

## Türkiye’de yetiştirilen safkan Arap atlarında anne, baba ve yavruya ait alyuvar katalaz, karbonik anhidraz ile plazma proteaz inhibitör enzim sistemlerinin elektroforetik olarak incelenmesi \*

Devrim SARIPINAR<sup>1</sup>, Nesrin SULU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Hatay; <sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Özet:** Bu araştırmada, 254 safkan Arap atında katalaz ve karbonik anhidraz enzim sistemleri ve 112 safkan Arap atında proteaz inhibitör enzim sistemi incelenmiştir. Araştırmanın yürütüldüğü Arap atlarında; katalaz enzim sistemine ait SS ve FS fenotipleri, karbonik anhidraza ait, EI, FI, II ve IL fenotipleri ile proteaz inhibitör enzim sistemine ait, FF, FG, FL, FS<sub>2</sub>, FU, FZ, GP, GQ, GR, GS<sub>1</sub>, GS<sub>2</sub>, GU, GZ, HL, HU, LL, LP, LS<sub>1</sub>, LZ, PS<sub>1</sub>, PU, PZ, S<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, S<sub>1</sub>U, S<sub>1</sub>Z, S<sub>2</sub>U, S<sub>2</sub>Z, UU, UZ ve ZZ fenotipleri tespit edilmiştir. Bulgular sonucunda, en sık görülen fenotiplerin, katalaz enzim sisteminde % 63 oranında FS; karbonik anhidraz enzim sisteminde % 91.73 oranında II, proteaz inhibitör enzim sisteminde ise %16.07 oranında FU fenotipleri olduğu belirlendi. Bu üç sistem gen frekansları yönünden incelendiğinde; katalaz enzim sisteminde en yüksek gen frekansının S genine (0.69), karbonik anhidraz enzim sisteminde I genine (0.959) ve proteaz inhibitör enzim sisteminde U genine (0.357) ait olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Arap atı, elektroforez, karbonik anhidraz, katalaz, proteaz inhibitör enzim sistemi

### The electrophoretic investigation of erythrocyte catalase, carbonic anhydrase and plasma protease inhibitor enzyme systems belong to dam, sire and offspring in the purebred Arabian horses in Turkey

**Summary:** In this study was examined catalase and carbonic anhydrase enzyme systems in 254 and protease inhibitor enzyme system in 112 purebred Arabian horses. SS and FS phenotypes which belong to catalase enzyme system, EI, FI, II, IL phenotypes which belong to carbonic anhydrase enzyme system and FF, FG, FL, FS<sub>2</sub>, FU, FZ, GP, GQ, GR, GS<sub>1</sub>, GS<sub>2</sub>, GU, GZ, HL, HU, LL, LP, LS<sub>1</sub>, LZ, PS<sub>1</sub>, PU, PZ, S<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, S<sub>1</sub>U, S<sub>1</sub>Z, S<sub>2</sub>U, S<sub>2</sub>Z, UU, UZ, ZZ phenotypes which belong to Pi were detected in Arabian horses that used in this study. The data of this study showed that the most commonly seen phenotypes in catalase enzyme systems were FS % 63, in carbonic anhydrase were II with % 91.73 and protease inhibitor enzyme system were FU with %16.07. When these three enzyme system were evaluated by means of gene frequencies, it was detected that the highest gene frequencies in catalase enzyme system belong to S gene (0.69), in carbonic anhydrase enzyme system belong to I gene (0.959) and protease inhibitor enzyme system belong to U gene (0.357).

Key words: Arabian horse, electrophoresis, carbonic anhydrase, catalase, protease inhibitor enzyme system.

### Giriş

Günümüze kadar olan tarihi gelişim süreci içerisinde atın kullanım alanı değişmiş, özellikle yarış atı olarak kullanımı yaygınlaşmıştır. Safkan at yetiştiriciliğinde, kan hatlarının korunması, iyileştirilmesi ve hastalıklara dayanıklı, yüksek nitelikli yeni nesillerin oluşturulması yönünde yapılan çalışmalarda pedigrî kontrolü oldukça önemli yer tutmaktadır.

Yeni doğan safkan bir tayın pedigrî alabilmesi için eşkal ve anne baba (parentaj) tespiti yapılmalıdır. Soy testinde (parentaj), kan grubu sistemleri ile alyuvar ve plazma proteinlerinin genetik polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi zorunludur. Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG) bugün için atlarda kan gruplarının

yanı sıra, elektroforetik olarak polimorfik yapı gösteren 16 sistem ve bunlara ait 73 alelin varlığını bildirmektedir (6). Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği tarafından kabul edilen alyuvar protein ve enzim sistemleri ile serum protein sistemlerine ait en fazla alelin belirlenmesiyle ebeveyn testinde hata payı en aza indirilmektedir (22).

