

Bursa Bölgesinde Yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca Irkı Sığırlarda Beta Laktoglobulin (β -Ig) ve Büyüme Hormonu (bGH) Gen Polimorfizmlerinin *HaellI* ve *MspI* Restriksiyon Enzimleri Kullanılarak İncelenmesi

Yasemin ÖNER *  Murat PULLU * Oya AKIN ** Cengiz ELMACI *

* Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, TR-16059 Bursa - TÜRKİYE

** TAGEM, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, TR-06100 Ankara - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2010-3501

Özet

Bu çalışmada Bursa bölgesinde yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca sığırlarda β -Ig ve bGH gen polimorfizmleri *HaellI* ve *MspI* restriksiyon enzimleri kullanılarak incelenmiştir. İsviçre Esmer'lerinde β -Ig A ve B allellerinin frekansları sırasıyla 0.3430 ve 0.6570 olarak bulunurken, Siyah Alaca ırkına ait örneklerde sırasıyla 0.5480 ve 0.4520 olarak saptanmıştır. Hem İsviçre Esmeri hem de Siyah Alaca ırklarına ait örneklerde bGH'nun *MspI* (+) allellinin predominat olduğu belirlenmiştir. İsviçre Esmerlerinde *MspI* (+) allellinin frekansı 0.9623, Siyah Alacalarda ise 0.8158 olarak hesaplanmıştır. Her iki popülasyon, her iki lokus bakımından Hardy-Weinberg dengesinde bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: *Siyah Alaca, İsviçre Esmeri, Beta laktoglobulin, Sığır büyüme hormonu, Polimorfizm*

Investigation of Beta-lactoglobulin (β -Ig) and Bovine Growth Hormone (bGH) Genes Polymorphisms By Using *HaellI* and *MspI* Restriction Enzymes in Brown Swiss and Holstein Breeds Reared in Bursa Region

Summary

In this study polymorphism on β -Ig and bGH genes in Holstein and Brown Swiss cattle reared in Bursa region were investigated by using *HaellI* and *MspI* restriction enzymes. While frequencies of A and B alleles of β -Ig were found 0.3430 and 0.6570 in Brown Swiss population, they were found as 0.5480 and 0.4520 in Holstein population, respectively. *MspI* (+) allele of bGH was predominat in both Brown Swiss and Holstein populations with frequency of 0.9623 and 0.8158, respectively. Both of two populations were found in Hardy-Weinberg equilibrium for both of the two loci investigated.

Keywords: *Holstein, Brown Swiss, Beta Lactoglobulin, Bovine growth hormone, Polymorphism*

GİRİŞ

Moleküler genetik teknolojilerindeki gelişmeler, ekonomik özelliklerin fenotipik varyasyon göstermelerinde önemli etkileri olan farklı gen bölgelerinin ve major genlerin belirlenebilmesine olanak sağlamıştır. Seleksiyonla sağlanacak genetik ilerlemenin daha fazla olmasına olanak tanıyan Markır Destekli Seleksiyon (MAS = Marker Assisted Selection)'nun uygulanabilmesi için her bir mar-

kırın popülasyonlardaki frekansının bilinmesi gerekmektedir. Dünyada ve Türkiye'de hem ekonomik özellikler üzerinde etkili olabileceği düşünülen çeşitli gen bölgelerindeki polimorfik allellerin popülasyonlardaki frekans değerini hem de bunların söz konusu verimlerle olası ilişkilerini inceleyen pek çok araştırma yapılmıştır¹⁻³. Sığırlarda beta-laktoglobulin (β -Ig) ve büyüme hormonu (bGH)



İletişim (Correspondence)



+90 224 2941561



yaseminoner@yahoo.com

genleri, bu genlerde bulunan polimorfizmler ile çeşitli verimler arasındaki pek çok araştırıcı tarafından ortaya konulan ilişkiler nedeniyle sığırlarda uygulanan MAS programlarında kullanılmak üzere en çok üzerinde durulan aday genlerden ikisidir.

Sığır büyüme hormonu (bGH) geni, prolaktin ve placentallaktogenlerin bulunduğu bir gen ailesine dahildir. Büyüme hormonu (bGH) sığır genomunun 19. kromozomuna yerleşmiştir ve dört intron ile ayrılan beş ekzondan meydana gelen 2800 bp uzunluğunda bir gendir ^{4,6}. Bu genin ürünü olan büyüme hormonu (GH), doğum sonrası gelişim ve metabolik faaliyetlerin düzenlenmesinde temel rol oynar ve çok sayıda fizyolojik işleve sahiptir. Büyüme hormonunun, büyüme hızı, vücut kompozisyonu, sağlık ve verim özellikleri üzerinde etkili olduğu bilinmektedir.

