

Yumurta tavuklarında bazı biyokimyasal kan parametrelerinin (GSH, Hb ve Tf Tipleri ve Mn) tayin edilmesi ve yumurta verimi üzerine etkilerinin araştırılması[♦]

Semiha Dede^a Hayati Çamaş^b

^aYüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

^bDumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kütahya, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışma, hibrit yumurta tavuklarında, bazı biyokimyasal parametrelerin (GSH, Hb ve Tf, Manganaz) tayini ve yumurta veriminde etkili olup olmadığının araştırılması amacıyla yapıldı. Shower hibrit ırkı tavuklar materyal olarak kullanıldı. GSH, tüm kanda, Tf tipleri ve Mn kan plazmasında ve Hb tipleri kan hemolizatında tayin edildi. Çalışma, 16-30. haftalar arası devam ettirildi. 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 ve 30. haftalarda GSH konsantrasyonları sırasıyla 70.703±1.997, 63.137±1.448, 71.858±2.292, 72.435±2.210, 70.036±1.664, 57.927±1.284, 65.269±1.008, 57.263±0.832 mg/100 ml olarak, Mn konsantrasyonları ise 4.84±0.568, 5.241±0.529, 5.904±0.764, 6.317±0.347, 7.108±0.755, 7.244±0.582, 7.250±0.513 ve 7.516±0.531 µg/100 ml olarak saptandı. GSH konsantrasyonları yumurtlama öncesi periyotta, yumurtlama periyoduna göre yüksek (p<0.05), Mn konsantrasyonları ise düşük (p<0.01) olduğu belirlendi. Nişasta-jel elektroforezinde sadece bir major ve bir normal minor hemoglobin komponenti ihtiva eden, normal tip görülürken, bireysel hemoglobin polimorfizmi gözlenmedi. Tavukların plazma örneklerinde, nişasta-jel elektroforezi kullanılarak üç kodominant allel (Tf^A, Tf^B, Tf^C) ile kontrol edilen beş Tf fenotipi (AA, AB, AC, BB, BC) saptandı. Üç allelin Tf genotip frekansları sırasıyla 0.35, 0.45 ve 0.20' dir. GSH konsantrasyonu, Mn konsantrasyonu ve Tf tiplerinin yumurta üretimi ve yumurtlamaya başlama yaşı üzerinde önemli bir etkisi saptanamadı. GSH konsantrasyonu ve Tf tipleri arasında önemli bir ilişki olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Glutasyon, Hemoglobin, Transferrin, Polimorfizm, Manganaz, Yumurta verimi

Determination some biochemical parameters (GSH, Hb And Tf Types And Mn) in laying hens and study its effects on egg production

Abstract: This study has been done in order to determination some important biochemical parameters (GSH, Hb and Tf, Manganese) in hybrid laying hens and whether these are effective on egg production. It has been determined GSH in whole blood, Tf types and Mn in blood plasma and Hb types in blood hemolysate. The study were maintained between 16-30. weeks old. At 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 and 30. week, GSH concentrations were found 70.703±1.997, 63.137±1.448, 71.858±2.292, 72.435±2.210, 70.036±1.664, 57.927±1.284, 65.269±1.008, 57.263±0.832 mg/100 ml and, Mn concentrations are 4.84±0.568, 5.241±0.529, 5.904±0.764, 6.317±0.347, 7.108±0.755, 7.244±0.582, 7.250±0.513 ve 7.516±0.531 µg/100 ml respectively. GSH concentrations were found higher (p<0.05) and Mn concentrations were found significantly lower (p<0.01) before laying period than during laying period. In this study, starch-gel electrophoresis of hemoglobin revealed only the normal types, consisting of a major and a normal minor hemoglobin component. Hemoglobin polymorphisms were not observed. Using starch-gel electrophoresis, five Tf phenotypes (AA, AB, AC, BB, BC) controlled by three codominant alleles (Tf^A, Tf^B, Tf^C) were detected in plasma of chickens. The frequencies of the Tf genotypes of the three alleles were 0.35, 0.45 and 0.20 respectively. The GSH concentrations, Mn concentrations and Tf types did not affect egg production and age of laying. There was a significantly relationship between types of Tf and GSH levels.

Keywords: Glutathione, Hemoglobin, Transferrin, Polymorphism, Manganese, Egg production.

GİRİŞ

Genetik olarak nesilden nesile aktarılabilen biyokimyasal polimorfik karakterler temel alınarak

üstün ekonomik verim özelliklerine sahip ve hastalıklara karşı dirençli bireylerden kurulu hayvan popülasyonlarının kurulması için pek çok araştırmalar

[♦]Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Araştırma Fonu tarafından 95.VF.372 numaralı proje olarak desteklenmiştir ve aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

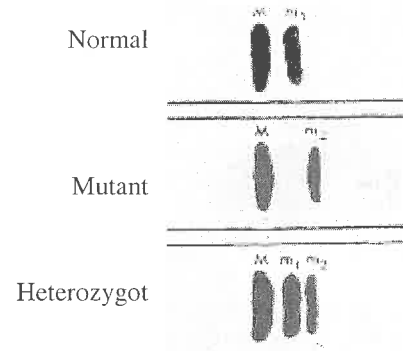
yapılmıştır. Glutasyon (GSH), hemoglobin (Hb) ve transferrini (Tf) de içeren plazma proteinlerinin polimorfik formları mevcuttur ve polimorfizm bir popülasyonda hiç biri nadir olmayan ve en az iki fenotiple mevcut olan monogenik ve Mendeliyen bir özelliktir (1, 2).

Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan lineer bir tripeptit olan glutasyon, esansiyel bir redox-buffer olarak çalışır ve hücrenin en önemli protein olmayan tiyolüdür. Glutasyon'un indirgenmiş (redükte) tiyol (GSH) ve okside olmuş disülfid (GSSG) formları mevcuttur. Glutasyon, ksenobiotik ve oksidatif metabolizma, enzimatik ve nonenzimatik biyolojik reaksiyonlar sonucunda oluşan ve stabil olmayan, şiddetli reaktif serbest radikallerin yıkıcı etkilerine karşı hücre membranını koruyan başlıca enzimatik olmayan antioksidan maddedir (1-5). Glutasyon içerdiği aminoasitler ile DNA ve protein sentezine de katılmaktadır (3). Büyüme (6, 7), deri ve yün yapımı (8), kanatlılarda kas ve tüy gelişimi (9), süt protein sentezi (10) olaylarında, sistein ve glutamik asit kaynağı olarak önemlidir.

Bazı araştırmacılar, GSH konsantrasyonunun kalıtımla aktarılabilen genetik bir özellik olduğunu ve sığırlarda GSH konsantrasyonu tek bir gen tarafından kontrol edilmekteyken, koyunlarda bimodal dağılım gösterdiğini ileri sürmektedirler (11-15).

Hayvanların ekonomik verim özellikleri ile GSH konsantrasyonu arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalarda, GSH tipinin verim özelliklerini etkilediği (12, 14), veya böyle bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (16, 17).

Bilinen en önemli özelliği, bütün vertebralılarda O₂ taşımak ve kana kırmızı rengini vermek olan hemoglobin (Hb), iki tane α , iki tane de α olmayan (β , γ , S v.b.) polipeptit alt zincirine sahip, allelik olmayan farklı genlerle idare edilen tetramerik proteinlerdir (18, 19). Kalitatif hemoglobin varyantları, biyokimyasal genetik marker olarak önemlidir (20). Protein molekülleri, yapılarında bulunan artı ve eksi yüke sahip aminoasitler ve onların sıralanışına bağlı olarak elektroforetik alanda farklı özellikler gösterirler ve birbirlerinden ayırt edilirler (2). Farklı hayvan türlerinde farklı Hb formları bildirilmiştir. Örneğin, sığırdaki HbA ve HbB (21) ve koyunda Hb (A ve B) , daha az olarak O,C ve F Hb' lere rastlanır (12). Erişkin kanatlı hayvanlarda, elektroforetik olarak ayırt edilebilen iki farklı hemoglobin komponenti mevcuttur. Bu komponentlerden birisi bütün kanatlılarda bulunan ve toplam hemoglobinin büyük çoğunluğunu (%70'den %90'a kadar) meydana getiren major komponent olup, elektroforetik alanda daha ağır göç eden, kalın bir bant verir. Diğeri ise asidik bir minor komponent olup, elektroforetik olarak daha hızlı göç eden zayıf, ince bir bant verir (22-25). (Şekil 1).



Şekil 1. Erişkin evcil tavuklarda gözlenen hemoglobin tipleri (26) (M: Major hemoglobin komponenti, m₁: Normal minor hemoglobin komponenti, m₂: Mutant minor hemoglobin komponenti).

Kanatlı eritrositlerdeki Hb, elektroforetik olarak sığır ve koyunlara göre daha ağır göç eder (27). İnsanlarda ve diğer hayvanlarda mutant Hb' lerin varlığı bildirilmesine rağmen, kanatlı hemoglobinlerinde bilinen genetik heterojenite seyrek (25, 26). Bununla birlikte Ghosh ve ark. (20), kanatlı hayvanlarda da HbAA, AB ve BB fenotiplerinin gözlemlendiğini bildirmektedirler. Fertilitite, vücut ve yapağı ağırlığı gibi verim özellikleri üzerinde hemoglobin tiplerinin etkili olduğunu bildiren çalışmaların (12) yanı sıra, herhangi bir ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da yapılmıştır (26).

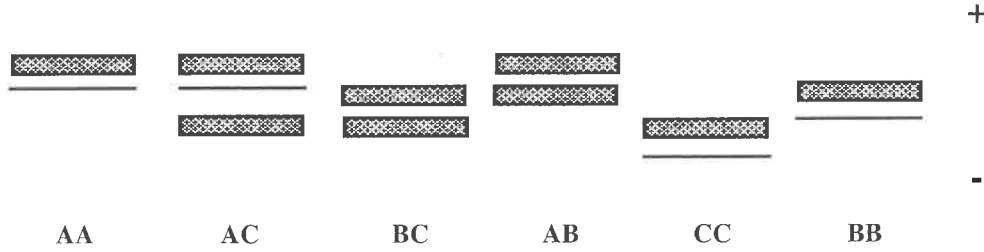
Plazma proteinlerini meydana getiren fraksiyonlardan biri olan globulinlerin bir alt grubunu oluşturan Tf, iki bölgeye, tek zincirli, fizyolojik sıvı ve hücrelere hızla dağılan, fonksiyonel olarak demir bağlayıcı ve taşıyıcı bir proteindir. Tf'n yapısında, nispeten seyrek alleller bildirilmesine rağmen, bilinen yirmiden fazla polimorfik formu mevcuttur (1, 12, 18). Kanatlı Tf'i, bir otosomal lokustaki 3 kodominant allel tarafından kontrol edilir (28). Yapılan elektroforetik çalışmalar sonucunda, Tf allellerinin her birinin, bir koyu, bir açık renkli bant verdiği gözlemlenmiştir. Kanatlılardaki Tf allelleri, memelilerde olduğu gibi Tf^a ve Tf^b, fenotipler ise tip a, tip b, tip ab olarak simgelenmiştir. Tip a daha hızlı ve kuvvetli bir çift bant özelliğindedir. Tip b, tip a'ya göre daha yavaş bir çift banta sahiptir. Tip ab'de ise her iki bantı da görmek mümkündür. Daha sonra en yavaş göç eden c alleli de ayırt edilmiştir (28). Günümüzde kanatlı transferrin allelleri Tf^A, Tf^B ve Tf^C olarak, fenotipler ise AA, AB, AC, BB, BC ve CC olarak adlandırılmaktadır (29, 30) (Şekil 2).

