süt içinde kolloidal yapıyı oluşturur. Bu durumda, kolloidal stabilite sayesinde sütün fiziko-kimyasal özelliklerini etkilemektedir (Threadgill ve Womack 1990).

Aschaffenburg ve ark. (1955) tarafından sığırlarda  $\beta$ -laktoglobulin (LALBA) A ve B allellerinin bulunmasından bu yana, süt proteinleri ile süt üretimi, kompozisyonu ve kalitesi arasındaki ilişki nedeniyle özellikle damızlık hayvan yetiştiriciliğinin ve süt endüstrisinin büyük ilgisini çekmiş ve süt proteinlerinin genetik polimorfizmi üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan birçok çalışmada  $\kappa$ -kazein ile süt üretimi ve kompozisyonu, süt ürünleri içinde özellikle peynir verim ve kalitesi arasındaki ilişki ortaya konmuştur (Comin ve ark., 2008). Dahası,  $\kappa$ -kazein üzerine yapılan çalışmalar, farklı sığır ırklarının, süt verimi yönünden karakterize edilmesine ve karşılaştırma yapılabilmesine olanak sağlamıştır. Bu yüzden  $\kappa$ -kazein genetik marker olarak büyük ilgi uyandırmış ve kantitatif karakter lokus (QTL) olarak kabul edilmiştir (Comin ve ark., 2008; Caroli ve ark., 2009).

Markör destekli seleksiyon (MAS-Marker Assisted Selection); genetik belirleyicilerin veya verimlilik, hastalığa karşı direnç, abiyotik strese karşı tolerans ve kalite (et ve süt kalitesi) gibi konularla ilişkili genetik belirleyicilerin dolaylı seleksiyonu için morfolojik, biyokimyasal veya DNA/RNA varyasyonlarına dayalı markörlerin kullanımını içeren bir süreç olarak ifade edilebilir. Polimorfizm gösteren markörler; markör allel frekanslarındaki farklılıklar ile ele alınan verim özelliği arasında bir korelasyon aramak şeklinde araştırılmaktadır. Günümüz moleküler genetik teknolojileri, yüksek verimli hayvanların belirlenmesi için üzerinde durulan özelliklerle yüksek bir korelasyon gösteren, erken dönemlerde ve cinsiyete bağlı kalmaksızın tespit edilebilen genetik markör yada karakterlerden yararlanmayı mümkün hale getirmektedir. Bu sayede ıslah çalışmalarında, hızlı, ekonomik ve daha doğru seleksiyon yapılmasına olanak sağlanmaktadır (Özdemir, 2008). Nitekim, Kök ve ark. (2009) Boz ırk sığırlarda et kalitesi üzerinde etkili olan *calpastatin* (CAST) geni üzerine yaptıkları çalışmada, et verimi yönünden gelişmiş sığır ırklarına göre daha düşük olmasına rağmen, CAST geninin CC genotipi ile özellikle et yumuşaklığı yönünden pozitif ilişkili olduğu, CAST geninin Markör destekli seleksiyonda, aday gen olabileceğini ifade etmişlerdir.

Sığır kazeinleri, 6. Kromozomda (6/BTA 6q31-33) bulunur ve toplamda 200 kb DNA fragmanından oluşur.  $\kappa$ -kazein geni yaklaşık 13 kb uzunluğunda olup 4. ekzonda bulunmaktadır (Caroli ve ark., 2009).  $\kappa$ -kazein birçok varyantı bulunmasına rağmen en çok A ve B alleleline rastlanmaktadır. 169 aminoasitten oluşan  $\kappa$ -kazeinin 136. ve 148. kodonları belirleyicidir. Nitekim, A allelinde 136. kodonda treonin (ACC), 148. kodonda aspartik asit (GAT) iken, B allelinde sırasıyla, izolösin (ATC) ve alanindir (GTC) (Kaminski 1996). H allelinde 135. kodonda treonin/izolösin (ACC/ATC) ve A1 alleli, 150. kodondaki prolinin (CCA/CCG) üçüncü pozisyonunda sessiz mutasyon