CAT sembolü ile gösterilen alyuvar katalaz lokusuna ait çalışmalar, atlarda ilk olarak Kelly ve ark. (16) tarafından gerçekleştirilmiştir. Thoroughbred, Shetland ve Quarter atlarda, iki kodominant alel ile kontrol edilen üç fenotipin varlığı tespit edilmiştir. Schleger ve ark. (24), Avusturya atlarında yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bowling ve ark. (4), 27 evcil ve yedi vahşi at ırkında, Kelly ve ark.’nın (16) elde

\* Aynı adlı doktora tezinden özetlenen bu çalışma TÜBİTAK tarafından (Proje no: VHAG-1816 (101 v 107) desteklenmiştir.

ettiği sonuçlara benzer şekilde iki kodominant alel ile kontrol edilen üç fenotip bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmalarda en sık rastlanılan ortak alelin CAT S olduğu belirtilmiştir.

Atlarda anne baba kontrolünde incelenen ve alyuvarlarda bulunan diğer bir enzim de karbonik anhidrazdır. Lokus sembolü CA olarak gösterilen karbonik anhidraz polimorfizmi, atlarda ilk olarak Sandberg (21) tarafından İsveç atlarında incelenmiş ve beş kodominant (eş baskın) alel tespit edilmiştir. Deutsch ve ark. (7), Japon çiftlik atlarında yaptıkları çalışmada, Sandberg'in (21) bildirdiğine benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bowling ve ark (4), atlarda bu lokusta altı alel görülmesine rağmen, CA I alelinin en sık ve ortak görülen alel olduğunu bildirmişlerdir. Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği'nin (ISAG) 1981, 1983 ve 1985 yıllarındaki raporlarında altı karbonik anhidraz varyantı olduğu bildirilmiştir. Yeni varyant, alkali nişasta jelde görülen CA F'in alt grubudur. Asit ortamda iki varyanttan anoda daha yakın olanı CA E olarak adlandırılmıştır (4).

Lokus sembolü Pr ya da Pi olarak gösterilen proteaz inhibitör sistem, bilinen diğer adıyla prealbümin, Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG) tarafından pedigrî kayıtlarında, parentaj doğrulanması amacıyla elektroforetik olarak incelenmesi kabul edilen en önemli genetik işaretleyicilerdendir (6). Günümüzde tespit edilen 18 aleli ve 0.570 olarak hesaplanan parentaj testinde hatalı pedigrîlerin ortaya çıkarılabilme olasılığı ( $P_E$ ) değeri ile pedigrî kontrolünde kullanılan en önemli polimorfik sistemdir (2). Atlarda ilk olarak Gahne (10) tarafından incelenen bu lokusta F, I, L, S olmak üzere dört eş baskın alel tespit edilmiştir. At ırkları ve yaşadıkları bölgelerde yapılan çalışmalarda (5, 17, 20, 25) ilgili lokusa ait genlerin görülme sıklıkları belirlenmiştir.

Bell ve ark. (2), 18 alelin oluşturduğu 98 fenotip tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Kaminski ve Cara Andreas (14), Andalusian ırkı atlarda dokuz alel tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bugüne kadar 25'den fazla aleli bildirilen bu proteine ait alellerinin görülümünün nadir olduğu bildirilmektedir (19).

Bu araştırma ile, Türkiye'de safkanlık tespiti ve pedigrî verilmesi sırasında, kan muayenesinde incelenen enzim ve proteinlere, katalaz, karbonik anhidraz ve proteaz inhibitör sistemin de dahil edilmesi amaçlanmıştır. Bu araştırma, safkanlık tespiti sırasında kan muayenesinde incelenen enzim ve proteinlerin çeşitliliğinin artırılmasının yanı sıra, anne ve baba doğruluk yüzdesinin artırılması yönünden de önem taşımaktadır. Bu çalışma doğrultusunda incelenen lokuslara ait gen frekanslarının hesaplanması ile başarılı ıslah çalışmaları yapılması mümkün olabilecektir.

