

## TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN ARAP ATLARINDA TRANSFERRİN SİSTEMİ POLİMORFİZMİ

Metehan Uzun<sup>1</sup>

Fikret Çelebi<sup>1</sup>

Cahit Bağcı<sup>2</sup>

Ahmet Kopar<sup>3</sup>

### Transferrin Polymorphism of Arabian Horses in Turkey

**Summary:** In this study, the polymorphism of Transferrin (Tf) systems were investigated in 1315 Arabian horses blood samples to determine the parentage control. Using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), fifteen phenotypes controlled by five codominant allele were determined in Tf systems. Allel frequencies were as follow;  $Tf_2=0.431$ ,  $Tf_{H_2}=0.211$ ,  $Tf_D=0.183$ ,  $Tf_O=0.165$  and  $Tf_{F_1}=0.010$ . Homozygotes  $F_2F_2$  phenotype has maximum frequency (% 18.71) and  $F_1F_1$  and  $F_1O$  have minimum frequency (% 0.15) these are three of the fifteen phenotypes determined; DD,  $DF_1$ ,  $DF_2$ ,  $DH_2$ , DO,  $F_1F_1$ ,  $F_1F_2$ ,  $F_1H_2$ ,  $F_1O$ ,  $F_2F_2$ ,  $F_2H_2$ ,  $F_2O$ ,  $H_2H_2$ ,  $H_2O$  and OO. The findings in this study suggest that Hardy-Weinberg balance was observed in this population ( $p > 0.01$ ).

**Key words:** Transferrin polymorphism, Arabian horses.

**Özet:** Bu çalışmada, rutin anne-baba kontrolü ve pedigrî kayıtları için kanları gönderilen toplam 1315 yeni doğmuş Arap tayı ve bunların anne-babalarına ait kan örneklerinde Tf sistemi polimorfizmi incelenmiştir. Yapılan poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile; Tf sisteminde 5 tane kodominant allel tarafından kontrol edilen 15 fenotip tespit edilmiştir. Populasyonda gen frekansları;  $F_2$  için 0.431,  $H_2$  için 0.211, D için 0.183, O için 0.165 ve  $F_1$  için 0.010 olarak belirlenmiştir. Bu alleller tarafından kontrol edilen ve DD,  $DF_1$ ,  $DF_2$ ,  $DH_2$ , DO,  $F_1F_1$ ,  $F_1F_2$ ,  $F_1H_2$ ,  $F_1O$ ,  $F_2F_2$ ,  $F_2H_2$ ,  $F_2O$ ,  $H_2H_2$ ,  $H_2O$  ve OO olarak belirlenen 15 ayrı fenotipten  $F_2F_2$  % 18.71 ile en yüksek,  $F_1F_1$  ve  $F_1O$  % 0.15 ile en düşük görülme yüzdesi ile belirlenmiştir. Tf sistemi yönünden populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu gözlemlenmiştir ( $p > 0.01$ ).

**Anahtar kelimeler:** Transferrin, polimorfizm, Arap atları

### Giriş

Atlarda transferrin (Tf) sistemi genetik olarak kontrol edilen polimorfik sistemlerden birisidir ve anne-baba testlerinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu sisteme ait polimorfizmi ayrıntılı bir şekilde ilk olarak Braend ve Stormont (1964) ortaya koymuşlardır. Bu iki araştırmacı atlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında;  $Tf_D$ ,  $Tf_F$ ,  $Tf_H$ ,  $Tf_M$ ,  $Tf_O$  ve  $Tf_R$  olmak üzere 6 kodominant otozomal allel tarafından kontrol edilen 16 farklı transferrin fenotipi tespit etmişlerdir. Gahne (1966), DD,  $F_1F_1$ ,  $F_2F_2$ , OO,  $DF_1$ ,  $DF_2$ , DH, DO, DR,  $F_1F_2$ ,  $F_1H$ ,  $F_1O$ ,  $F_2H$ ,  $F_2O$ ,  $F_2R$  ve HO olmak üzere yine 16 fenotip ve bu fenotipleri kontrol eden 6 allel (D,  $F_1$ ,  $F_2$ , O, R ve H) belirlediğini bildirmektedir. Kirkpatrick ve