şeklinde görülmektedir (Caroli ve ark., 2009; Mercier ve ark., 1973). Bu allellerin dışında B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, I, ve J allelleride tanımlanmıştır (Threadgill ve Womack 1990; Caroli ve ark., 2009; Prinzenberg ve ark., 1999). Ancak bu allelerden, B2, D, F1, F2, G1, I and J alleleri nadiren görülür. Bunun yanı sıra A, A1, B, H and I alleleri *B. taurus* ve *B. indicus*, G2 alleli *B. grunniens*, J alleli *B. taurus* ve *B. javanicus*, and B2, C, D, E, F1 ve G1 alleleri *B. taurus*'ta görülmektedir (Caroli ve ark., 2009).

$\kappa$ -kazeinin B alleleline sahip sığırların A alleleline göre daha yüksek süt verimi, sütün soğutmaya karşı daha iyi stabilize olduğu, daha kısa sürede peynir oluşum periyodu ve daha iyi peynir verimine sahip oldukları görülmektedir (Lundén ve ark 1997). Heterozigot sığırların ortalama bir davranış göstermelerine rağmen, B alleleline sahip olan sığırlardan elde edilen sütler, peynir mayası ile reaksiyona A alleleline göre daha kısa sürede girer ve peynir pıhtısı oluşum süresi daha kısadır (Caroli ve ark. 2009).

Genetik karakterizasyonu tanımlanmasında, PZR tabanlı analiz etkili yöntemlerden biridir (Öztabak ve ark., 2010; Kok ve ark., (2013). Çalışmaların çoğunda  $\kappa$ -kazein geninin A ve B allel frekanslarını belirlemeye yönelik PZR'a dayalı (PCR-RFLP gibi) yöntemlerin daha çok kullanıldığı görülmektedir. Ancak bu yöntemler diğer allellerin veya varolması durumunda yeni allellerin tespitini olanaksız kılmaktadır. Dizi analizi yapılarak, dizi üzerindeki SN'ler daha detaylı incelenebilmektedir. Nitekim yapılan çalışmada, dizi analizi yaparak tespit ettiğimiz SN'lerin,  $\kappa$ -kazein geninin A, A1, B, G2 ve H alleli olduğu belirlendi.  $\kappa$ -kazein A1 ve H allelleri A alleli ile birlikte görülmekte olup *B. indicus*'ta tanımlanmış,  $\kappa$ -kazein G2 alleli ise *B. Grunniens*'de tanımlanmıştır (Kaminski 1996; Prinzenberg ve ar., 1999).

Anadolu sığırların evciltildiği ilk merkez ve aynı zamanda *B. indicus* ile önemli seviyede integrasyon merkezi olarak kabul edilmektedir (Loftus ve ark., 1999). Ortadoğu bölgesi de *B. taurus* ve *B. indicus* arasında melez bir bölge olarak kabul edilir. Nitekim, Edwards ve ark. (2007) yaptığı çalışmaya göre, Zebu sığırlarında teşhis ettiği üniparental mitokondri ve Y-kromozom haplotiplerinin, yerli ırk sığırlarda %14 ile %35 oranında benzerlik gösterdiği ve en yüksek benzerliğin Yerli kara sığırdan olduğu görülmektedir. Coğrafik olarak bu iki alt tür ortak allellerinin Avrupa ve Afrika'ya doğru ilerledikçe kademeli olarak azaldığı görülmektedir (Edwards ve ark., 2007, Akış ve Öztabak 2013).