Sığır GH geninin beşinci ekzon ⁷, üçüncü intron ⁸ ve 3' UTR bölgesinde ⁹ polimorfizmler belirlenmiştir ^{10,11}. Bunlar arasında en çok incelenlerden birisi 3. intronda bulunan *MspI* kesim bölgesidir. Alleller *MspI* geninin kesim bölgesi bulunup bulunmamasına göre *MspI* (+) veya *MspI* (-) olarak isimlendirilir. Büyüme hormonun kandaki konsantrasyonu ile süt verimi arasında doğrusal bir ilişki olduğu, kandaki bGH konsantrasyonunun da gen düzeyindeki polimorfizmlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir ¹². Bu yüzden bGH genetik varyantlarının verimlerle olan ilişkileri konusunda da çeşitli araştırmalar yapılmış ve bu araştırmaların çoğunda, süt bileşenleri ile *MspI* allelleri arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir ¹³⁻¹⁵. Ayrıca *MspI* allellerinin frekans dağılımlarının karşılaştırılması, bu allellerin frekanslarının farklı coğrafik bölgelerden köken alan sığır ırkları arasında farklılık gösterdiği de ortaya konulmuştur ^{16,17}.

Ruminantların sütlerindeki serum proteinlerinin büyük bir kısmını β -lg oluşturmaktadır ¹⁸. β -laktoglobulin'in üçüncül yapısı kanda retinol transportundan sorumlu protein olan retinol binding protein (RBP)'ne çok benzer ve her iki protein de lipokalin protein ailesine aittir. Lipokalinler moleküler yapıları nedeniyle retinol aktarımı, prostaglandin D sentezlenmesi, hücre büyüme, doku gelişimi, bağışıklık sistemi yanıtı gibi metabolik olaylarda görev alırlar ^{19,20}. β -laktoglobulin'in biyolojik fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemekle beraber yağ asiti ve lipid taşınmasında önemli rolü olabileceğini düşünülmüştür ²¹. β -laktoglobulin'in sadece amino asit bağlayan bir protein olabileceği de düşünülmektedir ²².

Sığır karyotipinin 11. kromozomda yer alan β -lg geni altı intron tarafından ayrılan yedi adet küçük ekzondan meydana gelen bir gendir ²³. Çeşitli çalışmalarda sığır β -lg genindeki polimorfizmlerle süt kompozisyonu ve peynir yapım özellikleri arasında önemli ilişkiler olduğu belirlenmiştir ²⁴⁻²⁷. Hatta β -lg genotiplerinin döl verim özelliklerine ²⁸ ve mastitise direnç üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır ^{29,30}.

Moleküler genetik markırlar kullanılarak yapılan seleksiyon, bu markırları her iki cinsiyette yaşamlarının erken dönemlerinde belirlemek mümkün olduğundan, ıslah çalışmalarının hız ve etkinliğini arttıracaktır. Ancak bu şekilde yapılan seleksiyon, popülasyondaki allel frekansına ve bu allellerin ekonomik özellikler üzerindeki etkilerine bağlıdır. Sunulan bu çalışmanın amacı Bursa ilinin Karacabey ilçesinde yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca ırkı sığırlara ait örneklerin β -lg ve bGH genleri bakımından genetik kompozisyonlarını incelemektir.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Sığır GH geninin incelenmesi amacıyla İsviçre Esmeri (n = 53) ve Siyah Alaca (n = 57) ırklarına ait toplam 110 baş dişi ve erkek sığır kullanılmıştır. Sığır β -lg geninin incelenmesi amacıyla Bursa-Karacabey ilçesindeki farklı işletmelerde yetiştirilen Siyah Alaca (n = 52) ve İsviçre Esmeri (n = 54) sığır ırklarına ait toplam 106 baş dişi ve erkek hayvan incelenmiştir. Çalışmada, İsviçre Esmeri ırkı için üç ayrı işletmeden, Siyah Alaca ırkı için ise iki ayrı işletmeden olmak üzere toplam beş farklı işletmeden elde edilen örnekler kullanılmıştır. Kan örnekleri, sığırların *V. jugularis*'inden antikoagülanlı (K_3 EDTA), vakumlu tüplere alınmış ve soğuk zincir altında laboratuara getirilmiştir.