Biyokimyasal genetik markerlar ve bunların pratikte kullanımı bakımından, Tf polimorfizminin verim özellikleri üzerindeki etkileri, koyun (12), sığır (21), tavuk (31-33) gibi türlerde araştırılmıştır.

GSH hemoglobin demirinin ferro (Fe⁺⁺) durumunda kalmasını sağlamaktadır. Hb B, Hb A' ya

göre daha fazla oksijeni dokulara taşıyarak, daha fazla GSH tüketilmesine neden olmakta ve bu nedenle Hb AA fonotipine sahip koyunlarda GSH konsantrasyonunun daha yüksek olduğu bildirilmektedir (12). Hb sentezinde kullanılan Fe, transferrin tarafından taşınmaktadır. HbAA fenotipine ve TfBC fenotipine

sahip olan koyunlarda, GSH konsantrasyonunun daha fazla, TfD allele sahip olan bireylerde GSH seviyelerini düşük olduğu, buna bağlı olarak GSH metabolizmasının, transferrinin taşıdığı Fe aktivitesiyle etkilenebileceği düşünülmektedir (12, 15, 34).



Şekil 2. Kanatlılarda Tf fenotiplerinin şematik görünümü (28).

Manganez, diğer bütün iz mineraller gibi, canlı organizmaya hayvansal ve bitkisel kaynaklı gıdalarla beslenme ve su ile alınır ve hücre içinde en çok mitokondriada bulunur. Mn bir esansiyel mineral olarak, glikozil transferaz, süperoksit dismutaz, piruvatkinaz, fosfoenolpiruvat dekarboksikinas gibi karbonhidrat, protein, lipid ve serbest radikallerin metabolizmasında önemli fonksiyonları olan enzimlerin aktiviteleri için bir kofaktör olarak gereklidir (35, 36). Substrat olarak serbest radikalleri kullanarak, aerobik organizmaları ve hücreleri bunların zararlı ve yıkıcı etkilerine karşı koruyan süperoksit dismutaz enzimi (SOD), sitozolik enzim bölümü kofaktör olarak Cu^{++} ve Zn^{++} , mitokondrial enzim ise Mn^{++} kullanır (1, 37). Mn, ovaryum ve adrenal korteks hormonları ile yumurta sarısı sentezinde kullanılan kolesterolün biyosentezinde görevli olan mevalonat ve skualen sentezinde görevli mevalonat kinaz ve bir mikrozomal enzim olan skualen sentetaz enzimlerinin de kofaktörüdür (1, 35, 38). Yumurta oluşumu ve yapısı üzerinde önemli etkilere sahip olan mineral maddelerden birisi de Mn dir. Mukopolisakarid sentezine katılan Mn yumurta kabuğu oluşumunda da yer almakta ve kabuk kırılabilirliğini azaltmaktadır (39). Organizmadaki Mn seviyeleri, beslenmenin yanı sıra (38), yaşa bağlı olarak da değişmektedir (35,40,41).

Bu çalışmada, hibrit yumurta tavuklarında bazı biyokimyasal kan parametreleri (GSH, Hb, Tf ve Mn) tayin edilerek, bir birileri ve yumurta verimi üzerindeki etkilerinin ortaya konulması amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada materyal olarak, Van Ziraat Meslek Lisesi Küçük Evcil Hayvan Ünitesinde bulunan, gerekli aşılı yapılmış 100 adet Shower hibrit tavuk ırkı (Golden Comet x Star Cross hibriti) kullanıldı. Çalışmaya, tavuklar 16 haftalıkken başlandı. Tavuklara

20. haftaya kadar piliç büyütme yemi, daha sonra yumurta yemi verildi. Tavuklar 50x45x50 cm boyutunda, otomatik suluklu ve yemlikli kafeslere yerleştirildi. Araştırma, tavuklar 16-30 haftalıkken yapıldı.

Tavuklar 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 ve 30. haftalıkken sabah 8.00-11.00 saatleri arasında kanat altı venasından (Vena subcutanea ulnaris) antikoagulantli tüplere 2 ml kan alındı. Tüm kanda redükte glutasyon (GSH) Beutler ve ark. (42) metodu ile 412 nm de spektrofotometrik olarak ölçüldü. 30. haftalıkken alınan tüm kan hemolizatında Hb (43,44) ve plazmada Tf tip tayinleri (27, 43, 44) nişasta-jel elektroforezinde yapıldı. Manganez konsantrasyonları ise AA 680 SHIMADZU marka atomik absorpsiyon spektrofotometresinde okundu (45, 46). Yumurtlama başladıktan sonra da, yumurta verimleri kaydedildi. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri yapıldı.

BULGULAR

Kafeste beslenen hibrit yumurta tavuklarında yürütülen çalışmanın sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi ve GSH ve Mn konsantrasyonları Tablo 1' de özetlendi.

GSH konsantrasyonlarının, haftalar arasındaki değişiminin değerlendirilmesi sonucunda, 16-18., 18-20., 24. ve 26., 26.-28. ve 28.-30. haftalar arasındaki fark çok anlamlı bulundu ($p<0.01$). Ancak 20.-22. ve 22.-24. haftalar arasındaki fark anlamlı değildir ($p>0.05$). Yumurtlama başlamadan önceki haftalarda elde edilen GSH konsantrasyonu ortalamasının, yumurta döneminde elde edilene göre istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Yumurtlamanın başladığı 22. hafta ve sonraki dönemde GSH konsantrasyonu ile yumurta verimleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Tüm bireyler için, çalışma süresince elde edilen toplam GSH

