

Karayaka Irkı Koyunlarında Kas Lifi Tiplerinin ve Sayısının Belirlenmesi

Emre Şirin^{1*}, Yüksel Aksoy¹, Uğur Şen², Zafer Ulutaş¹, Mehmet Kuran³

¹ Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Tokat

² Ondokuzmayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Kurupelit, Samsun

³ Ondokuzmayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun

*e-posta: emresirin@gop.edu.tr; Tel:+90 (356) 252 1616 / 2282; Fax: (0 (356) 252 1488

Özet

Et kalitesini belirleyen faktörler arasında eti oluşturan kas liflerinin tipi, sayıları ve boyutları yer almaktadır. Bu çalışmanın amacı, koyunlarda Musculus Longissimus Dorsi (MLD), Musculus Semitendinosus (MST) ve Musculus Semimembranosus (MSM) kaslarındaki kas lifi tipleri sayısının oransal olarak dağılımı ile bu kas liflerinin alanlarının belirlenmesidir. Araştırmanın materyalini, 3-5 yaşındaki ergin Karayaka ırkı koyunlar oluşturmuştur. Koyunlardan kesim sonrası alınan MLD, MST ve MSM kas örnekleri derhal sıvı azotta dondurulduktan sonra -80°C de depolanmıştır. Daha sonra bu örneklerden cryostat yardımı ile 10 µm büyüklüğünde kesitler alınarak ATPase staining analizlerine tabi tutulmuştur. ATPase staining analizi ile bu kaslardaki kas lifi tipleri, her bir kas lifinin alanları ve birim alandaki kas lifi sayıları belirlenmiştir. MLD, MST ve MSM kaslarında tip IIB (hızlı-glikolitik) kas lifi sayısının, tip IIA (hızlı-oksidatif-glikolitik) ve tip I'den (yavaş-oksidatif) daha fazla olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Ayrıca MLD kasındaki tip IIB (%61.0) liflerinin oranının, MST (%40.8) ve SM (%46.2) kasındakilerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. MLD kasındaki toplam kas lifi tiplerinin %12.5'ini tip I, %26.5'ini tip IIA ve %61.0'ini de tip IIB oluşturmaktadır. MST kasında ise tip I'lerin oranı %32.5, tip IIA'ların oranı %26.8 ve tip IIB'lerin oranı %40.8 olarak tespit edilmiştir. MSM kasında ise tip I'lerin oranı %34.0, tip IIA'ların oranı %20.0 ve tip IIB'lerin oranı ise %46.2 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Koyun, Karayaka, et kalitesi, kas lifi tipi, ATPase

Muscle Fiber Types and Numbers in Karayaka Ewes

Abstract

Muscle fiber types, numbers and size are among the factor determining meat quality. The aim of the present study was to determine the distribution of muscle fiber types and each muscle fiber area in Musculus Longissimus Dorsi (MLD), Musculus Semitendinosus (MST) and Musculus Semimembranosus (MSM) in sheep. Experimental animals were 3 to 5 years old Karayaka ewes. MLD, MST and MSM muscle samples were isolated from the ewes post-slaughter and placed in liquid nitrogen before freezing at -80°C. Serial sections of 10 µm thickness samples were collected by a cryostat and subjected to ATPase staining. Muscle fiber types, fiber area and fiber numbers were determined in the collected muscle samples. In results, type IIB muscle fibers (fast twitch-glycolytic) were higher than type IIA (fast twitch-oxidative-glycolytic) and type I (slow twitch-oxidative) muscle fibers in MLD, MST and MSM muscle samples (P<0.05). MLD muscles had higher type IIB (61.0 %) fiber types compared to MST (40.8%) and MSM (46.2%) muscles. Ratios of type IIB, IIA and I were 61.0, 26.5 and 12.5% in MLD, 40.8, 26.8 and 32.5% in MST and 46.2, 20.0 and 34.0% in MSM muscles, respectively.