Prinzenberg ve ark. (1999) A1 allelini zebu sığırlarında A allelinden farklı bir varyantı bu sessiz mutasyonu olarak tespit etmişlerdir (Prinzenberg ve ark., 1999). *B. indicus* x *B. taurus* melezlerinde,  $\kappa$ -kazein 150 lokusundaki prolinde (150. A>G, CCA/CCG) sessiz mutasyon tespit edilmiştir. Ancak bu mutasyonun amino asit ve protein yapısında değişikliğe neden olmamıştır.

Bu çalışmada, yerli sığır ırklarından Boz ırktaki süt verimi ile ilişkilendirilen  $\kappa$ -kazein geninin analizi yapılarak, mevcut SN'leri belirlemek, bağlı olarak bu mevcut allelleri tespit etmek ve bu allellerin ve genotiplerin frekanslarını belirlemek amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Kan örnekleri ve veri kaydı

Çalışma kapsamında kan örnekleri, Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonunda bulunan 88 adet Boz ırk sığırdan alınmıştır. Kan örnekleri aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 4 erkek ve 84 dişi Boz ırk sığırdan alınmıştır.

Örnekler 2  $\mu$ L EDTA'lı cam tüplere alınmış ve genomik DNA izole edinceye kadar -20 °C'de saklanmıştır.

#### DNA Ekstraksiyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Dizileme

Kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu, Miller ve ark. (1998) standart salt out (tuzda çöktürme) metoduna göre yapılmıştır.  $\kappa$ -kazein için hedef gen bölgesi, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. 25  $\mu$ L PZR ürünü elde etmek için; 7.0  $\mu$ L kalıp DNA, her bir primerden 2.5  $\mu$ L; 2.5  $\mu$ L dNTP (2mM), 2.5  $\mu$ L buffer, 1.5  $\mu$ L MgCl<sub>2</sub>, 1.0  $\mu$ L of DMSO, 0.5  $\mu$ L taq polimeraz ve 5.0  $\mu$ L of distile su kullanılmıştır. PZR programı; 95 °C 5 dk 35 döngü için; 94 °C'de 30 sn 52 °C'de 30 sn, 72 °C'de 40 sn ve 72 °C'de 5 dk uzatma şeklinde uygulanmıştır.  $\kappa$ -kazein için primer dizileri için daha önce rapor edilen 5'-ATGGAGTCAATTACTACC-3' (forward) ve 5'-AAATCATGGTAGACAGTGTGA-3'(revers) primer dizileri kullanıldı (Cherenek ve Bulla 2002). 705 bp uzunluğunda elde edilen PZR ürünleri %0.8'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. Sonrasında  $\kappa$ -kazein geni için çoğaltılan PZR ürünlerinin DNA dizilemesi BigDye Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Fostercity, CA) ile ABI 3130XL Genetic Anaylzer (Applied Biosystems, Fostercity, CA) cihazını kullanan ReFGeN (Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji, Ankara) adlı ticari kuruluşa yaptırıldı.

#### İstatistiksel Analiz

$\kappa$ -kazein geni genotip ve allel frekansları direkt sayım yöntemi ile hesaplandı. Populasyonun dengede olup

olmadığını kontrol etmek için Ki-kare ( $\chi^2$ ) ve Hardy-Weinberg testleri Popgene32 yazılım programı kullanılarak yapıldı (Yeh ve ark 2000). Dizilerin hizalanması ve analizi için BioEdit7.0.4.1 yazılım programı kullanıldı (Hall 1999).