Gilluly (1988), *Equus caballus*' ta Tf sisteminin 9 allel ile (D,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $H_1$ ,  $H_2$ , J, M, O, R) çok yüksek bir polimorfizm gösterdiği, bunun yanında bazı araştırmalarda ortaya konulmasına rağmen varlığı tam olarak ispatlanamamış en az 5 allelinin ( $D_2$ ,  $D_3$ ,  $F_3$ , G, X) daha bulunduğunu da belirtmektedirler. Cothran ve ark. (1991) ise Tf sisteminde  $F_3$  allelini belirlemişlerdir. Uluslararası Kan Grupları ve Genetik Araştırma Derneği ise atlarda Tf sistemi için D,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $H_1$ ,  $H_2$ , J, M, O ve R olarak kesin şekilde belirlenmiş 10 allelin varlığını kabul etmiş,  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ , E ve G allellerini ise henüz tam olarak ortaya konulamamış 5 allel olarak tanımlamıştır (ISAG, 1992).

Tf sistemi atların dışında hemen bütün memeli hayvan türlerinde de polimorfizm gösterir. Brezilya bufalolarında, A, D ve E olmak üzere 3 allel göz-

Geliş tarihi : 20.06.1999.

1.Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Bilim Dalı, KARS.

2.Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, GAZİANTEP.

3.Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Hayvancılık Araştırma Enstitüsü, Kan Grupları ve Genetik Laboratuvarı, Etlik, ANKARA.

lemişken (Schenider ve ark., 1990), Amerika'daki keçilerde A ve B olarak isimlendirilen 2 kodominant allelin varlığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 1990). Maymunlarda atlardakine benzer şekilde oldukça fazla sayıda fenotip tespit edilmiştir. Brown ve ark. (1970), maymunlar için; A, C, D, D<sub>1</sub>, F, F<sub>1</sub>, G ve H<sub>1</sub> olmak üzere 8 Tf alleli tespit etmişler ve bunlara ait 16 fenotipin varlığını belirlemişlerdir.

Bu makalede safkan at ırkları için yapılan anne-baba testlerinde en çok yararlanılan genetik işaretleyicilerden bir tanesi olan Tf sistemi yönünden, Türkiye'deki Safkan Arap atı populasyonu incelenmiş ve bu sistemin populasyon içindeki genetik polimorfizmi ortaya konulmaya çalışılmıştır.

### Materyal ve Metot

**Materyal:** Araştırmada, 1995 - 1998 yılları arasında doğmuş ve anne-baba testleri ve pedigrî kayıtları için Tarım Bakanlığı Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Kan Grupları ve Genetik Laboratuvarına gönderilen Arap atı tayları ve ebeveynlerine ait 1315 kan örneği kullanılmıştır.

**Metot:** Gönderilen kan örneklerinin önce plazmaları ayrılmış ve elektroforez işlemi yapıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Tf fenotipleri alkali poliakrilamid jel elektroforez yöntemi (PAGE) ile belirlenmiştir. Elektroforez işlemi için gerekli olan çözeltiler Tablo 1'deki gibi hazırlanmış ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Bu çözeltiler Tablo 2'de verilen miktarlarda karıştırılarak aynı plaka üzerinde sırası ile %10, %4 ve

%8 akrilamid içeren bir jel elde edilmiştir.

Elektroforez işlemi 1000 voltta yaklaşık 3.5-4 saatte gerçekleştirilmiş ve Tf fenotiplerinin boyanması için Amido siyahı kullanılmıştır.

**İstatistiki Testler:** Gen frekanslarının hesaplanmasında direkt sayım yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde göre aşağıdaki formülden de anlaşılacağı üzere; ilgili gen frekansı, bu geni taşıyan homozigot fenotip sayısının iki katı ile yine bu geni taşıyan heterozigot fenotip sayılarının toplanıp toplam birey sayısının iki katına bölünmesi ile elde edilmiştir (Düzgüneş, 1993).

$$p = \frac{(2 \times \text{homozigot fenotip sayısı}) + \text{heterozigot fenotip sayısı}}{2N}$$

p= ilgili allelin gen frekansı

N= Toplam fenotip sayısı

Her bir fenotipin beklenen frekanslarını hesaplamak için; fenotip homozigot ise, gen frekansının karesi alınıp toplam fert sayısı ile çarpılmıştır. Fenotip heterozigot ise, heterozigot allellerin gen frekanslarının çarpımı ile elde edilen sonucun iki katı alınıp toplam fenotip sayısı ile çarpılmıştır (Düzgüneş, 1993)

