

AKKARAMAN X ETÇİ ALMAN KARABAŞ MELEZİ (F1) KOYUNLARDA HEMOGLOBİN (Hb) VE TRANSFERRİN (Tf) TİPLERİ

Cahit Bağcı*

Nesrin Sulu**

Bahri Emre**

The types of haemoglobin and transferrin in Akkaraman X German Black Headed Mutton crosses.

Summary: *In this study, haemoglobin and transferrin types were determined in 56 Akkaraman X German Black Headed Mutton cross (F1) sheep reared at the Lalahan Livestock Research Institute with the aim of increasing the production of the widespread Akkaraman breed and the development of a breed of sheep suited to the Turkish climate within the framework of the sheep improvement project of Turkey.*

A haemolysate produced by the lysis of 1 : 1 diluted red blood cells was used for haemoglobin typing and serum was used for transferrin typing. Using horizontal starch gel electrophoresis, haemoglobin types were determined; 55 sheep had haemoglobin type HbB and 1 heep had haemoglobin type HbAB. Using alkali polyacrylamide gel electrophoresis, 12 transferrin phenotypes were determined; 4 of these homozygotes (TfAA (1), TfBB (6), TfMM (3), TfDD (3)) and 8 of these heterozygotes (TfAB (7), TfAM (4), TfAD (4), TFAE (1), TfBM (12), TfBD (11), TfBE (1), TfMD (3)). The gen frequencies of transferrin were found to be $A=0.384$, $B=0.161$, $D=0.214$, $M=0.223$ and $E=0.018$.

Özet: *Bu çalışmada Türkiye koyunculunun ıslah projeleri çerçevesinde, yaygın bir ırk olan Akkaraman koyununun et verim kabiliyetinin artırılması ve ülkemiz iklim şartlarına uyumlu bir ırk elde edilmesi amacıyla Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen Akkaraman X Etçi Alman Karabaş melezi (F1) 56 adet koyunda hemoglobin ve transferrin tipleri belirlendi.*

* Arş. Gvl. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

** Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Hemoglobin tipleri için 1:1 oranında sulandırılan alyuvarların parçalanması ile oluşan hemolizat, transferrin tipleri için de serum kullanıldı. Horizontal nişasta jel elektroforezi ile belirlenen hemoglobin tipleri olarak 55 koyunda HbB 1 koyunda HbAB bulundu. Alkali poliakrilamid jel elektroforezi ile tespit edilen transferrin tip olarak da 4'ü homozigot (TfAA (1), TfBB (6), TfMM(3), TfDD(3)), 8'i heterozigot (TfAB (7), TfAM(4), TfAD (4), TfAE(1), TfBM(12), TfBD(11), TfBE(1), TfMD (3)) olmak üzere toplam 12 fenotip saptandı. Transferrine ait gen frekansları $A = 0.381$, $B = 0.161$, $D = 0.214$, $M = 0.223$ ve $E = 0.018$ şeklinde bulundu.

Giriş

Dünya nüfusunun çoğalmakta olması üretimin de her alanda artırılmasını gerekli kılmaktadır. Bugün bu amaçla hayvancılık alanında birçok araştırmalar yapılmakta, genellikle çevre ve iklim şartlarına uyabilen genetik niteliklere sahip ırklar elde etme yoluna gidilmektedir. Kan grupları ve biyokimyasal polimorfizmin uygulama alanına girmesi bu konuda daha nitelikli çalışmalar yapılmasına olanak vermektedir. Kan serum proteinlerinin analizi, enzimlerin çeşitli molekülleri ve biyokimyasal polimorfizmi hakkında yayınlar yoğun biçimde sürdürülmekte ve yeni elektroforez teknikleri geliştirilmektedir.

Koyunculukta da bu amaçlar doğrultusunda birçok araştırmalar yapılmış ve yapılmaktadır. Polimorf karakterlerinin çevre ve iklim şartlarına uyum (8), döl verimi (9, 10) ve bazı hastalıklara direnç (3) ile ilişkili olduğu şeklinde bildirimlere rastlanılmaktadır. Türlerin iyileştirilmesinde bu ilişkinin bilinmesi istenilen özellikler doğrultusunda seçim yapılması için gereklidir. Bu nedenle ülkemiz hayvanlarının polimorfik yapılarının incelenerek genetik parametrelerinin ortaya konulması gerekmektedir.

Biyokimyasal polimorfizmin önemli iki üyesi hemoglobin ve transferrindir. Hem ve Globinden kurulu bir kromoprotein olan hemoglobinin globin kısmı 2 alfa ve 2 nonalfa (β . γ) zincir içerir (15). Globulindeki bu farklılıktan dolayı hemoglobin yapısı polimorfik karakter gösterir. Koyunlarda pH 8-9 dolaylarında elektroforezde, hemoglobin A, B ve bunların heterozigotları olan hemoglobin AB tipleri bulunmaktadır (15). HbA anot yönüne doğru HbB'den daha hızlı göç eder. Erken yaşlarda ve fetal dönemdeki kuzularda HbA ve HbB arasında HbF (fetal hemoglobin) bulunur. Yine bunlardan başka anemik koyunlarda HbC'nin bulunduğu, Yugoslavyada HbD tipinin varlığı bildirimleri vardır (14, 16).