#### BULGULAR

$\kappa$ -kazein dizileri analiz edildiğinde, 5 tek nokta polimorfizmi (SNP) tespit edildi. Bu SNPler sırasıyla  $\kappa$ -kazein gen dizisi üzerinde, 404.C>T, (ACC/ATC), 407.C>T, (ACC/ATC), 443.A>C (GAT/GCT), 450.A>G (CCA/CCG) ve 504.A>G (GCA>GCC) olarak tespit edildi. Amino asit dizileri incelendiğinde bu SNPlerin; 135. (Thr>Ile), 136. (Thr>Ile) ve 148. (Asp>Ala) lokuslarda aminoasit değişikliğine neden olduğu, ancak 150. (Pro<sub>A</sub>>Pro<sub>G</sub>) lokusta ve 168. (Ala<sub>A</sub>>Ala<sub>G</sub>) lokusta aminoasit değişikliğine neden olmadığı, sessiz mutasyon olduğu tespit edildi. Tespit edilen SNPlerin 135, 136, 148, 150 ve 168. amino asitlerde meydana gelen değişiklikler ve buna bağlı oluşan alleller sırasıyla; TTDPA (Thr/Thr/Asp/Pro<sub>A</sub>/Ala<sub>A</sub>) olduğunda A alleli, TTDPA (Thr/Thr/Asp/Pro<sub>G</sub>/Ala<sub>A</sub>) olduğunda A1 alleli, TIDPA (Thr/Ile/Ala/Pro<sub>A</sub>/Ala<sub>A</sub>) olduğunda B alleli, TTAPA (Thr/Thr/Asp/Pro<sub>A</sub>/Ala<sub>G</sub>) olduğunda G2 alleli ve ITDPA (Ile/Tre/Asp/Pro<sub>A</sub>/Ala<sub>A</sub>) olduğunda ise H alleli olduğu görülmektedir. Şekil 1'de  $\kappa$ -kazein A, A1, B, H ve G2 allel bölgeleri verilmiştir.

**Tablo 1.** Boz ırk sığırın genotip ve allel frekans dağılımı

**Table 1.** The genotype and allele frequency distribution of Turkish Grey Steppe cattle breed

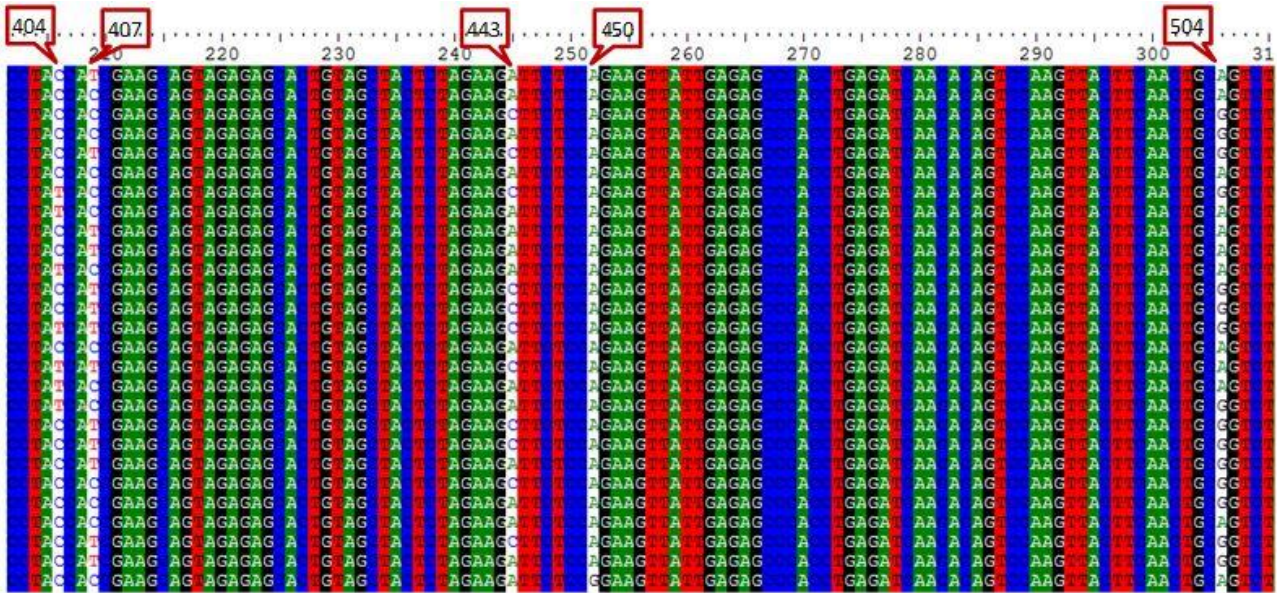
Lokus	n	Göz(G)	Bek (B)	Allel frekansı	Genotip frekansı	$\chi^2$			
135. ACC/ATC	88	CC	42	40.12	C	0.676 <sup>A</sup>	CC <sup>AA</sup>	0.477	0.8404ns
		CT	35	38.76	T	0.324 <sup>H</sup>	CT <sup>AH</sup>	0.398	
		TT	11	9.12			TT <sup>HH</sup>	0.125	
136. ACC/ATC	88	CC	35	33.64	C	0.619 <sup>A</sup>	CC <sup>AA</sup>	0.398	0.3818ns
		CT	39	41.71	T	0.381 <sup>B</sup>	CT <sup>AB</sup>	0.443	
		TT	14	12.63			TT <sup>BB</sup>	0.159	
148. GAT/GCT	88	AA	42	43.57	A	0.705 <sup>A</sup>	AA <sup>AA</sup>	0.477	0.6554 ns
		AC	40	36.84	C	0.295 <sup>B</sup>	AC <sup>AB</sup>	0.455	
		CC	6	7.57			CC <sup>BB</sup>	0.068	
150. CCA/CCG	88	AA	74	74.52	A	0.921 <sup>A1</sup>	AA <sup>AA</sup>	0.841	0.3818ns
		AG	14	12.96	G	0.079 <sup>A1</sup>	AG <sup>AA1</sup>	0.159	
		GG	0	0.52			GG <sup>A1A1</sup>	0.000	
168. GCA/GCC	88	AA	36	38.11	A	0.659 <sup>A</sup>	AA <sup>AA</sup>	0.409	0.3152ns
		AG	44	39.77	G	0.341 <sup>G2</sup>	AG <sup>AG2</sup>	0.500	
		GG	8	10.12			GG <sup>G2G2</sup>	0.091	