DNA İzolasyonu

DNA izolasyonunda ticari DNA izolasyon kitinden (Fermentas, K0512) yararlanılmıştır. Elde edilen DNA'ların çoğaltılması amacıyla PZR uygulamalarına geçmeden önce, DNA'nın kalitatif ve kantitatif kontrolleri %1'lik agaroz jel elektroforezi ile yapılmıştır.

bGH ve β -lg Genlerine Ait Bölgelerin Çoğaltılması ve Restriksiyon Enzimiyle Kesilmeleri

Sığır β -lg ve bGH genlerine ait bölgelerin çoğaltılmasında, 50 ng genomik DNA, her bir primerden (Tablo 1) 0.5 μ M ve 12.5 μ l 2XPCR Master Mix (Fermentas, K0171)'den oluşan 25 μ l reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan enzimler ve primer dizileri Tablo 1'de verilmiştir ^{31,32}.

Beta laktoglobulin genine ait PZR ürünleri 4U *HaeIII* restriksiyon endonükleaz (Takara Bio Inc.) ile 37°C'de üç saat reaksiyona bırakılmıştır. Sığır büyüme hormonu genine ait PZR ürünleri ise 3U *MspI* restriksiyon endonükleaz (Takara Bio Inc.) ile 37°C'de dört saat inkübasyona ve bunu takiben 65°C'de 20 dak. inaktivasyona bırakılmıştır. Kesim sonrası elde edilen kesim ürünleri %2'lik elektroforezi sonrası UV ışığı altında gözlenmiştir (Şekil 1).

İstatistiksel Analizler

İncelenen örneklerde β -lg ve bGH genlerine ait allel frekanslarının tahmin edilmesinde gen sayma yöntemi

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer ve restriksiyon enzimleri (RE)**Table 1.** Primers and restriction enzymes (RE) used in the study

Gen	Annealing Sıcaklığı	bç	Primerler (5' → 3')	RE	n
β -lg	57°C	262	GTCCTTGTGCTGGACACCGACTACA CCCAGGACACCGGCTCCCGGTATAT	<i>HaeIII</i>	106
bGH	52°C	329	CCCACGGGCAAGAATGAGGC TGAGAACTGCAGGGGCCCA	<i>MspI</i>	110

kullanılmıştır. İncelenen populasyonlarda β -lg ve bGH genleri bakımından genetik denge kontrolü ve tüm hesaplamalar PopGene32 programı³³ kullanılarak gerçekleştirilen ki-kare (χ^2) testi ile yapılmıştır. Populasyonların β -lg ve bGH için gen ve genotip frekansları **Tablo 2'**de verilmiştir.

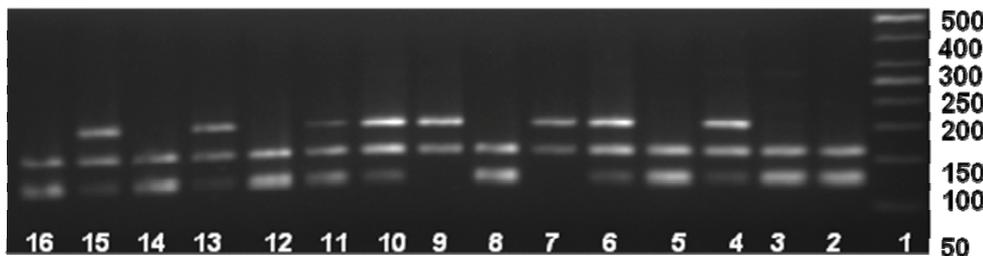
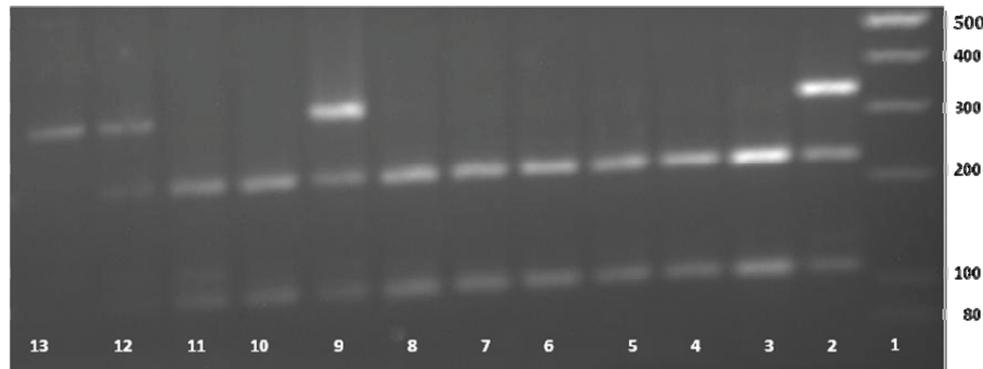
İrklara göre genotip frekanslarının dağılımı ki-kare testlerinden olabilirlik oran yaklaşımı, allel frekanslarının dağılımı ise Fisher Exact testi kullanılarak Minitab 15.0 ve SPSS 17.0 programları ile analiz edilmiştir. Ki-kare testi sonrası kategori karşılaştırmalarında iki oran z testi kullanılmıştır.