### Materyal ve Metot

Araştırmada, katalaz ve karbonik anhidraz polimorfizminin incelenmesi amacıyla, Tarım ve Köy

İşleri Bakanlığı'na bağlı Mahmudiye (Anadolu) Tarım İşletmesi ile diğer tarım işletmelerinde yetiştirilen 99 anne, 16 baba ve 139 yavru safkan Arap atına ait kan örnekleri kullanılmıştır. Proteaz inhibitör polimorfizminin incelenmesi amacıyla Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na bağlı Mahmudiye (Anadolu) Tarım İşletmesi'nde yetiştirilen 51 anne, 10 baba ve 51 yavru safkan Arap atına ait kan örnekleri kullanılmıştır. Kan örnekleri, hayvanların V. jugularis'lerinden antikoagülanlı (sodyum-sitrat) vacutainer tüplere 10 ml alınmıştır. Kanlar, plazma proteaz inhibitör polimorfizminin incelenmesi amacıyla plazma, alyuvarlarda bulunan katalaz ve karbonik anhidraz enzim sistemlerinin incelenmesi amacıyla da hemolizat hazırlanarak kullanılmıştır. Plazmalar 3000 rpm'de santrifüj edilerek ayrılmış ve plazması ayrılan kan örneklerinin üç kez yıkanması ile elde edilen alyuvarlar kullanılacakları zamana kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Elektroforezde dondurup çözme yoluyla elde edilen hemolizatlar kullanılmıştır.

Araştırmada, katalaz ve karbonik anhidraz enzimlerinin incelenmesi amacıyla kullanılan izoelektrik odaklama yöntemi, Bowling ve ark.'nın (4) kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. İzoelektrik odaklama için Pharmacia Biotech Multiphor II izoelektrik odaklama ünitesi kullanılmıştır. Jeller % 0.5'lik CBB G250 ile boyanmış ve boyanın fazlası giderilmiştir (Metanol, distile su, asetik asit, 9:9:2).

Proteaz inhibitör polimorfizminin incelenmesi amacıyla Pollit ve Bell'in (20) kullandığı yöntem ile Henney ve ark.'nın (12) kullandığı poliakrilamid jel elektroforez yöntemleri birleştirilip modifiye edilerek kullanılmıştır. Elektroforez sonunda bazı jeller Perodik asit-Schiff boyama tekniği (15) ile bazı jeller ise CBB boyama tekniği ile (13) boyanmıştır. Dekolarizasyon işlemi ilgili literatürlerde bildirildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Bantlar, Avustralya Queensland Üniversitesinden Prof. Dr. Tom BROAD tarafından değerlendirilmiştir.

Katalaz, karbonik anhidraz ve proteaz inhibitör sistemine ait gen frekanslarının hesaplanmasında direkt sayım yöntemi (6), beklenen gen frekanslarının hesaplanmasında da Düzgüneş ve ark.'nın (9) bildirdiği formüller kullanılmıştır. Genetik denge testleri; katalaz ve proteaz inhibitör enzim sistemi için ki-kare testi ( $X^2$ ), karbonik anhidraz için ise G istatistiği kullanılarak yapılmıştır (9, 11).

### Bulgular

Araştırmada, alyuvar katalazına ait F ve S genleri ile bu iki genin oluşturduğu SS ve FS fenotipleri gözlemlenirken FF fenotipine rastlanılmamıştır. SS fenotipinin, hemoglobin bantlarının önünde katota yakın yer alan 5 banttandır. Heterozigot FS fenotipinin net olarak ayrılmamakla birlikte, homozigot katalaz SS bantlarıyla aynı hizadan başlayarak anoda doğru ilerleyen çok sayıda banttandır. Heterozigot FS fenotipinin net olarak ayrılmamakla birlikte, homozigot katalaz SS bantlarıyla aynı hizadan başlayarak anoda doğru ilerleyen çok sayıda banttandır.

Tablo 1:Katalaz ve karbonik anhidraz enzim sistemlerine ait gen frekansları ile % dağılımları

Table 1:Gene frequencies and distributions (%) for catalase and carbonic anhydrase enzyme systems

Sistem	Alel	Gen frekansı	Fenotip	N	% Dağılımı
CAT	F	0.31±0.021	FS	160	63
	S	0.69±0.021	SS	94	37
CA	E	0.006±0.003	EI	3	1.18
	F	0.022±0.007	FI	11	4.33
	I	0.959±0.009	II	233	91.73
	L	0.014±0.005	IL	7	2.76
Toplam		1		254	100

Araştırmada incelenen safkan Arap atlarında katalaz enzim sisteminde FS fenotipi (% 63), karbonik anhidraz enzim sisteminde II fenotipi (% 91.73) en yüksek görülme yüzdesine sahip fenotipler olarak belirlenmiştir. Katalaz enzim sisteminde en yüksek frekansa S geninin (0.69±0.021), karbonik anhidraz enzim sisteminde ise I geninin (0.959±0.009) sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Katalaz ve karbonik anhidraz lokuslarına ait beklenen ve gözlenen değerler dikkate alınarak genetik denge testi uygulandığında elde edilen  $X^2$  değeri katalaz lokusu için istatistiksel yönden anlamlı bulunurken ( $p<0.05$ ), karbonik anhidraz için önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ) (Tablo 2).

