

ERINACEUS CONCOLOR (MARTIN, 1838) (MAMMALIA: INSECTIVORA) TÜRÜNÜN SDS-PAGE İLE KAN SERUM PROTEİNLERİNİN ANALİZİ

Nursel Aşan, Damla Ateş*

Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
71451 Yahşihan, KIRIKKALE

Özet

Bu çalışma 2008 ve 2009 yılları arasında Kırıkkale ili ve ilçelerinden alınan iki yavru ve 8 ergin olmak üzere toplam 10 *Erinaceus concolor* örneğinin kan serum proteinlerinin SDS-PAGE ile analizine dayanmaktadır. Ayrıca bu çalışmada *Erinaceus concolor*'un besini ile ilgili verilerde kaydedilmiştir. SDS-PAGE analizi sonucu erkek ve dişi bireylerin globulin and albumin protein bantlarında farklılık bulunmamıştır. İncelenen tüm örneklerde globulin bölgesinde 8, postalbumin bölgesinde bir, albumin bölgesinde bir, prealbumin bölgesinde ise iki bant bulunmaktadır. Kırıkkale ilinde yayılış gösteren *Erinaceus concolor*'un besinini solucan ve diğer omurgasızlar dışında salatalık, üzüm, dut ve fındık oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler : *Erinaceus concolor*, SDS-PAGE, Kırıkkale, Türkiye

BLOOD-SERUM PROTEIN ANALYSIS OF ERINACEUS CONCOLOR (MARTIN, 1838) (MAMMALIA: INSECTIVORA) BY SDS-PAGE

Abstract

This study is based on the SDS-PAGE analysis of blood serum proteins of two juvenile and 8 adult, a total of 10, *Erinaceus concolor* specimens from Kırıkkale province and its districts between the years 2008 and 2009. In addition, in this study diet of *Erinaceus concolor* was recorded. No difference was found in the bands of globulin and albumin proteins of male and female specimens. 8 bands in the globulin region, one band in the postalbumin zone, one band in the albumin region, and two bands in the prealbumin zone were found. The diet of *Erinaceus concolor* consisted of cucumber, grape, mulberry and hazelnut in addition to worm like invertebrates.

Key words: *Erinaceus concolor*, SDS-PAGE, Kırıkkale, Türkiye

* E-posta: damla_ates@hotmail.com

1. Giriş

Avrasya'nın ve Afrika kıtasının ılıman ve tropik alanlarında yayılış gösteren Erinaceidae familyası Erinaceinae (kirpi) ve Güneydoğu Asya' da yayılış gösteren *Hylomys parvus* türünün de bulunduğu Galericinae altfamilyalarını içermektedir [1]. *Erinaceus* cinsi Palearktik Bölge'de *Erinaceus amurensis* Schrenk 1859, *Erinaceus concolor* Martin 1838, *Erinaceus europaeus* Linnaeus 1758, *Erinaceus roumanicus* Barret-Hamilton 1900 olmak üzere 4 türle temsil edilmektedir [2]. Ellerman ve Morrison-Scott [3] *E. amurensis*, *E. concolor* ve *E. europaeus* türlerinin konspesifik olduğunu düşünmüştür. *E. concolor* ve *E. europaeus* kürk rengi, kafatası bakımından farklılık göstermektedir. Buna karşılık her iki türün diploid kromozom sayıları $2n=48$ 'dir [4]. Türkiye'de *Erinaceus concolor* Martin 1838 yayılış göstermektedir. Bu tür, *E. c. concolor*, *E. c. transcaucasicus* ve *E. c. drozdovskii* olmak üzere 3 alttür ile temsil edilmektedir [2].

Elektroforetik teknikler albumin ve globulin gibi serumdaki esas grupların ayrılmasını sağlamaktadır [5].

Bu araştırmanın amacı *Erinaceus concolor* türünün kan serum proteinlerini incelemek suretiyle eşeyler ve populasyonlar arasında farklılık olup olmadığını tespit etmektir.

*Bu çalışma Damla ATEŞ'in yüksek lisans tezinin bir kısmıdır.

2.Yöntem

Bu araştırma 2008-2009 yıllarında Kırıkkale ilinin Keskin, Bahşılı, Delice, Yahşihan ve Merkez ilçe ve kasabalarından uygun habitatlar seçilerek alınan 4 erkek 6 dişi *Erinaceus concolor* örneğinin kan plazma proteinlerinin SDS-PAGE tekniği ile protein bandlarının çıkarılmasına dayanmaktadır. Bu örneklerin 3 tanesi yavru (KKU 019 ♂, KKU 022 ♀, KKU 023 ♂) ve geriye kalan 7 tanesi ise ergindir (Şekil 1).