BULGULAR

β -laktoglobulin genine ait 262 bç'lik PZR ürünlerinin *HaeIII* ile kesilmesi sonucu 79, 109 ve 153 bç büyüklüğünde üç bant elde edilmiştir. Her üç banta sahip örnekler heterozigot (AB), 109 ve 153 bç'lik banta sahip örnekler homozigot AA ve 79 (79 + 74) ve 109 bç'lik ikişer bantın gözleendiği örnekler ise BB olarak isimlendirilmiştir. Sığır GH'na ait 329 bç'lik PZR ürünlerinin *MspI* ile kesilmesi sonucu 224 bç'lik ve 105 bç'lik iki bant veren örnekler

+/+, 329 bç, 224bç ve 105 bç'lik parçaların gözleendiği örnekler -/+ ve 329 bç'lik tek bir parça veren örnekler -/- olarak isimlendirilmiştir (**Şekil 1**). β -lg ve bGH allellerine ait frekanslar her iki populasyon için **Tablo 2'**deki gibi bulunmuştur. Ki-kare testi sonucu her iki populasyonun da, her iki lokus bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir (**Tablo 2**). Siyah Alaca ırkında AA ve AB genotiplerinin oranı İsviçre Esmeri'ne göre daha yüksek bulunurken, İsviçre Esmeri ırkında BB genotipinin oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı zamanda A allelinin Siyah Alaca populasyonundaki frekansının İsviçre Esmeri popülasyona göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda iki ırk arasındaki allel ve genotip frekanslarındaki farklılıkların önemli olduğu anlaşılmıştır ($P < 0.01$).

Her iki populasyonda da bGH lokusunun *MspI* (+) allelli bakımından belirgin biçimde predominant olduğu gözlenmiştir. Homozigot *MspI* (-/-) genotipi İsviçre Esmeri populasyonunda hiç bulunmazken, Siyah Alaca populasyonunda sadece iki adet hayvanda belirlenmiştir. Her iki populasyonda da *MspI* (-) allelinin frekansı *MspI* (+) alleline göre daha düşük olmasına rağmen Siyah Alaca

a) β -lg'e ait jel görünümü

b) bGH'e ait jel görünümü

Şekil 1. β -lg ve bGH'ye ait PZR ürünlerinin *HaeIII* and *MspI* ile kesimlerinden sonraki elektroforetik görünümü a) 1. sıra 50 bç'lik Markır, 7 ve 9. Sıralar AA; 4,6,10,11,13 ve 15. sıralar AB; 2,3,5,8,12,14 ve 16. sıralar BB b) 1. sıra 100 bç'lik markır, 3,4,5,6,7,8,10,11. sıralar +/+; 2,9 ve 12. sıralar -/+; 13. sıra -/-

Fig 1. Electrophoretic pattern of PCR products of β -lg (a) and bGH (b) after digestion with *HaeIII* and *MspI* a) Line 1, 50 bp DNA ladder, line 7 and 9 AA; line 4,6,10,11,13, and 15 AB; line 2,3,5,8,12,14, and 16 BB b) Line 1, 100 bp DNA ladder, line 3,4,5,6,7,8,10, and 11 +/+; line 2,9, and 12. -/+; line 13 -/-

Tablo 2. İsviçre Esmer ve Siyah Alaca populasyonlarında β -Ig ve bGH allel ve genotip frekanslarının dağılımları**Table 2.** Distributions of allele and genotype frequencies of β -Ig and bGH genes in Brown Swiss and Holstein populations