X<sup>2</sup> gözeneklerinde 5.0'dan daha düşük bir değer bulunması durumunda G istatistiği yönteminin daha sağlıklı sonuç verdiği bildirilmektedir (Nei, 1987, Sokal and Rohlf, 1995). Bu nedenle populasyonun genetik dengede olup olmadığının tespiti G istatistiği kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 1. Elektroforez işleminde kullanılan çözeltiler

Çözelti A		Çözelti B		Çözelti C		Tampon Çözeltisi (pH 8.5)	
Bileşimi	Miktarı	Bileşimi	Miktarı	Bileşimi	Miktarı	Bileşimi	Miktarı
Akrilamid	12 g	Tris	18.16 g	APS	0.05 g	Tris	16 g
Bis	0.3 g	Sitrik asit	4 g	Distile su	25 ml	Borik asit	4 g
Distile su	25.5 ml	Distile su	200 ml			Distile su	2 lt

Tablo 2. Farklı yoğunluklarda poliakrilamid jel elde edilmesi

% yoğunluk	Çözelti A (ml)	Çözelti B (ml)	Çözelti C (ml)	Distile su (ml)
10	16	12.5	21.5	9
4	2	2	2	8
8	2	1	1	3

## Bulgular

Bu araştırmada anne-baba testleri amacı ile kanları alınan 1315 Arap atı tayı ve ebeveynlerinde Tf sistemi polimorfizmi incelenmiştir. Yapılan poliakrilamid jel elektroforezinde, Arap atlarında Tf sistemine ait 15 farklı fenotip tespit edilmiştir (Şekil 1). Bu fenotiplerin D, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> ve O olmak üzere 5 kodominant allel tarafından kontrol edildiği anlaşılmıştır. Allellerin gen frekansları; F<sub>2</sub> için 0.431, H<sub>2</sub> için 0.211, D için 0.183, O için 0.165 ve F<sub>1</sub> için 0.010 olarak belirlenmiştir. Gözlemlenen 15 ayrı fenotipten (DD, F<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, OO, H<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, DF<sub>1</sub>, DF<sub>2</sub>, DH<sub>2</sub>, DO, F<sub>1</sub>F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>H<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>O, F<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>O, ve H<sub>2</sub>O), F<sub>2</sub>F<sub>2</sub>'nin % 18.71 ile en yüksek, F<sub>1</sub>F<sub>1</sub> ve F<sub>1</sub>O'nun % 0.15 ile en düşük görülme yüzdelerine sahip olduğu anlaşılmıştır (Tablo 3). Populasyonun bu sistem yönünden Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