Tablo 2:Katalaz ve karbonik anhidraz enzim sistemlerine ait ki-kare test ( $X^2$ ) sonuçlarıTable 2:Chi-square test ( $X^2$ ) results for catalase and carbonic anhydrase enzyme systems

Sistem	Fenotip	Gözlenen değer	Beklenen değer	$X^2$
CAT	FF	–	24.41	
	SS	94	120.93	
	FS	160	108.66	
Toplam		254	254	54.27*
				S.D:1
CA	EE	–	0.01	
	FF	–	0.012	
	II	233	233.60	
	IL	–	0.05	
	EF	–	0.07	
	EI	3	2.92	
	EL	–	0.04	
	FI	11	10.72	
	FL	–	0.16	
IL	7	0.16		
Toplam		254	254	0.364**
				S.D:8

\*  $p<0.05$  \*\*  $p>0.05$  S.D: Serbestlik derecesi

Araştırmada plazma prealbümin lokusuna ait, F, G, H, L, P, Q, R, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, U ve Z genleri tespit edilmiştir. Bu on bir genin oluşturduğu FF, FG, FL, FS<sub>2</sub>, FU, FZ, GP, GQ, GR, GS<sub>1</sub>, GS<sub>2</sub>, GU, GZ, HL, HU, LL, LP, LS<sub>1</sub>, LZ, PS<sub>1</sub>, PU, PZ, S<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, S<sub>1</sub>U, S<sub>1</sub>Z, S<sub>2</sub>U, S<sub>2</sub>Z, UU, UZ ve ZZ fenotipleri belirlenmiştir. Bu lokusa ait fenotiplerin yüzde dağılımları ve gen frekansları ile  $X^2$  test sonuçları Tablo 3 ve 4'de verilmiştir.

Tablo 3:Proteaz inhibitör enzim sistemine ait gen frekansları ve % dağılımları

Table 3:Gene frequencies and distributions (%) for protease inhibitor enzyme systems

Sistem	Alel	Gen Frekansı	Fenotip	N	% Dağılım
Pi	F	0.161±0.025	FF	1	0.89
	G	0.081±0.018	FG	1	0.89
	H	0.009±0.006	FL	2	1.79
	L	0.041±0.013	FS <sub>2</sub>	6	5.36
	P	0.041±0.013	FU	18	16.07
	Q	0.005±0.005	FZ	7	6.25
	R	0.005±0.005	GP	1	0.89
	S <sub>1</sub>	0.094±0.019	GQ	1	0.89
	S <sub>2</sub>	0.072±0.017	GR	1	0.89
	U	0.357±0.032	GS <sub>1</sub>	4	3.57
	Z	0.134±0.023	GS <sub>2</sub>	1	0.89
			GU	2	1.79
			GZ	8	7.14
			HL	1	0.89
			HU	1	0.89
			LL	1	0.89
			LP	1	0.89
		LS <sub>1</sub>	2	1.79	
		LZ	1	0.89	
		PS <sub>1</sub>	3	2.68	
		PU	3	2.63	
		PZ	1	0.89	
		S <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	1	0.89	
		S <sub>1</sub> U	9	8.04	
		S <sub>1</sub> Z	1	0.89	
		S <sub>2</sub> U	7	6.25	
		S <sub>2</sub> Z	2	1.79	
		UU	16	14.29	
		UZ	8	7.14	
		ZZ	1	0.89	
Toplam		1		112	100

Buna göre araştırmada kullanılan Arap atlarında, Pi lokusunda FU (%16.07) ve UU (%14.29) fenotipleri en yüksek görülme yüzdesine sahip fenotipler olarak belirlenmiştir. Pi sistemine ait gen frekansları incelendiğinde en yüksek gen frekansının (0.357) U aleline ait olduğu,

bunu F geni (0.161) ve Z geninin (0.134) takip ettiği görülmektedir. Beklenen ve gözlenen değerler dikkate alınarak genetik denge testi uygulandığında elde edilen  $X^2$  değeri istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur.