n: Örnek sayısı, Göz(G): Gözlenen, Bek(B): Beklenen, A, A1, B ve H allelleri, AA, AA1, A1A1, AB, BB, AG2, G2G2, AH ve HH genotipleri, ns: non-significant, Allel frekansı, Genotip frekansı,  $\chi^2$ : Ki-kare

Tablo 1'de elde edilen sonuçlar özet olarak verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde  $\kappa$ -kazein geni için A, A1, B, G2 ve H allel frekansları sırasıyla; 0.35, 0.10, 0.23, 0.06 ve 0.23 olarak tespit edildi.  $\kappa$ -kazein geni AA, AA1, AB, AG2, AH, BB, BG2, BH, HG2 ve HH genotip frekansları sırasıyla; 0.136, 0.102, 0.068, 0.227, 0.091, 0.080, 0.068, 0.057, 0.043 ve 0.125 olarak tespit edilmiştir.

Lokusların genotipik frekanslarına bakıldığında (Tablo1) 135. lokusta CC, CT ve TT genotipleri için sırasıyla 0.477, 0.398, 0.125, 136. lokusta CC, CT ve TT genotipleri için sırasıyla 0.398, 0.443, 0.159, 148. lokusta AA, AC ve CC

genotipleri için sırasıyla 0.477, 0.455, 0.068, 150. lokusta AA, AG, GG genotipleri için sırasıyla; 0.841, 0.159 ve 0.000, 168. lokusta AA, AG, GG genotipleri için sırasıyla; 0.409, 0.500, 0.091 olarak tespit edildi. Tablo 1'de görüldüğü gibi Ki-kare ( $\chi^2$ ) değerleri sırasıyla; 0.8404, 0.3818, 0.6554, 0.3818, 0.3152 olarak tespit edildi. Bu sonuçlara göre, populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu göstermektedir (P> 0.05). Sığırlarda yüksek süt verimi ile ilişkilendirilen  $\kappa$ -kazein B allelinin Boz ırk sığırlarda nispeten düşük olduğu görüldü.