ortalamları göz önüne alınarak, yumurta verimine başlama yaşı ve toplam yumurta sayıları arasında yapılan karşılaştırmada anlamlı bir ilişki gözlenmedi ($p>0.05$). Tüm haftalar GSH Ortalaması 66.08 ± 7.99 mg/100 ml olarak saptandı ve koyunlarda yapılan ayırma benzer şekilde, bu değer altında olan bireyler düşük, üstünde olanlar yüksek GSH bireyler olarak yapay bir ayırım yapıldı. Buna göre yüksek GSH'da ortalama 69.39 ± 1.5 , düşük GSH'da ortalama 56.62 ± 0.9 olarak belirlendi. Ancak bunların, yumurta verimine başlama yaşı ve toplam yumurta verimleri ile arasında istatistiki bakımdan anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Aynı şekilde Mn konsantrasyonlarının haftalara göre değişimi de değerlendirildi ve aradaki farkların anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$). Yumurtlama öncesine ait Mn konsantrasyonlarının ortalamasının, yumurtlama dönemine göre istatistiksel olarak çok anlamlı oranda düşük olduğu saptandı ($p<0.01$). Yumurtlama döneminde, 22., 24. ve 26. haftalardaki yumurta verimi ve Mn seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamazken ($p>0.05$), 28. haftada ($p<0.05$) ve 30. haftada çok anlamlı ($p<0.01$) bir ilgi bulundu. Çalışmanın yapıldığı 16.-30. haftalar arasında elde

edilen glutasyon ve manganez konsantrasyonları arasında, anlamlı bir ilişki belirlenemedi.

Yumurtlama dönemi 22. haftada başladı ve ortalama yumurta verimleri, 22., 24., 26., 28. ve 30. haftalar için sırasıyla 1.0 ± 0.0 , 1.364 ± 0.140 , 2.149 ± 0.213 , 2.949 ± 0.223 ve 2.600 ± 0.237 olarak tespit edildi.

Nişasta-jel elektroforezi ile yapılan Hb tip tayini sonucunda, hemoglobinlerin kalın bir majör komponent ve ince bir minör komponente ayrıldığı, bireyler arasında ise polimorfizm göstermediği saptandı (Şekil 3).

Nişasta-jel elektroforezinden elde edilen plakalardaki bantların değerlendirilmesi sonunda, hızlı ilerleyen Tf^A bantı, daha yavaş ilerleyen Tf^B bantı ve en yavaş ilerleyen Tf^C bantı ayırt edildi. Transferrinlerin elektroferogramında bu allel genlerden meydana gelen beş ayrı Tf fenotipi gözlemlendi. (AA, AB, AC, BB, BC) (Şekil 4).

Tablo 2' de görüldüğü gibi Tf^B'nin en yaygın genotipi olduğu belirlendi.

Tablo 1. Tavukların 16-30. haftalar arası GSH ve Mn konsantrasyonları.

Haftalar	GSH (mg/100 ml)	Mn (μ g/100 ml)
1 (16. Hafta)	70.703 \pm 1.997	4.841 \pm 0.568
2 (18. Hafta)	63.137 \pm 1.448	5.241 \pm 0.529
3 (20. Hafta)	71.858 \pm 2.292	5.904 \pm 0.764
4 (22. Hafta)	72.435 \pm 2.210	6.317 \pm 0.347
5 (24. Hafta)	70.036 \pm 1.664	7.108 \pm 0.755
6 (26. Hafta)	57.927 \pm 1.284	7.244 \pm 0.582
7 (28. Hafta)	65.269 \pm 1.008	7.250 \pm 0.513
8 (30. Hafta)	57.263 \pm 0.832	7.516 \pm 0.531
$\bar{x}\pm S_x$	66.08 \pm 7.99	6.428 \pm 1.574
Min-Max	35.30-135.87	2.7-10.7
N	100	100

Tablo 2. Tf gen frekansları.

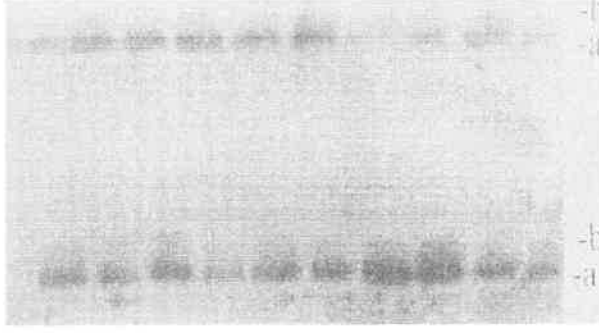
GENOTİP	Tf ^A	Tf ^B	Tf ^C
Frekans	0.35	0.45	0.20

Tavukların sahip oldukları Tf fenotipleri ile yumurta verimine başlama yaşı ve toplam yumurta sayıları arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p>0.05$). Bireylerin sahip oldukları Tf fenotipleri ve toplam GSH konsantrasyonları karşılaştırıldığı zaman, istatistiki olarak anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p<0.05$). Buna göre Tf fenotiplerinin sahip oldukları GSH konsantrasyonları Tablo 3' te verildi. Burada Tf AC ve BB fenotipleri arasındaki farkın anlamlı olduğu

gözlemlendi ($p<0.05$). Heterozigot olan fenotiplerin, homozigot olanlardan daha fazla GSH konsantrasyonuna sahip olduğu görüldü.

Tablo 3. Tf fenotiplerinin ortalama GSH konsantrasyonları.

Tf Fenotipi	GSH Ortalaması (mg/100 ml)	n
AC	69.48 \pm 2.2	17
AB	67.67 \pm 1.5	25
BC	66.13 \pm 1.8	23
AA	64.77 \pm 1.5	14
BB	62.25 \pm 1.6	21



Şekil 3. Tavukların 30. haftasında elde edilen hemoglobin komponentlerinin elektroforetik görünümü (a= Yavaş göç eden kalın majör bant, b= Hızlı göç eden ince normal minör bant).