Tablo 4: Proteaz inhibitör enzim sistemine ait ki-kare test ( $X^2$ ) sonuçları

Table 4: Chi-square test ( $X^2$ ) results for protease inhibitor enzyme systems

Sistem	Fenotip	Gözlenen değer	Beklenen değer	$X^2$
Pi	FF	1	2.904	
	FG	1	2.921	
	FH	–	0.325	
	FL	2	1.479	
	FP	–	1.479	
	FQ	–	0.180	
	FR	–	0.180	
	FS <sub>1</sub>	–	3.390	
	FS <sub>2</sub>	6	2.597	
	FU	18	12.875	
	FZ	7	4.833	
	GG	–	0.735	
	GH	–	0.163	
	GL	–	0.744	
	GP	1	0.744	
	GQ	1	0.091	
	GR	1	0.091	
	GS <sub>1</sub>	4	1.706	
	GS <sub>2</sub>	1	1.306	
	GU	2	6.477	
	GZ	8	2.431	
	HH	–	0.009	
	HL	1	0.083	
	HP	–	0.083	
	HQ	–	0.010	
	HR	–	0.010	
	HS <sub>1</sub>	–	0.190	
	HS <sub>2</sub>	–	0.145	
	HU	1	0.720	
	HZ	–	0.270	
	LL	1	0.188	
	LP	1	0.377	
	LQ	–	0.046	
	LR	–	0.046	
	LS <sub>1</sub>	2	0.863	
	LS <sub>2</sub>	–	0.661	
	LU	–	3.279	
	LZ	1	1.231	
	PP	–	0.188	
	PQ	–	0.046	
	PR	–	0.046	

PS <sub>1</sub>	3	0.863	
PS <sub>2</sub>	–	0.661	
PU	3	3.279	
PZ	1	1.231	
QQ	–	0.003	
QR	–	0.006	
QS <sub>1</sub>	–	0.105	
QS <sub>2</sub>	–	0.081	
QU	–	0.400	
QZ	–	0.150	
RR	–	0.003	
RS <sub>1</sub>	–	0.105	
RS <sub>2</sub>	–	0.081	
RU	–	0.400	
RZ	–	0.150	
S <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	1	0.990	
S <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	–	1.516	
S <sub>1</sub> U	9	7.517	
S <sub>1</sub> Z	1	2.822	
S <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	–	0.581	
S <sub>2</sub> U	7	5.758	
S <sub>2</sub> Z	2	2.161	
UU	16	14.274	
UZ	8	10.716	
ZZ	1	2.011	
Toplam	112	112	88.722*
			S.D:65

\*  $p < 0.05$  S.D: Serbestlik derecesi

### Tartışma ve Sonuç

Safkan Arap atlarında yürütülen bu araştırmada, popülasyonların genetik yapısı hakkında bilgi veren ve genetik işaretleyicilerden olan katalaz, karbonik anhidraz ile alel sayısının fazlalığı nedeniyle hatalı pedigrilerin ortaya çıkarılmasında en önemli polimorfik sistem olan proteaz inhibitör sistem polimorfizmi incelenmiştir.

Uluslararası Hayvan Genetiği Derneği (ISAG), katalaz lokusu için F ve S olmak üzere iki genin olduğunu ve eş baskın olan bu genlerin FF, SS ve FS olmak üzere üç fenotip oluşturduğunu bildirmektedir (6). Bu araştırmada anne, baba ve yavrulara ait katalaz lokusunda SS ve FS fenotipleri gözlenirken, FF fenotipine rastlanılmamıştır.

Araştırmada safkan Arap atlarının katalaz lokusunda elde edilen bulgular, Shetland ve Quarter ırk atlarda bildirilen (16) sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu araştırmada kullanılan safkan Arap atlarında tespit edilen F geni frekansı (0.31), Amerika Birleşik Devletlerinde yetiştirilen safkan Arap atları (0.03) ve Standardbred atlar (0.22) ile karşılaştırıldığında, Arap atlarıyla farklı, Standardbredler ile benzer olduğu görülmektedir (4). Bunun yanı sıra, tespit edilen katalaz F geni

frekansının (0.31), Bowling'in (5) bildirdiği değerlerle de benzer olduğu anlaşılmaktadır.

Bu araştırmada, aynı jelde elektroforetik olarak incelenen ve altı geni olduğu belirtilen (1) karbonik anhidrazın E, F, I ve L genleri ile bu genlerin oluşturduğu EI, FI, II ve IL fenotipleri tespit edilmiştir. Araştırmanın yapıldığı Arap atlarında homozigot II aleli 0.959 olarak bulunan gen frekansıyla; Amerikan arap atlarının da dahil olduğu pek çok at ırkıyla benzerlik gösterirken, bazı vahşi at ırklarından (5) farklılık göstermektedir.