**Şekil 1.** Boz ırk sığırın kappa-kazein genindeki tek nükleotid polimorfizm (SNP) bölgeleri

**Figure 1.** The single nucleotide polymorphism (SNP) zones in the kappa-casein gene of Turkish Grey Steppe cattle breed

## TARTIŞMA ve SONUÇ

$\kappa$ -kazein geninin A ve B allelleri, sığırların tamamında temel allel olarak tanımlanmıştır. Yapılan birçok çalışmada  $\kappa$ -kazein B alleleline sahip olan sığırların, süt verimi ve kompozisyonu ile özellikle peynir başta olmak üzere elde edilen süt ürünlerinin verim ve kalitesi yönünden daha iyi performans gösterdiği belirtilmiştir. Boz ırk sığırlarında içinde bulunduğu düşük süt verimine sahip olan sığırlarda B allelinin daha az sıklıkla gözlenmektedir. Yapılan bu çalışmada tespit edilen B allel frekansının (0.23) oldukça düşük olması bu durumun doğrulandığını söylenebilir.

Jann ve ark. (2004) A1 allel frekansını Yerli kara sığırlarda 0.03 ve Boz ırk sığırlarda 0.09 olarak tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, A1 allel frekansı 0.10, olarak tespit edildi. Homozigot A1 alleleline rastlanmadı ve AA1 genotip frekansı 0.102 olarak tespit edildi. Elde edilen bu sonuçlar ile Jann ve ark. (2004)'nın tespit ettiği sonuç arasında paralellik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Nadiren görülen  $\kappa$ -kazein G2 alleli ilk olarak protein düzeyinde Erhart (1996) tarafından tanımlanmıştır, Sulimova ve ark. (1996) tarafından Yak (*B. mutus grunniens*) sığırları ile Avrupa mandalarında, bundan birkaç yıl sonra Prinzenberg ve ark. (1999) tarafından nesli tükenmekte olan ırklarda DNA düzeyinde tanımlanmıştır. 148. aminoasitte Ala (GCT) ve 168. amino asitte Ala (GCC) olduğunda  $\kappa$ -kazein G2 alleli olarak belirtilmiştir (Erhart 1996; Sulimova ve ark., 1996). Yapılan bu çalışmada G2 allel frekansını 0.06 olarak tespit edildi.

$\kappa$ -kazein H alleli *B. indicus*'da tanımlanmış olmasına rağmen Güney ve Batı Avrupa'da *B. taurus*'ta görülmektedir. Jann ve ark. (2004) Türkiye yerli ırklarında içinde bulunduğu Güney ve Batı Avrupa sığır ırkları üzerine yaptığı araştırmada *B. indicus*'ta hakim olan H allelinin bu bölgedeki sığırlarda rastlamışlardır. Nitekim bu araştırmada,  $\kappa$ -kazein H allel frekanslarını Yerli kara sığırlarında 0.25, Boz ırk sığırlarda 0.33 olduğunu tespit etmişlerdir (Jann ve ark., 2004). Bu çalışmada tespit edilen H allel frekansı (0.31) ile Jann ve ark. sonuçları ile uyumlu olduğunu görülmektedir.