Şekil 4. Hibrit Shower yumurta tavuklarında Tf fenotiplerinin elektroferogramı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hayvanlarda genetik olarak mevcut olan farklılığın biyokimyasal temelini araştırılmaya başlanmasından sonra, biyokimyasal genetik markerlerin saptanarak, bunların ekonomik verim özellikleri üzerindeki etkilerinin araştırılması ilgi çeken bir konudur. Bu çalışmada araştırılan parametrelerden olan GSH konsantrasyonları, çeşitli araştırmacıların bildirdiğine göre, kanatlı hayvanlarda vücut ağırlığı, yaş, hastalık, oksidatif stres ve genetik durumdan etkilenmekle birlikte, 23.6-234 mg/100 ml arasında değişmektedir (11, 13, 47). Bu çalışmada ise haftalara göre GSH konsantrasyonları 57.263 ± 0.832 - 72.435 ± 2.210 mg/100 ml arasında ve literatür verilerine uygun olduğu görüldü. Ancak bu çalışmada GSH konsantrasyonunun bireylerde sabit kalmadığı ve haftalara göre dalgalanma gösterdiği hatta 16-18, 18-20, 24-26, 26-28 ve 28-30. haftalardaki konsantrasyonlar arasındaki farkın önemli ($p < 0.05$) olduğu bulundu. Nitekim Best (11), ve Enkvetchakul (47), GSH tavuklarda yaş ve fizyolojik durumlardan etkilendiğini bildirmektedirler.

Yumurtlama dönemine girilmesiyle birlikte, enerji ihtiyacı ve dolayısıyla oksijen ihtiyacı da artmaktadır. Yeterli miktarda enerji sağlamak için, dokuların oksijen kullanımı da artar. Bu da oksijen serbest radikallerinin artmasına yol açar (12, 48, 49). Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunu önlemek için

GSH kullanılmaktadır (3, 47). Bu çalışmada, yumurtlama öncesi yüksek olan GSH konsantrasyonu, yumurtlama döneminde önemli oranda düşük bulundu. Yukarıdaki araştırmacıların (45, 48-50) bildirdikleri şekilde, yumurtlama ile meydana gelen oksidatif stres durumuna bağlı olarak, yumurtlama sonrası GSH konsantrasyonları düşük bulunmuş olabilir. Bunun yanında, GSH konsantrasyonunun tavukların büyümeleri ve yumurtlama periyoduna girmelerinden etkilendiği görülebilmektedir. Yumurta akı ve sarısında bulunan proteinlerin temelini oluşturan aminoasitler arasında, glutasyon tripeptidini meydana getiren glisin, sistein ve glutamik asit'in de önemli yeri vardır (48). GSH un yumurta akı ve sarısındaki proteinlerin sentezi için bir aminoasit kaynağı olarak kullanılması olduğu düşünülebilir. Ayrıca büyüme periyodunda GSH sistein kaynağı olarak önemlidir (5-8, 47, 48).

Bu çalışmada, yumurtlama dönemi süresince elde edilen glutasyon konsantrasyonu ile yumurta verimi arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Aynı şekilde, sekiz hafta boyunca elde edilen glutasyon değerlerinin bireyler için hesaplanan toplam GSH konsantrasyonu ile yumurta verimi ve yumurta verimine başlama yaşı arasında istatistiki bakımdan anlamlı bir ilişki bulunamadı. GSH konsantrasyonunun yumurtlama öncesi ve sonrası durumdan etkilenmesine karşın, yumurta verimi ve yumurtlamaya başlama yaşı üzerinde etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Aynı populasyondaki bireylerin düşük ve yüksek GSH konsantrasyonuna sahip olmasından dolayı GSH'un bir çift otosomal genle idare edilen bir genetik marker olduğunu kabul eden birçok araştırmacı, özellikle koyunlarda yaptıkları araştırmalarda E.M. Tucker'in önerdiği 55 mg/100 ml değerini sınır kabul ederek, üstündeki miktarda GSH konsantrasyonuna sahip olanları GSH^H , düşük olanları ise GSH^h olarak belirleyen bir ayırım yapmışlar ve bunların verim özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır (12, 15, 17). Jain ve ark.(13), aynı şekilde bir sınıflamayı kanatlı hayvanlarda yaparak, 28 mg/100 ml GSH konsantrasyonunu düşük, 31 mg/100 ml GSH konsantrasyonu ise yüksek kabul etmiştir. Düşük GSH konsantrasyonuna sahip olan bireylerin yüksek olanlara göre, daha erken seksüel erginliğe ulaştığını ve daha fazla yumurta verimine sahip olduğunu öne sürmektedir. Ayrıca bazı araştırmacılar, daha fazla vücut ağırlığına sahip tavukların GSH miktarlarının daha yüksek olduğunu bildirmektedirler (47, 51). Bu çalışmada benzeri bir ayırım yapmak için, tüm bireylerin toplam GSH konsantrasyonu 66.08 mg/100 ml olarak hesaplandı ve bu değer sınır olarak kabul edilip, bir sınıflama yapıldı. Bu çalışma grubundaki yüksek GSH Ortalaması 69.39 ± 1.5 mg/100 ml, düşük GSH Ortalaması ise 56.62 ± 0.9 mg/100 ml olarak bulundu. Ancak bu değerlere göre GSH miktarlarının yumurta verimi ve yumurtlamaya başlama yaşı üzerinde etkisinin olmadığı görüldü. Bu verilerin

ışığında GSH tipini bir genetik marker olarak kabul edip, verim özellikleriyle arasında bir ilişki olduğunu söyleyen araştırmacıların aksine, bu tavuk ırkı ve bu şartlarda GSH'un genetik faktörlerden ziyade çevresel ve fizyolojik faktörlerden etkilendiğini ileri süren Zanotti-Casati ve ark. (16)'ın iddialarına katılmak mümkündür.