Türkiye'de çeşitli ırk koyunlar üzerinde yapılan çalışmalarda HbA, HbB ve HbAB tiplerinin bulunduğu bildirilmektedir (5, 13, 17, 18).

Beta globulin adı da verilen demir taşıyıcısı olmasından dolayı daha çok transferrin olarak adlandırılan kesim ise yine polimorfik olup, tiplerine göre demir bağlama kapasitesinde değişiklikler göstermektedir. Koyunlarda transferrin polimorfizmini ilk kez Ashton (1) bildirmiştir. Bunu izleyen çalışmalarda transferrin tipleri ile et verimi, süt verimi, döl verimi gibi ilişkiler de incelenmiştir (2, 4, 11, 12).

Elektroforetik alanda koyun transferrin tipleri koyu bir bant ile ondan hızlı seyreden zayıf bir bantla şekillenmektedir. Bu tiplerin en hızlı göç edeni A, diğerleri de B, C gibi hızlarına göre alfabetik sırayla adlandırılmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda bazı ırklara ait transferrin tipleri belirlenmiş bulunmaktadır (5, 12, 17).

Bu araştırma Türkiye hayvancılığının ıslah projeleri çerçevesinde yaygın bir ırk olan Akkaraman koyunu ile Alman Karabaş Etçi koyunu melezlerinde (F1) hemoglobin ve transferrin tiplerinin belirlenmesi düşünceyle ele alınmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen Akkaraman X Alman Karabaş Melezi (F1) koyunlar üzerinde yürütüldü.

Hemoglobin tiplerini saptamak için EDTA'lı tüplere, transferrin tipleri için de antikoagülsüz tüplere 5'er ml kan alındı.

Hemoglobin tiplerinin tayini için, önce alyuvarlar 3 kez serum fizyolojik ile yıkanmış ve daha sonra 1:1 oranında distile su ile hemolize edilerek hemolizat elde edildi. Transferrin tiplerinin tayini için ise antikoagülsüz kan santrifüje edilerek serumu ayrıldı. Hemoglobin tipleri için horizontal nişasta jel elektroforezi (7), transferrin tipleri için ise poliakrilamit jel elektroforezi (6) kullanıldı.

Hemoglobin elektroforezi için tris EDTA tampon solüsyonu kullanıldı. Bu solüsyon: Tris 22 g, Borik asit 1.5 g, EDTA 2 g saf su ile 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlandı. Bu tampon solüsyonundan 25 ml üzerine 75 ml distile su konarak jel solüsyonu oluşturuldu. 100 ml jel solüsyonuna 11 g hidrolize nişasta katılarak jelleşinceye kadar ısı-

tılıp havası alınmış $0.4 \times 10 \times 16$ cm genişliğindeki jel kaplarına dökülerek soğumaya bırakıldı. Soğuyan jeller üzerine, 3 nolu Whatman kağıtlarına emdirilen hemolizat örnekleri tatbik edildikten sonra 300 Volтта 2,5-3 saat göçe tabi tutuldu. Bu süre sonunda ayrılan hemoglobın bantları okunarak değerlendirildi.

Transferrin elektroforezi için kullanılan alkali poliaktilamit jel elektroforezi:

Sol. A	Sol. B	Sol. C
32 g akrilamit	25 ml % 4'lük asetik asit	200 mg amonyum persulfat
0.8 g bis akrilamit	25 ml % 18'lik tris	100 ml distile su
70 ml distile su	150 ml Temed	
	75 ml mercaptoethenol	