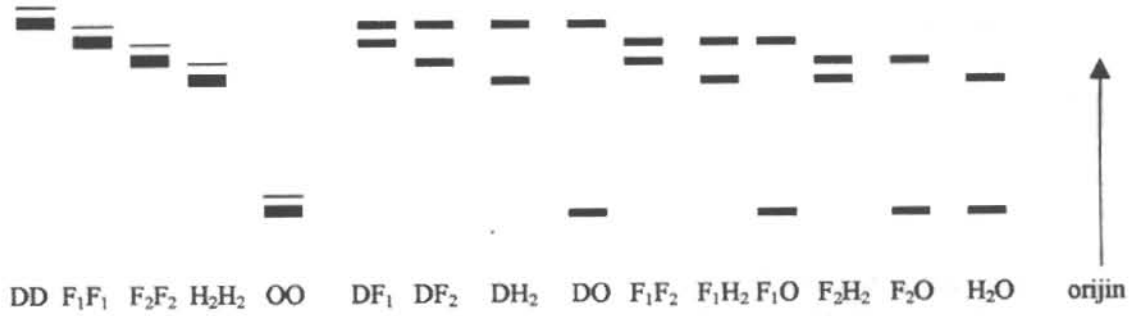
## Tartışma ve Sonuç

Arap atı tayları ve anne-babalarında dört yıl boyunca yapılan elektroforez işlemlerinde, Tf sistemine ait 15 ayrı fenotip tespit edilmiştir. Bu fenotipler; DD, F<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, OO, H<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, DF<sub>1</sub>, DF<sub>2</sub>, DH<sub>2</sub>, DO, F<sub>1</sub>F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>H<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>O, F<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>O, ve H<sub>2</sub>O olarak tanımlanmıştır. Bunlardan, F<sub>2</sub>F<sub>2</sub> % 18.71 ve F<sub>2</sub>H<sub>2</sub> % 18.48 olarak en yüksek görülme yüzdesine sahiptirler. İki fenotip, DF<sub>2</sub> ( % 16.20) ve F<sub>2</sub>O ( % 13.36)'da yine oldukça yüksek görülme yüzdesi göstermektedirler. Beş fenotipin; DF<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>H<sub>2</sub> ve F<sub>1</sub>O'nun % 1'in altında bir görülme yüzdesine (sırası ile; 0.60, 0.15, 0.46, 0.45 ve 0.15) sahip olduğu anlaşılmıştır. Geriye kalan diğer fenotipler DD, OO, H<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, DH<sub>2</sub>, DO % 3.20-7.22 aralığında bir frekans göstermişlerdir (Tablo 3).

Kaminski ve Urbanska-Nicolas (1980), Fransa'daki Arap atlarını kökenlerine göre Fransa, İberik ve Polonya Arap atı populasyonu olarak üç gruba ayırmış ve çeşitli genetik işaretleyiciler yönünden in-

Tablo 3. Tf sistemi allel frekansları, fenotiplerin görülme yüzdeleri ile gözlenen ve beklenen değerler,

Allel	Gen Frekansı (X±Sx)	Fenotip	Görülme oranı (%)	Gözlenen (n)	Beklenen
D	0.183 0.007	DD	3.43	45	44.05
		DF <sub>1</sub>	0.60	8	4.81
		DF <sub>2</sub>	16.20	213	207.41
		DH <sub>2</sub>	7.22	95	101.51
		DO	5.70	75	79.42
F <sub>1</sub>	0.010 0.002	F <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	0.15	2	0.14
		F <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	0.46	6	11.34
		F <sub>1</sub> H <sub>2</sub>	0.45	6	5.55
		F <sub>1</sub> O	0.15	2	4.34
F <sub>2</sub>	0.431 0.009	F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	18.71	246	244.28
		F <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	18.48	243	239.18
		F <sub>2</sub> O	13.76	181	187.04
H <sub>2</sub>	0.211 0.007	H <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	4.64	61	58.55
		H <sub>2</sub> O	6.85	90	91.57
O	0.165 0.02	OO	3.20	42	35.81
Toplam	1.00	Toplam	100	1315	1315



Şekil 1. PAGE'de Tf fenotiplerinin şematik görünümü.

celemişlerdir. Tf sisteminde her üç popülasyonda da DD, FF, OO, HH, DF, DH, DO, FH, FO ve HO olmak üzere 10 fenotip belirlenmiştir. R allelinin Arap atlarında bulunmadığı bildirimlerine uygun olarak söz konusu araştırmacılar da bu gene rastlamamışlardır. Dört yıl boyunca ülkemiz safkan Arap atları için yapılan testlerde de R alleleline rastlanmamıştır. Kaminski ve Urbanska-Nicolas (1980) ayrıca F allelini  $F_1$  ve  $F_2$  şeklinde değil sadece F olarak belirleyebilmişlerdir. Oysa bu çalışmada, ülkemiz Arap atı popülasyonunda çok düşük frekansta da olsa  $F_1$  alleli  $F_2$  alleleline göre daha ileride D alleleline oldukça yakın bir elektroforetik görüntü sergilemiştir (Şekil 1).

Amerika'daki Safkan İngiliz, Safkan Arap, Morgan, Quarter, Paso Fino ve Peruvian Paso atları kan gruplarının yanısıra, kandaki polimorfik protein sistemleri yönünden incelenmiştir. Tf sisteminin PAGE ile belirlendiği bu çalışmada, Arap atlarında; D 0.290,  $F_2$  0.455, H 0,135 ve O geni ise 0.120 gen frekansı göstermiştir.  $F_1$ ,  $F_3$ , G,  $H_2$ , J, M ve R genlerine rastlanılmamıştır. Safkan İngiliz atlarında ise D,  $F_2$ ,  $H_1$  ve O genlerinin yanısıra  $F_1$  ve R genleri de tespit edilmiştir (Bowling ve Clark, 1985). Bu sonuçlara göre Tf polimorfizmi açısından ülkemiz Arap atı popülasyonunun Amerika'daki Arap atı popülasyonu ile benzerlik göstermediği anlaşılmaktadır. Ancak, her iki at popülasyonunda da R genine rastlanmaması ve  $F_2$  geninin en yüksek görülme yüzdesine sahip olması ortak özellikler olarak göze çarpmaktadır.