Araştırmada elde edilen bulgular, İsveç ve Japon çiftlik atlarından elde edilen (7, 21) sonuçlarla paralellik göstermektedir. Araştırmanın yapıldığı safkan Arap atlarında karbonik anhidrazın Japon çiftlik atları (7), Shetland poni ve Amerikan binek atlarında da (8) bildirildiği gibi en sık I genine (0.959), ikinci sıklıkta F genine (0.022) rastlanılmıştır. Bu alellere ait gen frekansları Bowling ve ark.'nın (4), bildirimleri ile de benzer bulunmuş, O ve S alellere de rastlanılmamıştır. Çok daha büyük populasyonlar ve farklı bölgelerdeki safkanlarla yapılacak bir araştırma ile daha farklı fenotiplerin gözlenmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir.

Safkan Arap atında plazma proteaz inhibitör lokusunda tespit edilen alellere ait gen frekansları incelendiğinde, en yüksek gen frekansının (0.357), U aleline ait olduğu, bunu F geni (0.161) ve Z geninin (0.134) takip ettiği görülmektedir. Fenotip dağılımı yönünden incelendiğinde en sık görülen fenotipin (%16.07) heterozigot FU ve (%14.29) homozigot UU olduğu görülmektedir (Tablo 3).

Avustralya'da yetiştirilen Arap atları ve Quarter ırkı atlarla (18) ortak olarak plazma proteaz inhibitör lokusunda F, G, L, P, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, U ve Z alellere rastlanırken, Türkiye'deki safkan Arap atlarında farklı olarak H, Q ve R alelleri de belirlenmiş, L<sub>2</sub> ve N alellere ise rastlanılmamıştır. Avustralya'da yetiştirilen Arap atlarında olduğu gibi I, E, J, K, O, V ve X alelleri tespit edilememiştir. Avustralya'da yetiştirilen Arap atlarında, hesaplanan en yüksek gen frekansı (0.362) L aleline aitken, Türkiye'de L geninin oldukça düşük (0.041) bir frekansa sahip olduğu görülmüştür. Avustralya'da yetiştirilen Arap atlarında düşük frekansta (0.066) tespit edilen Z aleli, bu araştırmada en sık görülen (0.134) dördüncü alel olarak belirlenmiştir.

Prealbumin alelleri yönünden at ırkları karşılaştırıldığında, Standardbred atlarda L<sub>2</sub> aleli, Quarter atlarda Q aleli ve Arap atlarında Z aleli frekanslarının kısmen karakteristik olduğu ifade edilmektedir (3). İngiliz atları, Standardbred, Avustralya Arap atları, Fas Arap atları, Fas Berber atları ile Quarter ırkı atlar karşılaştırıldığında sadece Quarter ırkı atlarda Q alelinin bulunduğu görülmektedir. Ancak bu araştırma ile Türkiye'de yetiştirilen safkan Arap atlarında da Q aleli varlığının düşük frekansta da (0.005) olsa tespit edilişi dikkat çekicidir. Bu çalışmada 0.134 olarak hesaplanan ve diğerlerine göre oldukça

yüksek olan Z geni frekansının, Patterson ve Bell'in (18), Arap atlarında Z aleli gen frekansının karakteristik olabileceği bildirimini destekleyici nitelik taşıdığı görülmektedir.

Fas'ta yetiştirilen Arap, Berber ve Arap-Berber melezleri ile (17) Türkiye'deki Arap atları arasında sekiz (F, G, L, P, R, S, U, Z) ortak Pi aleli bulunmasına karşılık, ortak alellere ait gen frekanslarının birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Fas Arap atlarında en yüksek gen frekansının (0.27) L aleline, daha sonra U aleline (0.23) ait olduğu görülürken, bu araştırmada en yüksek gen frekansının (0.357) U aleline ait olduğu tespit edilmiştir. Berber atları, Arap-Berber melezleri ile Türkiye'de yetiştirilen safkan Arap atlarında bu alellere ek olarak R alelinin de ortak olduğu belirlenmiştir. Berber atları ve Arap-Berber melezlerinde en yüksek (0.31 ve 0.37) hesaplanan L geni frekansının Türkiye'deki Arap atlarında oldukça düşük frekansta (0.041) olduğu görülürken, Türkiye'de yüksek (0.161) olarak hesaplanan F aleli frekansının, Fas Arap, Berber ve Arap-Berber melezlerinde düşük (0.04, 0.01 ve 0.06) olduğu tespit edilmiştir.