Key words: Sheep, Karayaka, meat quality, muscle fiber typing, ATPase

Giriş

Dünya nüfusundaki hızlı artışla birlikte diğer besin kaynaklarına olduğu gibi hayvansal besin kaynaklarına duyulan ihtiyaç da artış göstermektedir (Anonim, 2003). Yapılan birçok çalışma ile hayvanlardan elde edilen et miktarı artırılmaya çalışılmaktadır. Hayvanlardan elde edilen et miktarı artırılırken, aynı doğrultuda et kalitesi de artırılmaya çalışılmalıdır. Bu nedenle et üretimi ile paralel olarak et kalitesinin de artırılması sağlanmalıdır. Bu zamana kadar ülkemizde et kalitesi ile ilgili

çalışmalarda birçok kriter dikkate alınırken kas lifi tiplerinin et kalitesi ile ilişkisi göz önünde bulundurulmamış ve daha çok organoleptik analizler et kalitesi kriteri olarak ele alınmaktadır (Günsen ve ark., 2006). Halbuki çiftlik hayvanlarında kas lifi özelliklerinin et kalitesinde anahtar bir rol oynadığı ifade edilmektedir (Lefaucheur 2001; Picard ve ark., 2002). Özellikle tip IIA ve tip IIB kas liflerini fazla içeren domuz etlerinin daha lezzetli oldukları rapor edilmiştir (Chang ve ark., 2003). Gebelik döneminde ananın beslenme düzeyi, doğum ağırlığını

etkilemeksizin koyunlarda bu iki kas lifinin kaslardaki toplam sayısını ve alanını etkilediği (Fahey ve ark., 2005) ve doğum ağırlığı düşük olan domuzlarda sekonder kas liflerinin sayısının daha düşük olduğu bildirilmektedir (Foxcroft ve Town, 2004). Karayaka ırkı koyunların yerli ırklarımız arasında et kalitesi bakımından Kıvırcıktan sonra ikinci sırada geldiği ifade edilmektedir (Anonim, 2007). Diğer yerli koyun ırklarımızın etlerindeki kas liflerinin çeşidine ilişkin yayınlanmış bir veri bulunmamaktadır. Yerli gen kaynaklarımızın et kalitesine ilişkin verilerin elde edilmesi gen kaynaklarımızın karakterizasyonu bakımından önem taşımaktadır. Et kalitesinin artırılması amacıyla yapılacak seleksiyon çalışmalarında da kas lifi tiplerinin dikkate alınması, et kalitesinin genetik ıslahı açısından önemli olabilir. Zira domuzlarda yapılan bir çalışmada kas lifi tiplerinin kalıtım derecesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Karlsson, 1999). Bu nedenle bu çalışmada et kalitesi kıvırcıktan sonra ikinci sırada gelen Karayaka ırkı koyunlarında kas lifi tiplerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

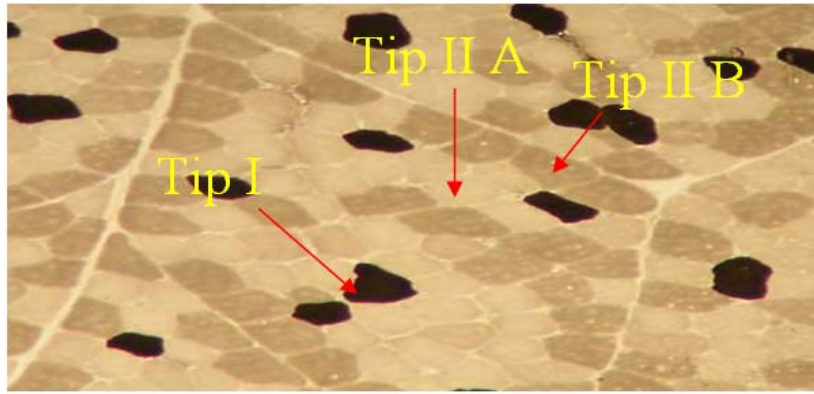
Materyal

Araştırmanın materyalini, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü Koyunculuk işletmesinde yetiştirilen 3-5 yaşındaki 5 adet ergin Karayaka ırkı koyun oluşturmuştur.