Gahne (1966), Arap atlarından köken alan ve İngiliz atı kanı karışmış bir at ırkında Tf için; D, F, H, M, O ve R allellerini gözlemiş, D'yi 0.41 ile

en yüksek frekansta tespit etmiştir, toplam 147 atın incelendiği bu at ırkında, R geni frekansının ise 0.01 ile çok düşük olduğu bildirilmiştir. Bowling (1994) ise, 7 farklı evcilleşmemiş at ırkında Tf sistemine ait A, D, E,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $H_1$ ,  $H_2$ , O ve R allellerini tespit etmiş,  $D_2$ , G, J ve M allellerine ise rastlayamamıştır. Bu ırklardan dördünde  $F_2$ , üçünde ise D allelinin en yüksek gen frekansına sahip olduğu, R allelinin safkan ırkların aksine, bütün feral ırklarda ortaya çıktığı ve yüksek bir görülme yüzdesi gösterdiği bildirilmektedir (Bowling, 1994).

Görüldüğü üzere dünyada yetiştirilen hem safkan hem de diğer at ırkları Tf sistemi yönünden çok farklı polimorfik bir yapı göstermektedir. Bu araştırmada incelenen ülkemiz Arap atı popülasyonun gerek gözlenen fenotip sayısı ve frekansları ve gerekse allel frekansları yönünden elde edilen değerlere bakıldığında dünyadaki diğer at ırkları ile benzerlikler göstermesine rağmen, bazı fenotipik değerler yönünden popülasyona has özellikler taşıdığı anlaşılmaktadır. Böylelikle, bu araştırma ile, ülkemiz Arap atlarındaki Tf sistemi genetik polimorfizminin ortaya konulması ile birlikte diğer ırklarla karşılaştırma imkanı doğmuştur. Elde edilen veriler ayrıca popülasyonun genetik özelliklerinin korunması ve geliştirilmesi, safkan özelliklerinin muhafazası amacı ile yapılacak çalışmalara da katkı sağlayacak niteliktedir.

## Kaynaklar

Braend, M. and Stormont, C. (1964). Studies on hemoglobin and transferrin types of horses. Nord. Vet-Med. 16, 31-37.

Bowling, A. T. (1994). Population genetics of great basin feral horses. *Anim. Genet.*, 25, Suppl. 67-74.

Bowling, A. T. and Clark, R. S. (1985). Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 16, 93-108.

Brown, R. V. Goodman, M. and Gavon, J. A. (1970). Glutathione and transferrin in rhesus monkeys. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 1, 189-194.

Cothran, E. G., Henney, P. J. and King, S. A. (1991). Inheritance of the equine transferrin F3 allele. *Anim. Genet.*, 22, 187-190.

Düzgüneş, O., Kesici, T. and Gürbüz, F. (1993) İstatistik Metotları. A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. 2. Baskı, Ankara.

Gahne, B. (1966). Studies on the inheritance of electrophoretic forms of transferrins, albumins, prealbumins and plasma esterases of horses. *Genetics*. 53, 681-694.

ISAG (1992). Horse Blood Typing Nomenclature.

Kaminski, M. and Urbanska-Nicolas, H. (1980). Structure genetique des chevaux Arabes de France: Variants electrophoretiques sanguins. *Revue Med. Vet.* 131,8-9, 613-626.

Kirkpatrick, J. F. and Gilluly, M. S. (1988). Transferrin and hemoglobin polymorphism in feral horses. (*Equus caballus*) *Northwest Science*. 62,1, 21-27.

Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.

Schenider, H., Schnider, M. P., DaSilva, B. T. F. and Salzano, F.M. (1990). Transferrin and albumine polymorphism in buffaloes from Brasil. *Anim. Genet.*, 21, 335-337.

Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1995). *The Principles and practise of Statistic in Biological Research*. Third ed. W. H. Freeman and Company, New York.

Wang, S., Frote, W. C. and Bunch, T. D. (1990). Transferrin and haemoglobin polymorphism in domesticated goats in the USA. *Anim. Genet.*, 21,91-94.