Avustralya'da yetiştirilen Standardbred atlarda Pi'nin (2), Türkiye'deki safkan Arap atları ile F, G, L, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, U, H, P ve R ortak alellerinin bulunduğu ancak sadece R geni frekansının her iki ırkta da benzer şekilde çok nadir görüldüğü, diğer gen frekanslarının ise birbirinden oldukça farklı bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Yine safkan Arap atları ile Amerika'daki vahşi at ırklarında (5) L, P ve U alellerinin, ortak olduğu ancak gen frekanslarında farklılıklar olduğu görülmektedir. İtalyan Selernitana atları ile ortak F ve L genlerinin bulunduğu, Selernitana atlarında en yüksek frekansa (0.66) sahip L aleli frekansının (10), Türkiye'deki safkan Arap atlarında düşük (0.041), F aleli frekansının ise her iki ırkta benzer olduğu anlaşılmaktadır. Safkan Arap atlarında tespit edilen F, G, L, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, ve U alellerinin İngiltere (25), ve Avustralya'da (20) yetiştirilen İngiliz atları ile ortak olduğu ancak gen frekanslarının oldukça farklı bulunduğu da belirlenmiştir.

Kan enzim ve proteinlerine ait lokuslar elektroforetik olarak incelendiğinde, tür, ırk, bireyler ve populasyonlar arasında farklılık gösterdiği bilinmektedir (23). Evrim süreci içinde gerçekleşen sayısız mutasyonun pek çok özelliğe olduğu gibi kan enzim ve proteinlerinin elektroforetik hareketlerinde de farklılıkların oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Bu araştırmada kullanılan safkan Arap atlarına ait alyuvar katalaz, karbonik anhidraz ve plazma prealbumin lokuslarına ait gen frekansları ile, beklenen ve gözlenen gen frekansları dikkate alınarak yapılan hesaplamalar sonucunda, katalaz ve prealbumin lokusu için belirlenen değerler istatistik yönden önemli bulunurken (p<0.05), karbonik anhidraz lokusu için belirlenen değerler istatistik olarak önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Beklenen ve gözlenen değerlerden yararlanılarak hesaplanan X<sup>2</sup> değeri

ri sonucunda, Türkiye’de yetiştirilen safkan Arap atlarının katalaz ve proteaz inhibitör lokuslarının Hardy-Weinberg Dengesinden sapma gösterdiği bu durumda popülasyonun genetik olarak sabit kalmadığı, karbonik anhidraz lokusunun ise dengede kaldığı tespit edilmiştir. Popülasyonda, belirtilen lokuslara ait bazı alellerin gözlenirken bazılarının gözlenmemiş olmasının, dengenin bozulması ile ilgili olabileceği ve bu durumun da popülasyonda gerçekleşen herhangi bir mutasyon, seleksiyon, göç veya izolasyondan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu araştırma doğrultusunda, incelenen lokuslara yönelik ıslah çalışmalarının yapılabileceği düşünülmektedir. Karbonik anhidraz lokusu yönünden dengede olduğu tespit edilen popülasyonun, teorik olarak beklenen frekanslarının gözlenen frekanslarına uygun olduğu görülmekte ve bu da, bu lokusa ait alellerin dölden döle değişmeden aktarıldığını kanıtlamaktadır.

Bu araştırma ile Türkiye’de safkanlık tespiti ve pedigril verilmesi sırasında, kan muayenesinde incelenen enzim ve proteinlere katalaz, karbonik anhidraz ve proteaz inhibitör sistemlerinin de dahil edilmesi yönünde önemli bir adım atılmıştır. Bu sayede aile bilgilerinin doğrulanmasında güvenilirlik payının daha da artacağı şüphe götürmemektedir. Bu araştırmanın diğer at popülasyonlarının genetik özelliklerinin belirlenmesi, akrabalık durumlarının ortaya çıkarılması ve köken araştırmalarında yeni çalışma olanaklarına katkı sağlayarak ışık tutacağı düşünülmektedir.