Kanatlı hayvan hemoglobinler elektroforetik alanda bir kalın majör ve bir ince minör bant verir ve bu normal tip Hb'dir. Bazen minör bant normale göre daha hızlıdır ve buna mutant tip Hb denir. Kalın majör bantın yanında hem normal minör, hem de mutant minör bantı taşıyanlar ise heterozigot tip olarak nitelendirilir. Bununla birlikte, evcilleştirilmiş kanatlı hayvanlarda hemoglobin polimorfizminin seyrek olduğu bildirilmiştir (22-24). Bu çalışmada da, nişasta-jelde, elektroforetik işleme maruz bırakılan hemoglobinlerin, yavaş göç eden kalın bir majör bant ve yavaş göç eden ince bir minör bant veren iki komponente ayrıldıkları saptandı, bireysel olarak herhangi bir hemoglobin polimorfizmi gözlenmedi.

Evcil çiftlik ve kümes hayvanlarında biyokimyasal polimorfik karakterlerin araştırıldığı çalışmalarda, transferrini kontrol eden genler kodominans gösterdikleri ve elektroforetik kan analizlerinde kolayca belirlendikleri için her hayvan türünde avantajlıdır. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan elektroforez analizlerinde kanatlı hayvanlarda Tf polimorfizmine sıkça rastlanmaktadır (28-32). Sunulan araştırmada, tavukların plazmasında elektroforetik olarak beş farklı Tf fenotipi (AA, AB, AC, BC, BB) tespit edildi. Allel frekansları ise Tf^A, Tf^B ve Tf^C için sırasıyla 0.35, 0.45 ve 0.20 olarak bulundu. Tf^B genotipinin, diğer genotiplere göre daha yaygın olduğu görüldü.

Tf polimorfizminin koyun (12) ve sığırdan (21), üreme ve verim kabiliyeti üzerinde önemli etkileri olduğu saptanmıştır. Tavuklarda yapılan bir çalışmada ise, Parmar ve Katpatal (32), yumurtlama, toplam yumurta sayısı ve fertil yumurta sayısı bakımından TfAB fenotipinin, TfAA ve BB homozigot tiplerden daha üstün olduğunu ve 4. ve 6. haftalarda vücut ağırlığının ve 6. ve 8. haftalarda nispi büyüme hızının, transferrin genotipi ile çok önemli oranda ($p < 0.01$) etkilendiğini bildirmişlerdir. Ancak Tf fenotiplerinin tavukların verim özellikleri üzerinde etkisinin önemli olmadığını bildiren çalışmalar da yapılmıştır (31, 33). Nitekim bu çalışmada da, tavukların sahip oldukları Tf tipleri ile yumurta üretimi ve yumurtlamaya başlama yaşı arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Kümes hayvanları, organizmada pek çok enzimin kofaktörü olarak önemli olaylara katılan manganeze (Mn) çok duyarlıdır (36). Özellikle kartilago proteoglikanlarının yapısındaki yan zincir sentezine katılan glikozil transferaz enziminin kofaktörü olduğu için, kemik ve yumurta kabuk kalitesi üzerinde Mn

etkisi vardır (39, 52). Mn, diğer bütün iz minerallerde olduğu gibi organizmada çok az miktarda bulunmakta ve kanatlı hayvanlarda toplam vücut Mn oranı dar sınırlar (528-738 g) içinde değişmektedir (41). Sunulan çalışmada, yumurtlama öncesi kan plazmasında bulunan Mn konsantrasyonu $5.328 \pm 0.463 \mu\text{g/dl}$ olarak ölçülürken, yumurtlama sonrası bu miktar $7.087 \pm 0.359 \mu\text{g/dl}$ olarak ölçülmüş olup, aradaki fark önemlidir. Bu sonuçlar, Underwood (35)' un yumurtlama öncesi 19. haftada $3.0 \pm 4.8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, yumurtlama sonrası 25. haftada $8.5 \pm 9.1 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ olarak bulduğu plazma Mn konsantrasyonları ile uygunluk göstermektedir. Bu sonuçlar Mn konsantrasyonunun yaşa ve fizyolojik duruma bağlı olarak değiştiğini bildiren literatür verilerini de desteklemektedir (41, 53, 54). Mn'in, kolesterol ve bunun türevleri olan steroid yapıdaki hormonların biyosentezinde önemli basamakları katalizleyen enzimlerin kofaktörü olmasından dolayı, bu hormonların metabolizmasından da etkilenmiş olması söz konusudur (48).

Biyolojik membranları serbest radikallerin yıkıcı etkilerinden korumak için GSH ile birlikte hareket eden süperoksit dismutaz enziminin önemli bir kofaktörü de Mn' dir (1). Wilson ve ark.(55), embriyonal gelişim süresince meydana gelen oksidatif değişikliklere göre, GSH ve SOD konsantrasyonlarının paralel olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada Mn ve GSH konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Bu durum SOD enziminin, Mn yanı sıra Cu ve Zn nun da kofaktör olarak kullanılması ile açıklanabilir.

Bireylerin sekiz haftalık ortalama GSH konsantrasyonları ve TfAC ve BB fenotipleri arasında anlamlı ($p < 0.05$) bir ilişki bulundu. Burada heterozigot tipler olan AC, AB ve BC'nin GSH ortalamalarının, homozigot tipler olan AA ve BB' ninkinden yüksek olduğu görülmektedir. Rizzi ve ark.(15), koyunlarda yaptıkları bir çalışmada, homozigot Tf tiplerinin, GSH konsantrasyonunun daha düşük olduğunu bildirmekte ve GSH metabolizmasının, transferrinin demir aktivitesiyle etkilenebileceğini ileri sürmektedir. Bu bilgilere dayanılarak farklı Tf fenotipine sahip olan bireylerde, hemoglobin sentezi için gerekli olan demiri taşıyan transferrin seviyesinin ve demir bağlama kapasitesinin değişebileceği ve dolayısıyla GSH metabolizmasının bundan etkilenebileceği düşünülebilir. Ancak, en azından bu çalışma için, göz ardı etmemek gereken nokta, takip edilen sekiz hafta boyunca GSH seviyeleri sabit kalmadığı ve birbirinden farklı çıktıdır. Burada Tf tipleriyle karşılaştırılan değer de sekiz haftanın ortalama bireysel GSH konsantrasyonudur.