Lokus	İrk	N	Allel Frekansları		Genotip Frekansı			İrkların Karşılaştırması	χ^2 (HW)
			<i>MspI</i> (+)	<i>MspI</i> (-)	<i>MspI</i> (+/+)	<i>MspI</i> (-/+)	<i>MspI</i> (-/-)		
bGH	İE	53	0.9623	0.0377	0.9250 (49)	0.0750 (4)	- (-)	P<0.01	0.018 ^{öd}
	SA	57	0.8158	0.1842	0.6670 (38)	0.2980 (17)	0.0350 (2)		0.701 ^{öd}
β -Ig			β -IgA	β -IgB	β -IgAA	β -IgAB	β -IgBB	P<0.01	
	İE	54	0.3430	0.6570	0.1110 (6)	0.4630 (25)	0.4260 (23)		0.060 ^{öd}
	SA	52	0.5480	0.4520	0.2690 (14)	0.5580 (29)	0.1730 (9)	0.015 ^{öd}	

İE: İsviçre Esmeri, SA: Siyah Alaca, öd: Önemli değil, P<0.01, HW: Hardy-Weinberg Dengesi

populasyonundaki *MspI* (-) allel frekansının daha fazla olduğu ve de Siyah Alaca populasyonda *MspI* (-/+) genotipinin frekansının İsviçre Esmeri populasyona göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.01).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Siğir büyüme hormonunun üçüncü ekzonunda meydana gelen ve *MspI* kesim bölgesini ortadan kaldıran mutasyon, üretim özellikleri ile olan olası ilişkileri, farklı coğrafi bölgelerde yetiştirilen ırklar arasındaki genetik mesafenin belirlenebilmesinde ve ırkların kökeninin araştırılmasındaki kullanılabilirliği nedeniyle ilgi görmektedir ¹⁴⁻¹⁷.

Yapılan araştırmalarda *MspI* allel frekanslarının dağılımlarının coğrafi kökenleri farklı siğir ırkları arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir ^{16,17}. Hindistan'da yetiştirilen hörgüçlü siğirlardan (*Bos indicus*) köken aldığı ileri sürülen *MspI* (-) allelinin daha sonra Doğu ve Kuzey Avrupa ile Akdeniz'de bulunan hörgüçsüz siğirlara (*Bos taurus*) yayıldığı ve hörgüçsüz siğirler arasındaki frekansının da daha düşük olduğu bildirilmiştir ^{16,17}.

Sunulan bu çalışmada elde edilen *MspI* allel frekansları diğer ülkelerde yetiştirilen Siyah Alaca siğirlardan elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur ³⁴⁻³⁷. Türkiye'de yetiştirilen Siyah Alaca ırkı siğirlarda da sınırlı sayıda olsa da bu konuda yapılan çalışmalar bulunmaktadır ^{38,39}. Özkan ve ark. nın ³⁸ gerçekleştirdiği çalışmada *MspI*(-) allelinin frekansı, sunulan çalışmada elde edilen değerle uyumlu olup, 0.1700 olarak belirlenmiştir. Ancak Baklacı'nın ³⁹ Adana bölgesinde yetiştirilen Siyah Alaca siğir ırkından örneklerle gerçekleştirdiği çalışmasında ise *MspI*(-) allelinin frekansını 0.4750 gibi orta bir değerde hesaplamış ve bu durumu beklenen değerden çok üzerinde heterozigot bireylerin bulunmasına bağlamıştır. Yapılan kaynak araştırması sonucunda Türkiye'de yetiştirilen İsviçre Esmeri ırkında *MspI* polimorfizmine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Avrupa kökenli her iki ırktaki *MspI*(-) allelinin düşük frekansı, bu allelin Avrupa ırklarında düşük frekansta bu-

lunduğu bulgusu ile uyumludur ¹⁶. Türkiye'deki yerli siğir ırklarıyla yapılan çalışmalarda *MspI*(-) allelinin frekans değeri orta düzeyde (0.2200-0.5250) belirlenmiştir ³⁸⁻⁴⁰.

MspI kesim bölgesi transcription-binding bölgesinde bulunduğundan ⁴¹ bu bölgedeki polimorfizm ile verim özellikleri arasındaki ilişkileri inceleyen çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Araştırma sonuçlarının ortaya koyduğu genel görüş, *MspI*(-) allelinin süt yağ ve protein miktarındaki ^{13,34,35}, *MspI*(+) allelinin ise süt verimindeki artış ile ilişkili olduğudur ³⁵⁻³⁷.