### Kaynaklar

1. **Anonim** (1992): ISAG Horse blood typing nomenclature.
2. **Bell K, Patterson S, Pollit CC** (1984): *The plasma protease inhibitor system (Pi) of standardbred horses*. Anim Blood Grps Biochem Genet, **15**, 191-206.
3. **Bell K, Patterson S** (1987): *Current status of the equine plasma protease inhibitory system*. Anim Genet, **18**, 43-46.
4. **Bowling AT, Gordon L, Penedo MCT, Wictum E, Beebout J** (1990): *A single gel for determining genetic variants of equine erythrocyte carbonic anhydrase (CA) and catalase (Cat)*. Anim Genet, **21**, 191-197.
5. **Bowling AT** (1994): *Population genetics of great basin feral horses*. Anim Genet, **23**, 67-74.
6. **Bowling AT** (1996): *Horse Genetics*. CABI Publishing, 10E 40<sup>th</sup> Streets Suite 3203 New York, NY 10016, USA.
7. **Deutsch HF, Taniguchi N, Funakoski S, Hirai H** (1972): *Distribution of erythrocyte carbonic anhydrase B-type alleles in Japanese form horses*. Biochem Genet, **6**, 255-262.
8. **Deutsch HF, Bray RP** (1975): *Carbonic anhydrase isozymes in American ponies and riding horses: a new polymorphic high activity type isozyme*. Biochemical Genetics, **13**, 643-649.
9. **Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F** (1993): *İstatistik Metodları*. 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 1291. Ders Kitabı 369.
10. **Gahne B** (1966): *Studies on the inheritance of electrophoretic forms of transferrins, albumins, prealbumins and plasma esterases of horses*. Genetics, **53**, 681-694.
11. **Hartl DL, Clark AG** (1989): *Principles of population genetics*. Second ed. Sinauer Ass.sunderland mass.
12. **Henney PJ, Johnson EL, Cothran EG** (1994): *A new buffer system for acid PAGE typing of equine protease inhibitor*. Anim Genet, **25**, 363-364.
13. **Holbrook IB, Leaver AG** (1976): *A procedure to increase the sensitivity of staining by coomassie brilliant blue G-250-perchloric acid solution*. Analytical Chemistry, **75**, 634-636.
14. **Kaminski M, Cara Andres de FD** (1986): *Electrophoretic markers of Andalusian horses: Comparison of Spanish and Lusitanian lineages*. Comp Biochem Physiol, **83B(3)**, 575-588.
15. **Kaschnitz R, Peterlik M, Weiss H** (1969): *Glycoprotein staining following electrophoresis on acrylamide gels*. Analytical Biochemistry, **30**, 148-152.
16. **Kelly EM, Stormont C, Suzuki Y** (1971): *Catalase polymorphism in the red cells of horses*. Anim Blood Grps Bioc Genet, **2**, 135-143.
17. **Ouragh L, Meriaux JC, Braun JP** (1994): *Genetic blood markers in Arabian, Barb and Arab-Barb horses in Morocco*. Animal Genet, **24**, 45-47.
18. **Patterson S, Bell K** (1987): *Frequencies of plasma protease inhibitor alleles in Australian horse breeds and the recognition of two new alleles*. Animal Genet, **18**, 181-186.
19. **Patterson S, Bell K, Shaw D** (1989): *Equine Pi system: a multigene family of four loci*. Animal Genet, **20**, 99-100.
20. **Pollit CC, Bell K** (1980): *Protease inhibitor system in horses: Classification and detection of a new allele*. Anim.Blood Grps.Biochem.Genet., **11**: 235-244.
21. **Sandberg K** (1968): *Genetic polymorphism in carbonic anhydrase from horse erythrocytes*. Hereditas, **60**, 411-412.
22. **Sandberg K., Cothran EG** (2000): *Biochemical Genetics and Blood Groups in the Genetics of Horse*. Bowling, A.T. and Ruvinsky, CABI Publishing, Walling Ford, United Kingdom.
23. **Sartore G, Stormont C, Morris BG, Grunder AA** (1968): *Multiple electrophoretic forms of carbonic anhydrase in red cells of domestic cattle (Bos Taurus) and American Buffalo (Bison Bison)*. Genetics, **61**: 823-831.
24. **Schleger W, Kramser P, Dworak E** (1972): *Catalase and ceruloplasmin polymorphism in three Austrian horse breeds*. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet., **3**, (Suppl.1), 48.
25. **Scott AM** (1977): *Prealbumin: the single most useful system in Thorough bred horse blood typing*. Anim.Blood Grps.Biochem.Genet., (Suppl.1): 19.

Geliş tarihi : 17.03.2005 / Kabul tarihi: 07.04.2005

### Yazışma adresi:

Dr.Devrim Sarıpınar

Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Fizyoloji Anabilim Dalı

31000 Antakya/ HATAY