Sonuç olarak; yumurta verimi bakımından ıslah edilmiş olan ve bu çalışmaya konu olan ırkta, yumurtlama öncesi dönemdeki GSH konsantrasyonunun, yumurtlama dönemine göre önemli oranda yüksek olmasının yumurtlama döneminde enerji ve oksijen ihtiyacının ve buna bağlı olarak lipid peroksi-

dasyonunun artması nedeniyle hücreleri ve hemoglobinleri oksidatif yıkımdan korumak için, GSH'un kullanılmasından kaynaklandığı kanısına varıldı. Ayrıca GSH u meydana getiren aminoasitlerin, büyümede kas ve tüy gelişimi ve yumurta proteinlerinin sentezine katılması da söz konusudur. Yumurtlama döneminde GSH konsantrasyonları ve aynı haftalardaki yumurta verimleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. GSH konsantrasyonlarının yumurtlama öncesi ve yumurtlama döneminde farklı olması ve yumurta verimi ile ilişkili olmaması üzerine, GSH'un fizyolojik ve çevresel şartlardan etkilenen bir parametre olarak, çalışmaya konu olan tavuk ırkında genetik bakımdan öneminin göz ardı edilebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, hemoglobin polimorfizmi belirlenemezken, Tf polimorfizminin yumurta verimi üzerinde herhangi bir etkisi saptanamadı. Bu bakımdan, Tf polimorfizmine dayanılarak bu çalışmanın materyalini oluşturan tavuk ırkında yumurta verimi yönünden bir ayırım yapılamayacağı sonucuna varıldı. Tavuklarda Mn seviyesinin giderek yükseldiği saptandı. Buradan Mn konsantrasyonunun, beslenmenin yanı sıra yaşla ve organizmada kofaktör olarak katıldığı biyolojik olaylar ile yakından ilgili olduğu düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW: Harper'in Biyokimyası. Çev. G.Menteş, B.Ersöz, Barış Kitabevi, İstanbul, (1993).
- Singer S: Human Genetics. An Introduction to the principles of heredity. 2nd Ed., W.H. Freeman Company, New York, (1985).
- Meister A, Anderson M.E: Glutathione. Ann Rev Biochem 52: 711-760, (1983).
- Stryer L: Biochemistry, 3rdThird Ed., W.H.Freeman Company, New York, (1988).
- Spurlock ME, Savage JE: Antioxidant activity of Japanese quail liver cytosol in the absence and presence of reduced glutathione. Poul Sci 71: 928-931, (1992).
- Cho ES, Jhonson N, Snider BCF: Tissue glutathione as a cyst(e)ine reservoir during cysteine depletion in growing rats. J Nutr 14:1853-1862, (1984).
- States B, Foreman JW, Segal S: Cysteine and glutathione levels in developing rat kidney and liver. Pediatr Res 22: 605-608, (1987).
- Lee J, Harris PM, Sinclair BR, Treloar BP: Whole body metabolism of cysteine and glutathione and their utilization in the skin of Romney sheep: consequences for wool growth. J Agricul Sci 21:111-124, (1993).
- Enkvetchakul B, Bottje W, Anthony N, Moore R: Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. Poul Sci 72:2272-2280, (1993).
- Pocius PA, Clark JH, Baumrucker CR: Glutathione in bovine blood: possible source of amino acids for milk protein synthesis. J Dairy Sci 64:1551-1554, (1981).
- Best EE: Blood glutathione of the domestic fowl. Ph D Dis Univ Sydney, Australia, (1966).
- Atroshi F: Phenotypic and genetic association between production/reproduction traits and blood biochemical polymorphic characters in Finnsheep. Thesis, Faculty of Agriculture, Univ. Helsinki, Finland, (1979).
- Jain AK, Joshi SC, Rawat JS, Pandey MD: Blood glutathione polymorphism and its relationship with certain economic traits in poultry. Vet Bul 049-1026, (1979).
- Tucker EM, Kilgour L: The effect of anaemia on sheep with inherited differences in red cell reduced glutathione (GSH) concentrations. Res Vet Sci 4: 306-311, (1973).
- Rizzi R, Caroli A, Bolla P, Acciaioli A, Pagnacco G: Variability of reduced glutathione levels in massese ewes and its effect on daily milk production. J Dairy Res 55:345-353, (1988).
- Zanotti-Casatti M, Rizzi R, Pagnacco G, Luzi F, Rognoni M: Marker genes and their association with production and reproduction in "Delle Langhe" sheep. J Anim Breed Genet 07: 96-103, (1990).
- Yaman K, Çamaş H, Erdiç H, Gökçen H, Başpınar H: Merinos erkek kuzularda bazı kan parametreleri (transferrin, hemoglobin, glutatyon, testesteron) ile besi performansları arasındaki ilişki üzerinde araştırmalar. III. Glutathione (GSH) düzeyi ile canlı ağırlık artışı arasındaki ilişki. U Ü Vet Fak Derg 5-6(1-2-3): 67-71, (1987).
- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA: Hematology, 3rd Ed, McGraw-Hill Book Company, New York, (1983).
- Friedman JM: Structure, dynamics, and reactivity in hemoglobin. Science 228: 1273-1280, (1985).
- Ghosh SK, Dattagupta R, Misra SK, Chaudhury G, Sahoo AK: Haemoglobin polymorphism and its relationship to economic traits in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). Exp Genet 8(1-2):15-19, (1992).
- Rahman MF, Kalam MA: Association of transferrin types with weight gain in cattle. Indian Vet J 63: 1001-1003, (1986).
- Washburn KW: Effects of age of bird and hemoglobin type on the concentration of adult hemoglobin components of the domestic fowl. Poul Sci 47:1083-1089, (1968).
- Mazumder NK, Mazumder A: Haemoglobin polymorphisms in chicken, quails and guinea fowls. Indian J Anim Sci 59(11): 1425-1428, (1989).
- Mazumder NK, Mazumder A, Arora U: Evaluation of relative haemoglobin concentration of different haemoglobin components in different avian species. Indian J Anim Sci 60(5): 538-540, (1990).
- Pal SK, Singh H: Pre and post-embryonic haemoglobin variations in guineafowl. Indian J Anim Sci 64(2):153-165, (1994).
- Washburn KW: Hemoglobin types in various population of chickens. Poul Sci 55: 436-438, (1976).
- Bushman HB, Schmid DO: Serumgruppen Bei Tieren, Verlag Paul Parey, Berlin, (1968):
- Stratil A: Transferrin and albumin loci in chickens, *Gallus gallus* L. Comp Biochem Physiol 24:113-121, (1968).
- Guangchao C, Devang Z, Licheng W, Zhanxiong D, Li W, Ting Z, Kunfan L, Xiaohui Z: Analysis of blood-group and plasma protein polymorphism in eleven Chinese native fowl breeds. Chinese J Genet 18(4): 267-272, (1990).
- Han SK, Shin YC, Park YS: Studies on biochemical polymorphisms of Korean ring-necked pheasants. Korean J Anim Sci 36(2):138-143, (1994).
- Singh RV, Srivastava SK, Chaudhary RP, Singh V: Transferrin polymorphism and its association with economic traits in white Leghorn. Anim Breed Abs 054-02505, (1986).
- Parmar SNS, Katpatal BG: Relationship of transferrin polymorphism with economic characters in dwarf broiler birds. Indian Vet J 69: 614-618, (1992).