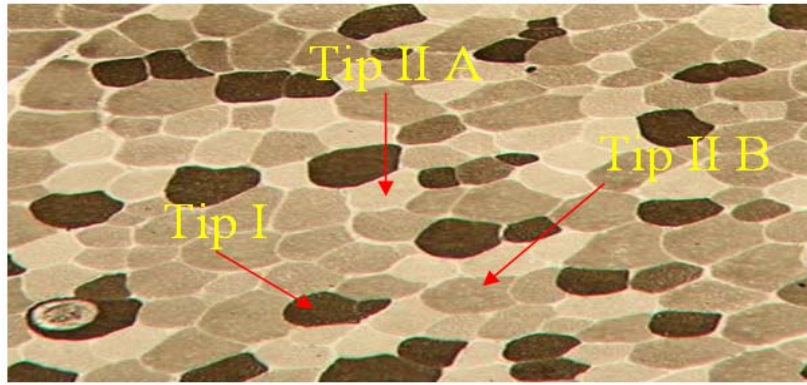
Metot

Deneme hayvanlarının kesim günündeki canlı ağırlıkları ortalama 51.7 kg'dır. Kesim gününde 12. ve 13. kaburgalar arasında ultrason (Pie Medical Falco Vet, Lineer prob; 8 MHz) yardımıyla tespit edilen ortalama MLD kası derinliği 2.3 cm ve MLD kası üzerindeki kabuk yağı kalınlığı ise 0.6 cm olarak tespit edilmiştir. Kesim öncesi hayvanlar 30 dakika süreyle strese sokulmayacak şekilde dinlendirilmiştir. Kesimi takiben MLD, MST ve MSM kasları bir bistirü yardımıyla izole edilmiştir. Daha sonra her bir kastan 3 cm uzunluğunda ve 0.5 cm kalınlığında kesitler alınarak -196°C 'deki sıvı azotta dondurulmuştur. Bu işlemi takiben alınan kesitler analiz edilinceye kadar -80°C de depolanmışlardır. Her bir kas kesitinden ATPase analizi için cryostat (Thermo, Croyotome E) yardımı ile 10 μm kalınlığında kesitler lam üzerine alınmıştır (Fahey ve ark., 2005). İlk olarak kasların ATPase staining analizi sırasında tabi tutulacakları pH'yı belirlemek amacı ile her kastan 3 adet kesit alınarak üç farklı pH (4.15, 4.25 ve 4.35) da ATPase staining analizine tabi tutulmuşlardır. Bu analiz sonucunda kas lifi tiplerinin pH'sı 4.35 olan 1 N formik