β - laktoglobulin A ve B allellerinin frekans dağılımları dünyanın çeşitli bölgelerinde yetiştirilen farklı ırklarda incelenmiştir. İncelenen her iki siğir populasyonunda da AB genotipi diğer iki genotipe göre daha yüksek frekansta olup, daha önce yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu gözlenmiştir ^{2,3,42-44}. Ancak farklı ülkelerde ve Türkiye'de yetiştirilen Siyah Alaca'lardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldıklarında, diğer araştırma sonuçlarından farklı olarak Bursa bölgesinde yetiştirilen Siyah Alaca ırkı örneklerde β -Ig A allelinin frekansı 0.5480'lik bir değerle daha yüksek bulunmuştur. Farklı ülkelerdeki Siyah Alaca populasyonlarında yapılan çalışmalarda β -Ig A allelinin frekansı 0.2310 ila 0.4770 arasında, Türkiye'de gerçekleştirilen çalışmalarda ise 0.2670 ila 0.5160 arasında değişmektedir ^{3,45-49}. Kaygısız ve Doğan'nın ⁴⁹ çalışmasında β -Ig A allelinin frekans değeri β -Ig B'ye göre yüksek bulunmuştur.

β -laktoglobulin A ve B allellerinin İsviçre Esmeri ırkında hesaplanan frekans değerleri ise, farklı ülkelerde ve Türkiye'de gerçekleştirilen çalışmalarla uyumludur. İncelenen farklı İsviçre Esmeri populasyonlarda β -Ig A allele ait frekans değerleri 0.3900 ila 0.5340 arasında değişmektedir ^{3,48,50-52}. Bu değerlerden sadece Doğan ve Kaygısız ⁵² β -Ig A allelinin frekans değeri β -Ig B'ye göre yüksek, 0.5340 olarak belirlemiştir.

Türkiye'de verim özelliklerini etkileyen ya da etkilediği düşünülen genlerdeki polimorfizm çalışmalarının çok bü-