33. Constantini F, Panella F: β Globulins and productivity in chicken. Rivista Di Avicoltura 3: 61-63, (1989).
34. Thiagarajan R, GovindaRao R: Interrelationship of 2,3-diphosphoglycerate, glutathione and haemoglobin types in Madras red sheep. Indian Vet J 70:653-656, (1993).
35. Underwood EJ: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4th Ed, Academic Press, New York, London, (1977).
36. Özkan K, Bulgurlu Ş: Kümes Hayvanlarının Beslenmesi, Ege Üniv Yay No:264 İzmir, (1988).
37. Fridovich I: Superoxide dismutases. Advan Enzymol 58: 61-97, (1986).
38. Klimis-Tavantzis DJ, Kris-Etherton PM, Leach R.M: The effect of dietary manganese deficiency on cholesterol and lipid metabolism in the estrogen-treated chicken and the laying hen. J Nutr 13: 320-327, (1983).
39. Saly J, Fried K, Jantosovic J, Kusev J, Benhatchi M: The effect of manganese on egg shell quality. Folia Veterinaria 29(1-2): 91-99, (1985).
40. Deckert Von W, Georgi K, Grünert G, Berger A: Results from haematological and biochemical studies in to laying hen-a contribution to the determinaiton of physiological thresholds. Mh Vet Med 39: 516-520, (1984).
41. Nowakowski Z. Contents of minerals in bone marrow in relation to age and species of animals. Medycyna Weterinaryjna 45(5): 92-295, (1989).
42. Beutler E, Duron O, Kelly BM: Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med 61(5): 882-888, (1963).
43. Anonim: Atlarda kan grubu tayini. T.S.E. VDK, 616, 15-078, TS 8833, Ankara, (1991).
44. Poulík MD: Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature 80: 1477-1479, (1957).
45. Çamaş H, Bildik A, Gülser F: Toprak, bitki ve koyunların kanında bazı iz elementlerle (Cu, Mo, Zn, Co, Mn) sülfat (SO₄) miktarlarının araştırılması, TÜBİTAK Proje No. VHAG-966, (1994).
46. Anonim: Atomic Absorption Spectrometry. John Edward Cattle-Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, Oxford, New York, (1982).
47. Enkvetchakul B, Anthony NB, Bottje WG: Liver and blood glutathione in male broiler chickens, turkeys and quail. Poult Sci 74: 885-889, (1995).
48. Bell DJ, Freeman BM: Physiology and Biochemistry of the domestic fowl. Vol:3, Academic Press London, NewYork, (1971).
49. Mezes M, Lencses G: Changes in vitamin E. and lipid peroxide status in the lying hen during egg shell formation. Acta Vet Hung 33(1-2): 33-39, (1985).
50. Novak Z, Varga SI, Pataki L, Matkovics B: Simple method for the measurement of antioxidants. Clin Chim Acta 194:115-120, (1990).
51. Charkey LW, Hougham DF, Kano AK: Relationship of blood and liver levels of glutathione to early growth of chicks. Poult Sci 44:186-192, (1965).
52. Liu ACH, Heinrich BS, Leach RM Jr: Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. Poult Sci 73: 663-669, (1994).
53. Szymkiewicz MM, Niemiec J, Stepinska M: Determination of the relationship between the contents of Mg, Zn, Cu, Fe and Mn in blood and feathers of rhode island red hens and the results of hatchability. Ann Warsaw Agricul Univ SGGW AR Anim Sci 25: 8-14, (1990).
54. Sefton AE, Squires EJ: Mineral levels of turkey poults and eggs from different periods of lay. Poult Sci 74(Sup 1): 396, (1995).
55. Wilson JX, Lui EMK, Del Maestro MF: Developmental profiles of antioxidant enzymes and trace metals in chick emryo. Mech Age Develop 65: 51-64, (1992).

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Semiha Dede
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Van, TÜRKİYE

e-mail: ssdede@hotmail.com