Temel olarak sığır  $\kappa$ -kazein geninin AA, AB ve BB olmak üzere üç genotipi vardır. Yapılan birçok çalışmada, BB

genotipine sahip sığırların AA ve AB genotipine göre daha iyi süt verimine sahip olduğunu göstermektedir. Yine BB genotipine sahip sığırların özellikle peynir üretiminde veriminin daha iyi olduğu ve AA genotipine sahip sığırlara göre peynir pıhtısı oluşumunun daha kısa sürede gerçekleştiği görülmektedir. Barsłowska ve ark. (2012) yaptığı çalışmada, genotip frekansları ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında; süt verimi için AB>AA>BB; toplam protein için BB>AB>AA,  $\kappa$ -kazein için BB>AB>AA, serum proteinleri için AA>AB>BB ve süt yağı için BB>AB>AA olarak tespit etmişlerdir (Rachagani ve Gupta., 2008) Bu çalışmaların aksine bazı çalışmalarda AA genotipinin yüksek süt verimi ile ilişkili olduğu, AB heterozigot sığırların orta seviyede ve hatta bu heterozigot sığırların homozigot sığırlardan daha iyi süt verimine sahip olduğu bildirilmektedir (Loftus ve ark., 1996). Yapılan bu çalışmada yüksek süt verimi ile ilişkilendirilen BB genotip frekansı 0.20 ile diğerlerine göre nispeten daha yüksek olmasına rağmen, toplam genotip frekansları içinde oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Yapılan bu çalışmada, Boz ırk sığırlarda süt verimi ilişkilendirilen  $\kappa$ -kazein genini A, A1, B, G2 ve H allelleri tespit edildi. Yüksek süt verimi ile ilişkilendirilen  $\kappa$ -kazein B allelinin Boz ırkta (0.23) düşük olduğu görüldü. A1 ve H allellerin A alleli ile birlikte görüldüğünü göz önünde tutarsak Boz ırk sığırların düşük süt verimi ile  $\kappa$ -kazein geni allel kompozisyonu paralellik göstermektedir. A1 ve H allelleri *B. indicus* da ve G2 alleli *B. grunniens*de tanımlanmış olması, *B. taurus* olan Boz ırkın, *B. indicus* ve *B. grunniens* ile akrabalık ilişkisinin olabileceğini göstermektedir.

Diğer sığır ırkları ile olan akrabalık ilişkisi, et ve süt kalitesi, hastalıklara ve olumsuz çevre koşullarına göstermiş olduğu direnç gibi önemli özelliklerinin farklı yetiştirme amaçları için ileriki jenerasyonlarda değerlendirilmesinde önemli bir kaynak oluşturması, gen kaynağı koruma kapsamında bulunan Boz ırkın korunmasının önemli olduğunu söylenebilir. Sonuç olarak, damızlık sığır seçiminde, süt verimi için  $\kappa$ -kazein geni B alleleline sahip olan sığırların seçimi daha doğru olacağı söylenebilir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Balıkesir Üniversitesi Etik Kurulunun izni alınarak yapılmıştır (23.12.2010/08).