Şekil 1. Kırıkkale merkezden alınan dişi bir *Erinaceus concolor*

Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nden alınan etik kurul izni ile canlı olarak laboratuara getirilen hayvanlar kısa bir süre plastik kutuların içinde çeşitli bitkisel besinlerle beslenmiştir. Örneklerin yaş ve eşey tayini yapılmıştır. SDS-PAGE analizi Laemmli [6]'ye göre yapılmıştır. Eter ile anestezi yapılan örneğin kalbinden EDTA'lı tüplere 2-4 ml kan alınmış ve $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Kanın pıhtılaşmasından sonra serum 12000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Serum 0.0625 M Tris Cl, pH 6.8, 2 % SDS, 10 % Glycerol, 5 % 2-Mercaptoethanol ve 0.01 % bromphenol blue'dan oluşan tampon çözeltisi ile karıştırılmıştır. Örnekler 3-3.5 dakika kaynatılmış ve elektroforez yapılana kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Örnekler 15-20 μl olacak şekilde kuyucuklara konulmuştur. Separating (7.5 %) and stacking (4 %) jeller Sambrook et al. [7]'ye göre hazırlanmıştır. SIGMA Protein Molecular Weight Marker (MW-SDS-200) kullanılmıştır. Elektroforez ise MBT80EL model double vertical slab gel elektroforez aleti ile yapılmıştır. Elektroforez sırasında sırasıyla 10 V/cm and 20 V/cm stacking and separating jeller için uygulanmıştır. Jel yaklaşık 4.5 saat koşturulmuş ve daha sonra 0.25 % Coomassie Brilliant Blue R-250 boyası ile boyanmıştır. 45 ml methanol: 10 ml acetic acid: 45 ml dH₂O oranında hazırlanan yıkama solüsyonunda boya aktıldıktan sonra jelin fotoğrafı çekilmiştir. Kan serum proteinleri globulin ve albumin olarak değerlendirilmiştir. Albumin bölgesi prealbumin (PA), albumin (A) and postalbumin (PsA) zonları olarak ayrılmıştır.

Kirpi örnekleri daha sonra alındıkları habitatlara geri bırakılmıştır.

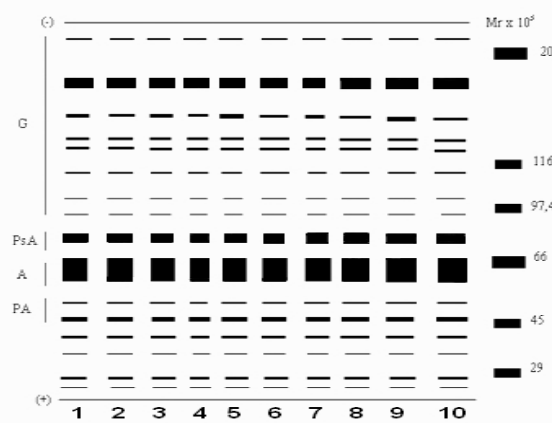
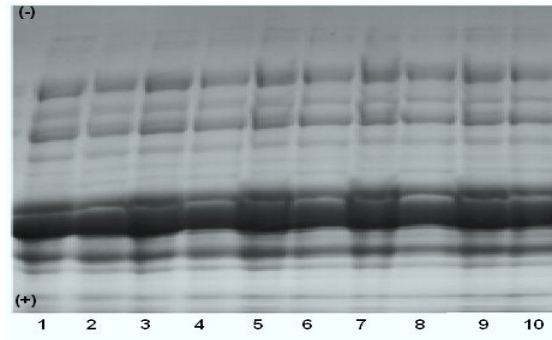
3.Bulgular ve Tartışma

Kirpilerin meyve ve sebze bahçelerinde, meyve ağaçlarının altında daha çok yayılış gösterdiği kaydedilmiştir. Keskin ilçesinden Temmuz ayında dut ağaçları altında bir dişi bir erkek birey yakalanmıştır. Bazen kirpilerin

dökülen dutları yediği tespit edilmiştir. Bu ilçede yerli halk tarafından patates, soğan, ay çekirdeği ve mısır tarlaları arasında da kirpinin görüldüğü belirtilmiş, ancak çalışma sırasında bu türe rastlanmamıştır. Hasandede’de Temmuz ve Eylül ayında üzüm bağlarında ve salata bahçesinde biri erkek biri dişi 2 birey yakalanmıştır.

Yakalanan kirpilerin laboratuarda besin olarak yaz mevsiminde kayısıyı tercih ettikleri görülmüştür. Beslenme sürecinde salatalık, fındık, karpuz yediği ve su içtiği gözlenmiştir. Ayrıca, Hasandede’de bir bağ evinde kedi mamasının da kirpiler tarafından yendiği tespit edilmiştir.

Kırıkkale ili *Erinaceus concolor*’un kan serum proteinlerinin elektforetik görünümünde globulin bölgesinde 8 bant, postalbumin bölgesinde 1 bant, albumin bölgesinde 1 bant, prealbumin bölgesinde önde kalın arkada ince olmak üzere 2 bant tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *Erinaceus concolor*’un kan serum protein bantları (1: K KU017, 2: K KU019, 3: K KU021, 4: K KU023, 5: K KU025, 6: K KU018, 7: K KU020, 8: K KU022, 9: K KU024, 10: K KU026) (G: Globulin, PsA: Postalbumin, A: Albumin, PA: Prealbumin)

Bu çalışma ile *Erinaceus concolor*’un Kırıkkale ilinde dut ağaçlarının altında, step alanlarda, meyve ve sebze bahçelerinde yayılış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular Doğramacı ve ark. [2] tarafından *Erinaceus concolor transcaucasicus* habitatu için verilen kayıtlar ile uyum göstermektedir.