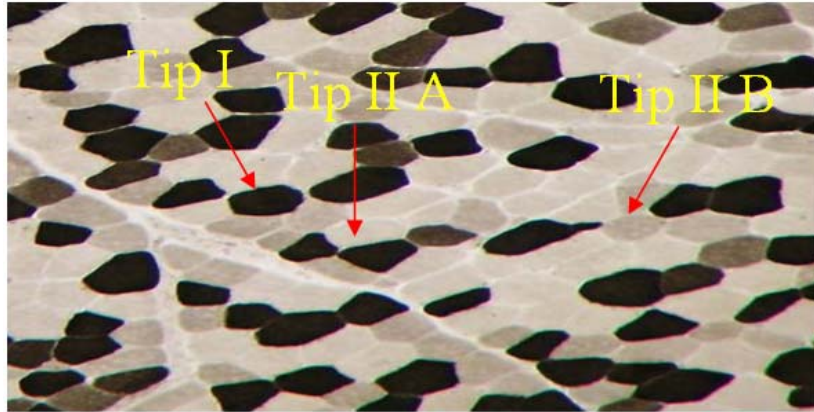
asit çözeltisinde en iyi şekilde ayırt edildikleri gözlemlenmiştir. Bu işlemi takiben denemede kullanılan 5 hayvanın her üç kasından da yine cryostat yardımı ile 10 μm kalınlığında kesitler alınarak pH'sı 4.35'e ayarlanmış olan 1 N formik asit çözeltisi içerisine daldırılarak $+4^{\circ}\text{C}$ de 12 dakika süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler pH'sı 7.4 olan 100 mM Tris ve 18 mM CaCl_2 karışımında 2 dakika bekletilmişlerdir. Kesitler daha önceden hazırlanmış ve pH sı 7.4 olan 20 mM Tris, 18 mM CaCl_2 ve 2.7 mM ATP karışımında 37°C de 1 saat süreyle inkübe edilmiştir. Bu işlemi takiben örnekler sırasıyla 10 dakika %1'lik CaCl_2 'de, 10 dakika bi-distile suda ve 3 dakika da %2'lik CoCl_2 'de bekletildikten sonra tekrar 10 dakika içerisinde bi-distile su bulunan behere transfer edilmiştir. Bu işlemleri takiben kesitler %1'lik $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ 'de 2 dakika süreyle bekletildikten sonra distile suda yıkanmışlar ve farklı yoğunluktaki (%100, %95 ve %80) alkollerde dehidrasyona tabi tutulduktan sonra üzerleri lamel ile kapatılmıştır. Daha sonra bu işlemlere maruz bırakılan kesitler mikroskop altında incelenmiş ve siyah renkli görünen kas lifleri tip I, açık kahverengi görünenler tip IIA ve koyu kahverenginde görünenler ise tip IIB olarak isimlendirilmiştir. MLD kasındaki kas liflerinin dağılımı Şekil 1'de, MST kasındaki kas liflerinin dağılımı Şekil 2'de ve MSM kasındaki kas liflerinin dağılımı Şekil 3'de gösterilmiştir. Bu ayırma göre sınıflandırmada, tip I'lerin yavaş kasılan kas lifleri olduğu ve metabolik olarak oksidatif oldukları, tip IIA ve tip IIB kas liflerinin ise her ikisinin de hızlı kasılan ancak metabolik olarak tip IIA'ların oksidatif veya glikolitik olabilecekleri, tip IIB'lerin ise glikolitik oldukları kabul edilmektedir (Chang ve ark., 2003; Fahey ve ark., 2005). Her bir örnekte en az 1000 adet kas lifi sayılarak o kası oluşturan kas lifi tiplerinin oranları belirlenmiştir. Her üç kastaki liflerin alanı cm^2 cinsinden hacim hesaplama yöntemi (Cavaieri) ile belirlenmiştir (Acer ve ark., 2007). Bu yöntemde noktalı alan ölçüm cetveli kullanarak kas liflerinin görüntüsünün bulunduğu yüzeye rastgele olarak atılmış ve ilk olarak bu noktalı alan ölçüm cetvelinin temas ettiği yüzey nokta sayım yöntemi ile alanlar hesaplanarak belirlenmiştir. Daha sonra bu yüzeyde her bir kas lifi tipine isabet eden noktalar sayılarak kas liflerinin alanı ve birim alandaki kas lifi sayısı tespit edilmiştir. Kas lifi tipi oranlarına ilişkin veriler, logaritmik transformasyondan sonra MINITAB (13.0) paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur ve transforme edilmemiş ortalamalar sunulmuştur. Kas lifi sayısı ve kas lifi alanına ait veriler ise aynı programda varyans analizine (General Linear Model) tabi tutulmuşlardır.



Şekil 1. MLD kasındaki kas liflerinin dağılımı (X10)



Şekil 2. MST kasındaki kas liflerinin dağılımı (X10)



Şekil 3. MSM kasındaki kas liflerinin dağılımı (X10)

Bulgular

MLD, MST ve MSM kaslarını oluşturan kas lifi tiplerinin oranı Çizelge 1'de verilmiştir. MLD kasından alınan örneklerin ATPase analizi sonucunda kas liflerinin %12.5'inin tip I, %26.5'inin tip IIA ve %61.0'inin de tip IIB kas liflerinden oluştuğu tespit edilmiştir. Her üç lif bakımından farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). MST kasında tip I'lerin oranı %32.5, tip IIA'ların oranı %26.8 ve tip IIB'lerin oranı %40.8 olarak tespit edilmiştir. Aynı kas liflerinin oranı

MSM kasında ise sırasıyla %34.0, %20.0 ve %46.2 olarak belirlenmiştir. MST ve MSM kaslarını oluşturan üç kas lifi tipi arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Her üç kas örneğinde de tespit edilen kas lifi tipleri arasında önemli derecede farklılıklar tespit edilmiştir. Tip I kas liflerinin oranı MLD kasında daha düşük bulunurken ($P<0.01$), SM kasında tip IIA kas lifi çeşidi daha az ($P<0.05$) bulunmuş, MLD kasında ise tip IIB kas lifi çeşidi daha yüksek bulunmuştur ($P<0.01$).