Bu araştırma, Balıkesir Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2011-053 nolu proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Akiş I, Öztapak K (2013).** *Bos indicus* associated alleles in Anatolian cattle breeds support zebu introgression into Near east. *J Biol Res*, 19, 131-138.
- Alpan O, Aksoy AR (2012).** Sığır yetiştiriciliği ve besiciliği. Bursa Milis San. Tic. A.Ş. p:31.
- Aschaffenburg R, Drewry J. (1955).** Occurrence of different beta-lactoglobulins in cows milk. *Nature*, 176, 218-219.
- Barłowska J, Wolanciuk A, Litwińczuk Z, Król J (2012).** Milk Proteins' Polymorphism in Various Species of Animals Associated with Milk Production Utility. Milk Protein Edited by Walter L. Hurley Published by In Tech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia Chapter 9, P 251.
- Caroli, AM, Chessa S, Erhardt GJ (2009).** Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *J of Dairy Sci*, 92: 5335-5352.
- Chereneck P., Bulla J, (2002).** Simultaneous analysis of sex determination and κ-casein genotypes from bovine preimplantation embryos. *Czech J. Ani. Science*, 47, 8, 00-00
- Comin A, Cassandro M, Chessa, S, Ojala M, Dal Zotto R, De Marchi M, Carnier P, Gallo L, Pagnacco G, Bittante G, (2008).** Effects of composite β - and κ-casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian holstein cows. *J. of Dairy Sci*, 91, 4022-4027.
- Edwards CJ, Baird JF, MacHugh DE (2007).** Taurine and zebu admixture in Near Eastern cattle: a comparison of mitochondrial, autosomal and Y-chromosomal data. *Anim Genet*, 38, 520-524.
- Eigel WN, Butler JE, Ernstrom CA, Farrell HM, Harwalkar VR, Jenness R (1984).** Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *J. Dairy Sci*, 67, 8, 1599-1631.
- Erhart G (1996).** Detection of a new kappa-casein variant in milk of Pinzgauer. *Anim Genet*. 27, 105-107.
- Farrell, HM, Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler, JE, Creamer LK (2004).** Nomenclature of the proteins of cows' milk – sixth revision. *J Dairy Sci*, 87, 1641-167.
- Fox PF, Brodtkorb A (2008).** The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. Review *Int Dairy J*, 18, 677-684.
- Hall TA (1999).** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analyses program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series*; 41, 95-98.
- Jann O, Ibeagha-awemu EM, Ozbeyaz C, Zaragoza P, Williams JL, Ajmone-Marsan P, Lenstra JA, MOazami-goudarzi K, Erhart G (2004).** Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genetic Sel Evolution*, 36, 243-257.
- Kaminski S (1996).** Bovine kappa-casein (CASK) gene –molecular nature and application in dairy cattle breeding. *J of Applied Genetics*, 37, 176-196.
- Kök S, Atalay S, Savacı S, Eken HS (2013).** Characterization of calpastatin gene in purebred and crossbred Turkish Grey Steppe cattle. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 2, 203-206.
- Kök S, Soysal Mİ, Gürcan EK (2012).** An investigation on the carcass percentage of Anatolian Grey breed in Edirne province *J Agr Sci Tech*, A2, 1107-1112.
- Loftus RT, Ertuğrul O, Harba AH, El-Barody MAA, Macchugh DE (1999).** A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Mol Ecol*, 8, 2015-2022.
- Lundén A, Nilsson M, Janson L (1997).** Marked effect of β-lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *J Dairy Sci*, 80, 2996-3005.
- Mercier JC, Brignon G, Ribadeau-Dumas B (1973).** Structure primaire de la caséine k bovine. Séquence Complète. *Eur J Biochem*, 35, 222-235.
- Miller M, Dykes DD, Polesky HF (1998).** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16, 1215.
- Özdemir M., Doğru Ü. (2008).** Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Onemli Moleküler Markörler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 39,1, 127-135.
- Öztapak K, Toker NY, Ün C, Akiş I, Mengi A, Karadağ O, Soysal D (2010).** Leptin gene polymorphisms in native Turkish cattle breeds. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(6), 921-924.
- Prinzenberg EM, Frouse I, Erhardt G (1999).** SSCP analysis at the bovine CSN3 locus discriminates six alleles corresponding to known protein variants (A, B, C, E, F, G) and three new DNA polymorphisms (H, I, A<sub>1</sub>). *Anim Biotechno*, 10, 1&2, 49-62.
- Rachagani S, Gupta ID (2008).** Bovine kappa-casein gene polymorphism and its association with milk production traits. *Genetics and Mol Biol*, 31, 4, 893-897.
- Sulimova GE, Badagueva YN, Udina IG (1996).** Polymorphism of the κ-casein gene in populations of the subfamily Bovinae. *Genetika*, 32, 11, 1576-1582
- Threadgill DW, Womack JE (1990).** Genome analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Res*, 18, 6935-6942.
- Yeh F, Yang RC, Boyle T. (2000).** Popgene (version: 1.32). Microsoft Windows based free ware for Population Genetic Analysis. Retrieved from <http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe> (Erişim tarihi: 15/03/2014)Iran. *World J Zool.* 4 (3), 200-204.