

ATLARDA SERUM ESTERAZ SİSTEMİNİN ELEKTROFORETİK BELİRLENMESİ

Cahit Bağcı¹

Faruk Doğrul²

The determination of serum esterase system in horses by electrophoresis

Summary: *In this study, a total of 264 horse serum samples (120 arabian horses + 144 Thoroughbred Horses) were obtained in order to detect the esterase system in horses in Turkey by an electrophoretic method. Esterase types were determined using a combination of asidic horizontale starch gel electrophoresis and alkaline polyacrylamide gel electrophoresis.*

The results of the research have enabled the determination of FF, FI, GI, II and IS phenotypes in arabian horses and FF, FI, FS, II and IS phenotypes in Thoroughbred horses. The gene frequencies have been determined as $F=0.058$, $G=0.042$, $I=0.883$, and $S=0.017$ for arabian horses and $F=0.083$, $G=0$, $I=0.865$ and $S=0.052$ for Thoroughbred horses.

Özet: *Bu çalışmada Türkiye atlarında esteraaz sisteminin elektroforetik olarak belirlenmesi için 120 safkan arap, 144 safkan ingiliz olmak üzere toplam 264 at serumu kullanılmıştır. Esteraz tipleri asidik horizontal nişasta jel elektroforezi ile alkali poliakrilamid jel elektroforezi birlikte kullanılarak belirlenmiştir.*

Araştırma sonucunda arap atlarında FF, FI, GI, II ve IS; ingiliz atlarında FF, FI, FS, II ve IS fenotipleri belirlenmiş ve arap atları için $F=0.058$, $G=0.042$, $I=0.883$, $S=0.017$; İngiliz atları için $F=0.083$, $G=0$, $I=0.865$, $S=0.052$ gen frekansları hesaplanmıştır.

Giriş

Omurgalılarda serum esterazı üzerinde ilk kez Auguston (5) durmuş ve esterazın çok çeşitliliğine dikkat çekmiştir. Atlarda ise

1 Araş.Gör.Dr. AÜ. Vet. Fak. Fiziyojii Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

2 Dr., Etlik Hay. Hast. Araş. Ens., Ankara, Türkiye.

esteraz sistemi üzerinde ilk defa Okhi ve arkadaşlarıca (14) çalışılmış 94 atta 11 esteraz bölgesinin varlığını genetik olarak kontrolünün mümkün olduğunu düşünmüşlerdir.

Gahne (7), yaptığı araştırmada atlarda 6 fenotip tanımlanmış ve bunları F,I,S homozigot; FI, FS ve IS heterozigot olarak adlandırmıştır. Daha sonra yapılan araştırmalarda (4.6.10). bu allellere EsG, EsH, EsO ve EsX eklenmiştir.

1989 yılı karşılaştırmalı test sonuçlarına göre de esteraz sistemi F,G,H,I,S,O,R şeklinde klasifiye edilmiştir (2).

Ülkemizde atlarda esteraz sistemi üzerine yayınlanmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırma ülkemizde yetiştirilen ve soy kütüğü tutulan atlarda esteraz sisteminin de kaydının sağlanması ve araştırmacılara yön vermesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırma Etlik Veteriner Kontrol Araştırma Laboratuvarına gönderilen 120 safkan arap ve 144 safkan ingiliz olmak üzere toplam 264 kan serumu üzerinde yürütülmüştür.

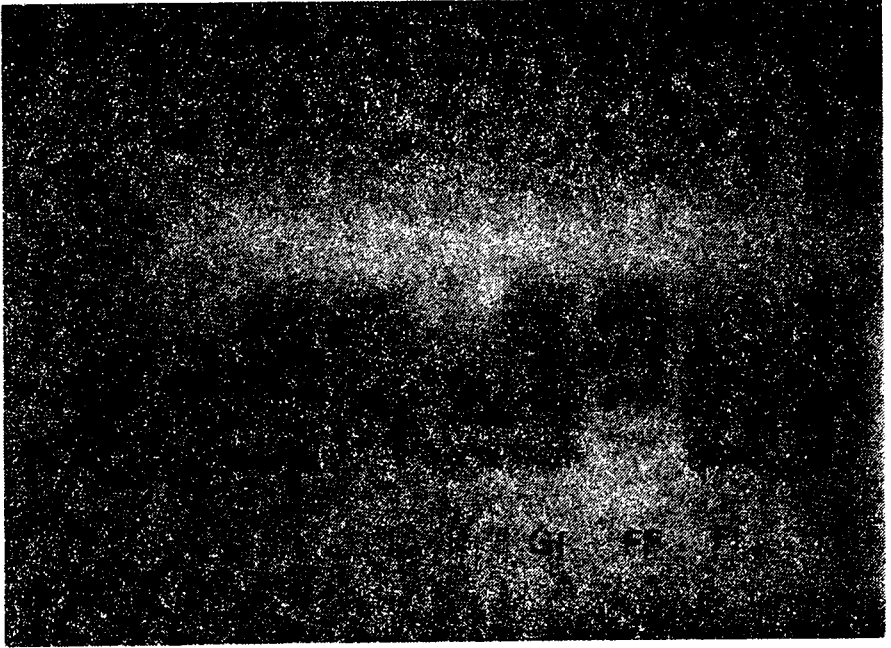
Esteraz fenotipleri alkali pH da poliakrilamit jel elektroforezi ve asit pH da nişasta jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Alkali poliakrilamit jel elektroforezi, Gahne ve arkadaşları (8) tarafından kullanılan metodun, asidik nişasta jel elektroforezi ise Scot (15) tarafından kullanılan metodun modifiye edilmesi ile gerçekleştirilmiştir.