Çizelge 1. Ergin Karayaka ırkı koyunlarda MLD, MSM ve MST kaslarındaki kas lifi çeşitlerinin oranları.

Kaslar	Tip I ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)	Tip IIA ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)	Tip IIB ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)
LD, %	12.5±0.9 a,A*	26.5±1.9 b,A	61.0±2.5 c,A
SM, %	34.0±0.6 a,B	20.0±1.1 b,B	46.2±1.4 c,B
ST, %	32.5±1.9 ab,B	26.8±2.8 a,A	40.8±2.3 b,B

*Aynı satırda küçük ve aynı sütunda büyük birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

MLD, MST ve MSM kaslarını oluşturan kas lifi tiplerinin alanı Çizelge 2' de verilmiştir. Buna göre MSM kasındaki tip IIB ile tip I ve IIA kas liflerinin alanı arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.05). MLD ve MST kaslarında ise her üç kas lifi tipi arasında kas liflerinin alanı bakımından bir fark tespit edilmemiştir (P>0.05).

Çizelge 2. Ergin Karayaka ırkı koyunlarda MLD, MSM ve MST kaslarındaki her bir kas lifi çeşidinin ortalama alanı (1000 x mm²).

Kaslar	Tip I ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)	Tip IIA ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)	Tip IIB ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)
LD	16.0±2.44 a*	16.1±1.65 a	21.9±3.17 b
SM	13.7±1.06	13.6±0.75	19.9±1.25
ST	26.7±7.40	22.0±5.22	30.9±5.11

*Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

MLD, MST ve MSM kaslarının mm²'sindeki toplam kas lifi sayısı Çizelge 3'de verilmiştir. Birim alandaki kas lifi sayısı bakımından da kas çeşitleri arasında bir farklılık tespit edilmemiştir. MLD kasında 560.2±46.4, MSM kasında 521.2±19.1 ve MST kasında 519.5±91.6 adet/mm² kas lifi sayılmıştır.

Çizelge 3. Ergin Karayaka ırkı koyunlarda MLD, MSM ve MST kaslarındaki mm² de yer alan toplam kas lifi sayısı (adet/mm²)

Kaslar	mm ² 'deki toplam kas lifi sayısı ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) (adet/mm ²)
LD	560.2±46.4
SM	521.2±19.1
ST	519.5±91.6

Tartışma

Mevcut çalışmada elde edilen bulgular ergin Karayaka ırkı koyunların farklı kaslarından alınan kas örneklerinde ATPase boyama sayesinde bu kasları oluşturan kas lifi çeşitlerinin birbirinden ayrı olarak belirlenebileceği tespit edilmiştir. Ayrıca tip II kas lifi çeşidinin diğer kas liflerine oranla özellikle MLD kasında daha fazla bulunduğu ve bu kas lifi çeşidinin

MLD kasında daha yüksek bir kas lifi alanına sahip olduğu ancak birim alandaki kas lifi sayısı bakımından kas çeşitleri arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Chang ve ark. (2003), IIA ve IIB kas lifi tiplerinin domuzdaki et kalitesi ile yakından ilişkili olduğunu ve tip IIB'nin daha fazla olduğu kaslarda et kalitesinin daha iyi olduğunu belirtmektedirler. Ayrıca kas lifi tiplerinin sayıları ve bu kas lifi tiplerinin o kastaki toplam alanlarının da et kalitesi ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (Chang ve ark., 2003). Bu bulguların aksine Picard ve ark. (2002)'nin koyunda oksidatif (tip I) kas lifi tiplerinin lezzeti daha iyi destekleyen lipidleri genellikle daha fazla içerdiğinden oksidatif kas lifleri ile lezzet arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada elde edilen kas lifi tiplerine ilişkin verilerin Karayaka ırkı koyunlarının et kalitesi ile ilişkilendirilmesi gerekmektedir. Mevcut çalışmada MLD kas örneklerinde, MSM ve MST kas örneklerindeki göre belirgin bir şekilde daha fazla oranda tip IIB kas liflerinin bulunduğu gözlemlenmiştir. Eğer Karayaka ırkı koyunların et kalitesi gerçekten yüksek ise, mevcut çalışmada elde edilen veriler, et kalitesinin bir göstergesi olarak Picard ve ark. (2002)'nin aksine tip I kas lifleri değil, Chang ve ark. (2003)'ün de belirttiği gibi tip IIB kas liflerinin oranının kullanılabilirliği söylenebilir. Zira her üç kasta da tip IIB kas liflerinin oranı diğer kas lifi tiplerine göre daha yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan birim alandaki kas lifi bakımından kas çeşitleri arasında bir farklılığın olmaması ve MLD kasında kas lifi alanının diğer kas çeşitlerine göre daha yüksek olması Karayaka ırkı koyunların besiye alınmaları durumunda ete lezzet verme ihtimali yüksek olan tip II kas lifi çeşidinin hem sayı ve hem de alan olarak arttığının bir göstergesi olabilir. Nitekim, eti oluşturan kas liflerinin çapının artmasıyla et kalitesinde artış olduğunu bildirilmiştir (Klosowska and Fiedler, 2003). Ayrıca MLD kasının elde edilen bulgulara göre içerdiği kas lifi çeşidi bakımından incelenen diğer kaslardan farklı olduğu söylenebilir.