yük bir kısmı sadece polimorfizmin varlığını ve miktarını belirlemeye yöneliktir. Bunların verim özellikleri ile ilişkilerinin incelendiği çalışma, yok denecek kadar azdır. Ekonomik anlamda önemli özellikler üzerine etkili genler bakımından mevcut populasyonların genetik yapısının ortaya konmasının gerekliliği hem Türkiye'nin bu anlamdaki varlığını ortaya koymak hem de seleksiyon programlarının yapılandırılmasındaki faydası bakımından açıktır. İncelemek lokus sayısının artırılması ve bunlardan elde edilen sonuçların hayvanlara ait verim ve pedigrî kayıtları ile birleştirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Öztabak K, Toker NY, Ün C, Akış I, Mengi A, Karadağ O, Soysal D:** Leptin gene polymorphism in native Turkish cattle breeds. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (6): 921-924, 2010.
2. **Lien S, Kantanen J, Olsaker I, Holm LE, Eythorsdottir E, Sadberg K, Dalsgard B, Adalsteinsson S:** Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds. *Anim Genet*, 30, 85- 91, 1999.
3. **Özdemir M:** Çeşitli sığır ırklarında süt protein polimorfizmi ve verim özellikleri ile ilişkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Atatürk Üniversitesi Fen Bil Enst, Erzurum, 2001.
4. **Hediger R, Johnson SE, Barendse W, Drinkwater RD, Moore SS, Hetzel J:** Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-qter in cattle and to 11q25-qter in sheep by in-situ hybridization. *Genomics*, 8, 171-174, 1990.
5. **Woychik RP, Camper SA, Lyons RH, Horowitz SE, Goodwin C, Rottman FM:** Cloning and nucleotide sequencing of the bovine growth hormone gene. *Nucleic Acids Res*, 10, 7197-7210, 1982.
6. **Gordon DF, Quick DP, Erwin CR, Donelson JE, Maurer RA:** Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene. *Mol Cell Endocrinol*, 33, 81-95, 1983.
7. **Lucy MC, Hauser SD, Eppard PJ, Krivi GG, Collier RJ:** Genetic polymorphism within the bovine somatotropin (bST) gene detected by polymerase chain reaction and endonuclease digestion. *J Dairy Sci*, 74, 284, 1991.
8. **Zhang HM, Brown DR, Denise SK, Ax RL:** Rapid communication polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of the bovine somatotropin gene. *J Anim Sci*, 71, 2276, 1993.
9. **Unanian MM, Denise SK, Zhang HM, Ax RL:** Rapid communication: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in the bovine growth hormone gene. *J Anim Sci*, 72, 2203, 1994.
10. **Rocha LJ, Baker JF, Womack JE, Sanders JO, Taylor JF:** Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and quantitative traits in beef cattle. *J Anim Sci*, 70, 3360-3370, 1991.
11. **Reis C, Navas D, Pereira M, Cravador A:** Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch Zootec*, 50, 41-48, 2001.
12. **Choi YJ, Yim DS, Cho JS, Cho BD, Na KJ, Baik MG:** Analysis of RFLP in the bovine growth hormone gene related to growth performance and carcass quality of Korean native cattle. *Meat Science*, 45, 405-410, 1996.
13. **Hoj S, Fredholm M, Larsen NJ, Nielsen VH:** Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle. *Anim Genet*, 24, 91-96, 1993.
14. **Lagziel A, Lipkin E, Soller M:** Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. *Genetics*, 142, 945-951, 1996.
15. **Lagziel A, Lipkin E, Ezra E, Soller M, Weller JI:** An *MspI* polymorphism at the bovine growth hormone (bGH) gene is linked to a locus affecting milk protein percentage. *Anim Genet*, 30, 296-299, 1999.
16. **Lagziel A, Denise S, Hanotte O, Dhara S, Glazko V, Broadhead A, Davoli R, Russo V, Soller M:** Geographic and breed distribution of an *MspI* PCR-RFLP in the bovine growth hormone (bGH) gene. *Anim Genet*, 31, 210-213, 2000.
17. **Sodhi M, Mukesh M, Prakash B, Mishra BP, Sobti RC, Singh KP, Singh S, Ahlawat SPS:** *MspI* allelic pattern of bovine growth hormone gene in Indian Zebu cattle (*Bos indicus*) breeds. *Biochem Genet*, 30, 296-299, 2007.
18. **Libertatori J:** β -Lactoglobulins. Chemical and structural studies. *Veterinaria-Latina*, 7 (3): 205-222, 1977.
19. **Flower DR:** The lipocalin protein family: Structure and function. *Biochem J*, 318, 1-14, 1996.
20. **Akerstrom B, Flower DR, Salier JP:** Lipocalins: Unity in diversity. *Biochim Biophys Acta*, 1482, 1-8, 2000.
21. **Pérez MD, Villegas CD, Sánchez L, Aranda P, Ena JM, Oria R, Calvo M:** Effects of β -Lactoglobulin on the activity of pregastric lipase. A possible role for this protein in ruminant milk. *Biochim Biophys Acta*, 106, 1094-1097, 1992.
22. **Tekinşen CO, Nizamlioğlu M:** Süt kimya. *SEL-ÜN Vakfı Yayınları*, Konya, 2001.
23. **Alexander LJ, Hayes G, Pearse MJ, Beattie CW, Stewart AF, Willis IM, MacKinlay AG:** Complete nucleotide sequence of the bovine β -lactoglobulin gene. *Anim Biotechnol*, 4, 1-10, 1993.
24. **Aleandri R, Buttazzoni LG, Schneider JC, Caroli A, Davori R:** The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *J Dairy Sci*, 73, 241-255, 1990.
25. **Hill JP:** The relationship between β -lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. *J Dairy Sci*, 76, 281-286, 1993.
26. **Lunden A, Nilsson M, Janson L:** Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *J Dairy Sci*, 80, 2996-3005, 1997.
27. **Ikonen T, Ojala M:** Effects of composite casein and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. *Agr Food Sci Finland*, 6, 283-294, 1997.
28. **Lin CY, Mcallister AJ, Ng-Kwai-Hang, Hayes JF, Batra TR, Lee L, Roy GL, Vesely JA, Wauth JM, Winter KA:** Association of milk protein types with growth and reproductive performance of dairy heifers. *J Dairy Sci*, 70, 29-39, 1987.
29. **Atroshi F, Kangasniemi R, Honkanen-Buzalski T, Sansrom M:** β -lactoglobulin phenotypes in Finnish-Ayrshire and Friesian cattle with special reference to mastitis indicators. *Acta Vet Scand*, 23, 135-143, 1982.
30. **Zitny J, Tracovicka A, Michalickova E, Kubek A, Hedera M:** Milk protein polymorphism and mastitis in Slovakian Pied cows. *Acta Zootec*, 50, 79-86, 1995.
31. **Medrano JF, Aguilar-Cordova E:** Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. *Anim Biotechnol*, 1, 73-77, 1990.
32. **Dybus A:** Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Anim Sci Pap Rep*, 20, 203-212, 2002.
33. **Yeh F, Yang RC, Boyle T:** Popgene(v.1.32), Microsoft windows-based freeware for population genetic analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe>, 2000.
34. **Falaki M, Gengler N, Sneyers M, Prandi A, Massart S, Formigoni A, Burny A, Portetelle D, Renaville R:** Relationships of polymorphisms for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J Dairy Sci*, 79, 1446-1453, 1996.
35. **Yao J, Aggrey SE, Zadworny D, Hayes JF, Kuhnlein U:** Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. *Genetics*, 144, 1809-1816, 1996.
36. **Sabour MP, Lin CY, Smith, C: 1997.** Associations of genetic variants