pH 7.8 lik jel solüsyonu (Tris 0.09375 M.) ile % 4, % 8, %12' lik 3 kademeli poliakrilamit jel cam plakalar arasında dökülerek hazırlanmış ve numuneler Whatman 7 nolu kağıtlara emdirilerek jel üzerine tatbik edilmiştir. pH 9'luk elektrot tamponu (Tris borat 0.065 M.) kullanarak soğukta 1750 V., 75 mA de göç başlatılmış ve 3 dakika sonunda kağıtlar alınarak göçe 10 cm. oluncaya kadar devam edilmiştir. Daha sonra esteraz kısmı α Naftol asetat ile boyanmıştır.

Asidik nişasta jel elektroforezi için pH 4.5'lük jel solüsyonu (0.5 M sitrik asit 0.2 M. tris) ile % 11.6'lık hazırlanan nişasta jeli üzerine Watman 44 nolu filtre kağıdına emdirilen numuneler tatbik edilerek 300 V. da 1/2 saat, 400, 500 V. da birer saat göçe tabi tutulmuştur. Göç işlemini takiben nişasta yanlamasına ortadan kesilerek α Naftol asetat ile boyanmış ve değerlendirilmiştir.

Bulgular

Araştırmamızda kullanılan 120 arap, 144 İngiliz olmak üzere toplam 264 atta serum esteraz tipi olarak F,G,I ve S olmak üzere 4 tip belirlenmiş ve bunların homozigot ve heterozigot olmak üzere 6 fenotipi bulunmuştur. Şekil 1 de nişasta jel elektroforezindeki esteraz bantları verilmiştir. Ayrıca Tablo 1 de İngiliz ve arap atlarında gen frekansları, Tablo 2 de ise fenotip dağılımı gösterilmektedir.



Şekil 1. Nişasta jel elektroforezinde esteraz bantları.

Figure 1. The esterase bands on starch gel electrophoresis.

Tablo 1. Arap ve İngiliz atlarında esteraz fenotipleri dağılımı.

İrk		FF	FI	FS	GI	II	IS	Toplam
Arap	Gözlener	2	10	-	10	94	4	120
	Beklenen	1	12	1	9	94	3	$P > 0.05$
İngiliz	Gözlener	1	21	1	-	108	13	144
	Beklenen	2	18	2	-	109	13	$P > 0.05$

Tablo 2. Arap ve İngiliz atlarında esteraz sistemi gen frekansları.

İrk	EsF	EsG	EsI	EsS
Arap	0.058 ± 0.015	0.042 ± 0.013	0.883 ± 0.020	0.017 ± 0.008
İngiliz	0.083 ± 0.016		0.865 ± 0.020	0.052 ± 0.013

Tartışma ve Sonuç

Araştırmamız sonuçları ve literatür bildirimlerinden (9, 11) elde edindiğimiz bilgilere göre esteraz alkali pH'da F, I, S şeklinde 3'e ayrılmakta olup, asit pH'da görülmeyen S bandı buradan değerlendirilmektedir. Diğer F bandı F ve G, I bandı ise H ve I olarak asit pH'da 4'ce ayrılmaktadır. Bunun da asit pH'dan değerlendirerek sonuçlar elde olunmaktadır.

Araştırmamız sonuçlarına göre Türkiye safkan arap atlarında bulunan esteraz fenotipleri FF, FI, GI, II ve IS şeklinde, safkan İngiliz atlarında ise, FF, FI, FS ve IS şeklinde bir dağılım göstermektedir. Tablo 2 incelendiğinde gen frekansları arap atlarında $F=0.058$, $G=0.042$, $I=0.883$, $S=0.017$, İngiliz atlarında ise $F=0.083$, $G=0.052$, $I=0.865$, $S=0.013$ şeklinde olduğu görülmektedir.