Insectivora takımının kan serum proteinlerinin elektforetik yönden incelenmesi ise ilk defa bu çalışma ile gerçekleşmiştir. Türkiye’de bugüne kadar sadece kemirici takımından *Apodemus sp* [8, 9, 10], *Mesocricetus sp* [11], *Rattus sp* [12] ve *Meriones* [13] türlerinin elektforetik yönden incelenmesi yapılmıştır. *Apodemus mystacinus* ve *A. agrarius* albumin ve globulin proteinleri için farklı elektforetik bantlar gösterirken, *Apodemus* türlerinin SDS-PAGE ile incelenen kan serum proteinlerine göre Karadeniz bölgesinde iki popülasyonun yaşadığı tespit edilmiştir. Ayrıca *A. hermonensis* ve *A. flavicollis* türleri de globulin ve postalbumin bantları bakımından birbirlerinden farklılık göstermektedir. Buna karşılık araştırmacılar *Mesocricetus brandti* ve *M. auratus* türleri ile *Meriones* cinsine ait incelenen 4 türün globulin ve albumin protein bantlarında herhangi bir farklılık bulmamışlardır. *Rattus rattus* ve *R. norvegicus* türlerinin kan serum protein bantları ise birbirinden farklılık

göstermiştir ve araştırmacılar kan serum proteinlerinin her iki türü birbirinden ayırmada ayırıcı bir özellik olduğunu ifade etmişlerdir.

4.Sonuç

Sonuç olarak, bu çalışma ile *Erinaceus concolor*'un eşeyler ve populasyonlar arasında kan serum protein bantlarının birbirinden farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Kaynaklar

- [1] Symond, R. E. M. Phylogeny and Life of The 'Insectivora': Controversies and Consequences., Biol. Rev. Vol.80, pp. 93-128, (2005).
- [2] S. Doğramacı, İ. Gündüz Türkiye *Erinaceus concolor* (Mammalia: Insectivora) Türünün Taksonomisi ve Yayılışı, Doğa-Tr. J. of Zoology, 17: 267-288, (1993).
- [3] J.R Ellermann,. Morrison-Scott, T.C.S. Checklist of Palearctic and Indian Mammals 1758-1946. British Museum (National History), London, pp. 1-810, (1951).
- [4] G.B. Corbet, The family Erinaceidae: a synthesis of its taxonomy, phylogeny, ecology and zoogeography. Mammal Rev. 18 (3): 117-172, (1988).
- [5] F.W. Sunderman, F.W.J. Sunderman. Serum proteins and the Dysproteinemias. J.P. Lipincott Company, Philadelphia, pp. 1-180, (1964).
- [6] U. K. Laemmli, Biorad Instruction Manual for Mini-Protean II., Nature, 227: 680, (1970).
- [7] J. Sambrook, EF. Fritsch, T. Maniatis Molecular cloning. A laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, pp. 1-545, (1989).
- [8] R. Çolak, E.Çolak, N.Yiğit, M. Sözen, Ş. Özkurt, Electrophoretic Aspects of Blood-Serum Proteins of *Apodemus mystacinus* and *Apodemus agrarius* (Mammalia: Rodentia) in Turkey, Turk J. Zool., 24: 225-230, (2000).
- [9] R.Çolak,, E. Çolak, N. Yiğit, Sözen, M., Özkurt, Ş Blood Serum Proteins of *Apodemus flavicollis* and *Apodemus hermonensis* (Mammalia: Rodentia) in Turkey, Turk J. Biol., 25: 89-92, (2001).
- [10] Çolak, R. Electrophoretic Aspects of Blood Serum Proteins of the Genus *Apodemus* in the Black Sea Region. Turk J. Biol., 26: 125-131 (2002).
- [11] R. Çolak, N. Yiğit, E. Çolak, M. Sözen, Ş. Özkurt, Blood Serum Proteins of the Genus *Mesocricetus* Nehring, 1898 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Turk J. Biol. 24: 855-858, (2000).
- [12] N. Yiğit, R. Çolak, E. Çolak, M. Sözen, Ş Özkurt, Blood-Serum Proteins of *Rattus rattus* and *Rattus norvegicus* (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Turk. J. Biol., 25: 83-88, (2001).
- [13] R.Çolak, N.,Yiğit, E.Çolak, Gatterman, R., Neumann, K. SDS-PAGE Patterns of Blood Serum Proteins in some Species of the Genus *Meriones* (Mammalia: Rodentia). Turk. J. Zool., 26: 177-181, (2002).