Sonuç

Mevcut çalışma ile ilk defa, yerli ırklarımızdan Karayaka ırkı koyunların kas lifi tiplerinin ayrılması ATPase boyama tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler tip IIB kas liflerinin incelenen MLD, MSM ve MST kas örneklerinde diğer kas lifi tiplerine göre daha fazla oranda bulunduğu ve en yüksek oranda da MLD kasında bulunduğunu göstermektedir. Yerli gen kaynaklarımızın

karakterizasyonu ve et kalitesinin belirlenmesine ilişkin olarak yapılacak çalışmalarda kasları oluşturan kas liflerinin metabolik aktivitelerine göre sınıflandırılması önemli bir yer tutabilir. Bu sınıflandırma ve bunların et kalitesi ve besi performansı ile ilişkilendirilmeleri, neden bazı hayvanların besi performansı ve et kalitesi bakımından diğer hayvanlardan daha iyi olduklarının anlaşılmasına da yardımcı olabilir.

Kaynaklar

- Acer, N., Sahin, B., Baş, O., Ertekin, T. ve Usanmaz, M. 2007. Comparison of three methods for the estimation of total intracranial volume: stereological, planimetric and anthropometric approaches. *Ann. Plast. Surg.* 58: 48-53.
- Anonim, 2003. Ulusal gıda ve beslenme stratejisi çalışma grubu raporu. DPT, Ankara.
- Anonim, 2007. Karayaka koyunu. <http://www.veteriner.cc/koyun/karayaka.asp>. (2007)
- Chang, K. C. da Costa, Blackley, R., Southwood, O., Evans, G., Plastow, G., Wood, J. D. and Richardson, R. I. 2003. Relationship of myosin heavy chain fiber types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Sci.* 64: 93-103.
- Fahey, A. J., Brameld, J. M., Parr, T. and Buttery, P. J., 2005. The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *J. Anim. Sci.* 83: 2564-2571.
- Foxcroft, G., R. and Town, S., C. 2004. Prenatal programming of postnatal performance-the unseen cause of variance. *Adv. Pork. Prod.* 15: 269-279.
- Günsen, U., Aydın, A., Ovalı, B. Ve Coskun, Y. 2006. Çiğ et ve ısıtılmış et ürünlerinde elisa tekniği ile farklı et türlerinin tespiti. *İstanbul Vet. Fak. Derg.* 32: 1-12.
- Karlsson, A. H., Klont, E. R. and Fernandez, X. 1999. Skeletal muscle fiber as pork quality. *Livest. Prod. Sci.* 60: 255-269.
- Klosowska, D. and Fiedler, L. 2003. Muscle fiber types in pigs of different genotypes in relation to meat quality. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 21: 49-60.
- Lefaucheur, L. 2001. Myofibre typing and relationship with pig meat production. *Slov. Vet. Res.* 38: 5-28.
- Picard, B., Lefaucheur, L., Berri, C. and Duclos, M. 2002. Muscle fiber ontogenesis in farm animal species. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 415-431.