Bu sonuçlar Kaminski ve arkadaşlarının (11) arap atları için $F=0.028$, $G=0.086$, $I=0.864$, $S=0.021$, İngiliz atı için $F=0.058$, $G=0.042$, $I=0.914$, $S=0.028$ değerleri ve Trommerhausen ve arkadaşlarının (16) arap atı için $F=0.020$, $G=0.035$, $I=0.935$, $S=0.010$, İngiliz atı için $F=0.055$, $G=0.155$, $I=0.705$, $S=0.085$ bildirimleri ile uyumlu olmasına karşın, Van Haerengen ve arkadaşlarının (17) Fresian atları için bildirdikleri $F=0.008$, $G=0.481$, $I=0.504$, ve Aguilar ve arkadaşlarının (1) Endülüs atı için $F=0.027$, $G=0.267$, $H=0.021$, $I=0.675$, $S=0.009$ olarak bildirdikleri değerlerden biraz farklıdır. Bu da ırklar arasında geniş farklılığın bulunduğu şeklinde açıklanmaktadır.

Tablo 2 incelendiğinde her iki ırkta da gen frekansları Hardy-Weinberg kuralına (3) uygunluk göstermekte olup beklenen değerler gözlenen değerler arasındaki farkın önemi $P>0.05$ şeklindedir. Bu da populasyonun dengede olduğunu gösterir.

İrklar arası karşılaştırma yapıldığında her iki ırkta da I geninin baskın olduğu, arap atlarında gözlenen GI fenotipinin İngiliz atlarında

görülmeyeceği, İngiliz atında gözlemlenen FS rin de arap atında bulunmadığı dikkati çekmektedir. Bu da genotiplerinin dağılımının ırklardan bağımsız olmadığı gözlenen fenotipik farklılığın ırklara bağlı olduğu şeklinde açıklanmaktadır. Nitekim literatür bildirimleri (10, 12, 13) arasında yer alan bazı ırklardaki H O R tiplerine ülkemiz atlarında rastlanılmamıştır.

Sonuç olarak esteraz sisteminin belirlenebilmesi için alkali poliakrilamid jel elektroforezi ile asidik nişasta jel elektroforesinin birlikte yürütülmesi gerekmektedir. Böylece elde olunan sonuçlar ülkemiz at yetiştiriciliğinin genetik kontrolünün daha güvenilir hale gelmesini sağlayacaktır. Ayrıca bu sistemin bu konuda çalışan araştırmacılara ışık tutacağına inanmaktayız.

Kaynaklar

1. **Aguilar, P., Rguez, .PP., Vega, J.L. Andres, D.F.** (1992). *Blood group and protein polymorphism gene frequencies for the Andalusian breed*. ISAG Conference Interlaken b 15.
2. **Andres, D.F.** (1990). Personal communication. Cordoba Ü. Vet. Fak.
3. **Andrew, G.C.** (1989). Principles of population genetics. second edition. U.S.A.
4. **Ariza, A., Aydes, D.F. Aguilar, P., Alvarez, A., Garzon, R.** (1979). *Polimorfismos Bioquímicos en Coballos*. Archives de Zootechnia 28 (111): 221-238.
5. **Augustion, K.B.** (1961). Ann. N.Y. Acad. Sci., 94, 844.
6. **Fisher, R.A. and CScott, A.M.** (1978). *Isoelectric focusing of horse serum esterase isozymes and detection of new phenotypes*. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. 9: 207-213.
7. **Gahne, B.** (1966). *Studies on inheritance of electrophoretic forms of transferrin albumin prealbumin and plasma esterase of horses*. Genetics. 53; 681-694.
8. **Gahne, B., Juneja R.K., Grolmus, J.** (1977). *Horizontal polyacrylamide gradient electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle*. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. 8: 127-137.
9. **Kaminski M.** (1974). *Esterase phenotypes in horse*. Anim. Blood Frps. Biochem. Genet. 5 (Supl. 1): 23.
10. **Kaminski, M.** (1978). *The null allele in the horse esterase (ES) system detected by enzyme assay and rockert immunoelectrophoresis in heterozygous*. Anim. Blood Frps. Biochem. Genet. 9: 197-205.
11. **Kaminski, M. and Andres, D.F.** (1986). *Electrophoretic Markers of Andalusian Horses. Comparison of Spanish and Lusitanian Lineages*. Comp. Biochem. Physiol (83B) 3: 575-588.

12. **Kaminski, M., Urbanasko, H.** (1980). *Structure Genetique des Chevaux Arabes de France : Variants Electrophoretiques sanguins*. Rev. Med. Vet. 131; 613-626.
13. **Nishimura, T. and Watanabe, S.** (1974). *Studies on serum esterase isozymes in ponies*. J. of Agricultural Science of the Tokya University. 18, 231-237.
14. **Okhi, Y., Oliver, W.T. and Funnel, H.S.** (1964). *Multiple forms of cholinesterase in horse, pasma*. Nature. 201; 506.
15. **Scott, A.M. R**(1979). *Prealbumins in Arab horses: a models for a better interpretation of the system*. XVI th Conference ISABR, Abstracts, 4: IV, 180-190.
16. **Trommershausen, B. and Clark, R.S.** (1985). *Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States*. Anim. Blood. Grps. Biochem. Genet., 16; 93-108.
17. **Van Haeringen, W.A. and Van Haeringen, H.** (1992). *Genetic markers in Friesian horses*. ISAG. Conference. 7. Interlaken Switzerland.