of bovine growth hormone with milk production traits in Holstein cattle. *J Anim Breed Genet*, 114, 435-442, 1997.

37. Zhou GL, Jin HG, Liu C, Guo SL, Zhu Q, Hou WY: Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J Biosci*, 30, 595-598, 2005.

38. Özkan E, Soysal Mİ, Dinç H, Sönmez G, Okyar M, Togan İ: Türkiye sığır ırklarında büyüme hormonu *Alul* ve *Msp1* polimorfizminin PZR-RFLP yönteminin kullanılarak belirlenmesi. 6. *Ulusal Zootekni Kongresi*, 24-26 Haziran, Erzurum, 93-102, 2009.

39. Baklacı C: Türkiye yerli sığır ırklarının büyüme hormonu geni polimorfizmi. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bil Enst, Adana, 2005.

40. Yardibi H, Hosturk GT, Paya I, Kaygısız F, Çiftçioğlu G, Mengi A, Oztabak K: Associations of growth hormone gene polymorphism with milk production traits in South Anatolian and East Anatolian Red cattle. *J Anim Vet Adv*, 8, 1040-1044, 2009.

41. Parmentier I, Portetelle D, Gengler N, Pradi A, Bertozzi C, Vleurick L, Gilson R, Renaville R: Candidate gene markers associated with somatotrophic axis and milk selection. *Domest Anim Endocrinol*, 17, 139-148, 1999.

42. Mayer HK, Marchler A, Prohaska C, Norz R: Milk protein polymorphism in Australian dairy cattle breeds. *Michwissenschaft*, 52, 365-369, 1997.

43. Oner Y, Elmaci C: Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *Int J Dairy Technol*, 59, 180-182, 2006.

44. Botaro BG, Lima YVR, Aquino AA, Fernandes RHR, Garcia JF,

Santos MV: Effect of beta-lactoglobulin polymorphism and seasonality on bovine milk composition. *J Dairy Res*, 75, 176-181, 2008.

45. Lin CY, Mcallister AJ, Ng-Kwai-Hang KF, Hayes JF: Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 69, 704-712, 1986.

46. Sabour MP, Lin CY, Keogh A, Mechanda SM, Lee J: Effects of selection practiced on the frequencies of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes in Canadian artificial insemination bulls. *J Dairy Sci*, 76, 274-280, 1993.

47. Lien S, Kantanen J, Olsaker I, Holm LE, Eythorsdottir E, Sadberg K, Dalsgard B, Adalsteinsson S: Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds. *Anim Genet*, 30, 85-91, 1999.

48. Doğru Ü, Dayioğlu H, Aksoy A: Esmer, Siyah- Alaca, Sarı- Alaca Sığır ırklarının süt proteinleri bakımından genetik yapısı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (1): 12-20, 1997.

49. Kaygısız A, Doğan M: Siyah Alaca İneklerde süt protein polimorfizminin genetiği ve süt verim özellikleriyle ilişkisi. *Türk J Vet Anim Sci*, 23 (3): 447-454, 1999.

50. Eenennaam AV, Medrano JF: Milk protein polymorphism in California dairy cattle. *J Dairy Sci*, 74, 1730-1742, 1991.

51. Doğan M: Süt protein polimorfizmi ve polimorfizm ile sütün bazı komponentlerinin ilişkisi. *Doktora Tezi*, Trakya Üniversitesi, Fen Bil Enst, Tekirdağ. 1996.

52. Doğan M, Kaygısız A: Türkiye'deki İsviçre Esmer Sığırlarda süt protein polimorfizmi ile verim özellikleri arasındaki ilişkiler. *Türk J Vet Anim Sci*, 23 (1): 47- 49, 1999.