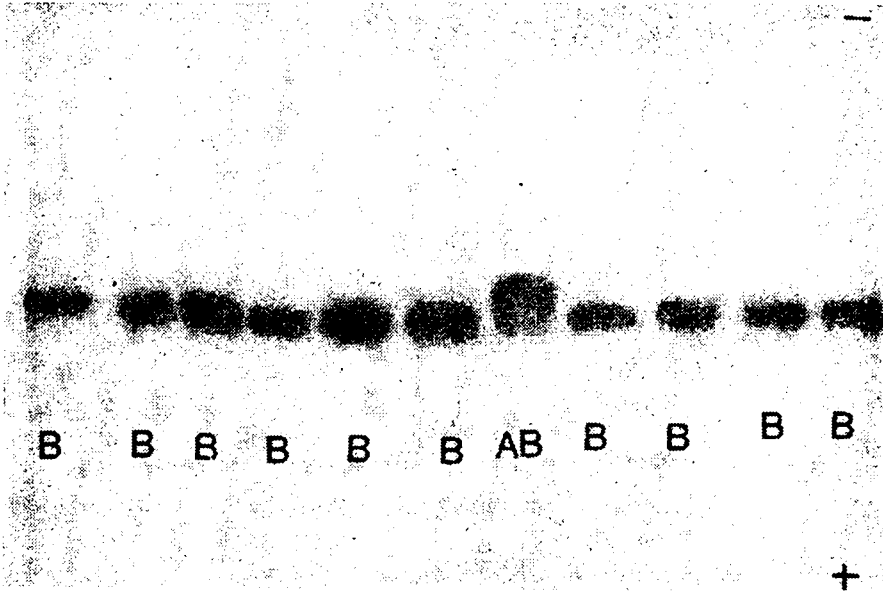
Hazırlanan bu solüsyonlar yardımıyla 29×24 'lük 2 cam plaka arasına % 12'lik (22.4 ml Sol. A. + 7.6 ml H₂O + 15 ml Sol. B + 15 ml Sol. C) 14 cm, % 4'lik 1 ml Sol. A + 1 ml Sol. B + 2 ml Sol. C + 10 µl Temed + 4.1 ml H₂O) ve % 8'lik (3 ml Sol. A + 4.5 ml H₂O + 1.5 ml Sol. B + 3 ml Sol. C + 7.5 µl Temed) olmak üzere 3 kademeli dökülerek jelleşmeye bırakıldı. Daha sonra jelleşen plakalar üzerine Whatman kağıtlarına emdirilen serum numuneleri tatbik edilerek 800 Volтта elektroforez gerçekleştirildi. Amido black ile boyanarak okuma işlemine geçildi.

Bulgular

Araştırmamızda kullanılan 56 Akkaraman X Alman Karabaş koyunu melezine ait hemoglobin tipleri ve transferrin tiplerine ait sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Ayrıca Şekil 1'de hemoglobin tipleri ve Şekil 2'de transferrin elektroforezine ait bantlar gösterilmektedir.

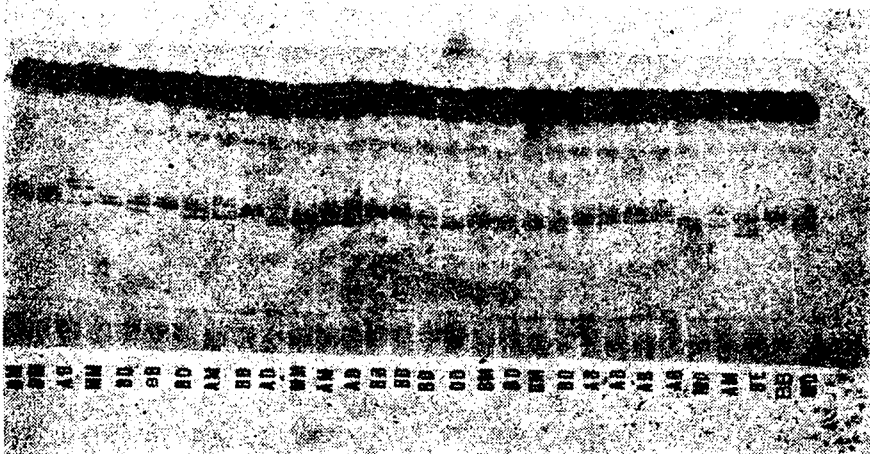
Tablo 1. Akkaraman X Alman Karabaş Melezi koyunlarında Hemoglobin ve Transferrin tipleri.

Hb Tipi	Hay. Say.	Tf tipi	Hay. sayısı	Tf tipi	Hay. sayısı	Gen Frekansları
HbA	—	Tf AA	1	Tf BM	12	A 0.384
HbB	55	Tf AB	7	Tf BD	11	B 0.161
HbAB	1	Tf AM	4	Tf BE	1	D 0.214
		Tf AD	4	Tf MM	3	M 0.223
		Tf AE	1	Tf MD	3	E 0.018
		Tf BB	6	Tf DD	3	



Şekil 1. Akkaraman X Etçi Alman Karabaş Melezi (F1) koyunlarda he-moglobin tipleri.

Fig. 1. The type of haemoglobin in Akkaraman X German Black headed mutton crosses.



Şekil 2. Akkaraman X Etçi Alman Karabaş melezi (F1) koyunlarda transferrin tipleri.

Fig. 2. The type of transferrin in Akkaraman X German Black headed mutton crosses.

Tabloda görüleceği üzere Akkaraman X Etçi Alman Karabaş Melezi koyunların 55 adedinde HbB tipi, 1 tanesinde ise HbA tipi tesbit edilmiştir. Tf tipleri olarak da 4'ü homozigot (TfAA (1), TfBB (6), TfMM(3) ve 8'i heterozigot (TfAB (7), TfAM (4), TfAD (4), TfAE(1), TfBM (12), TfBD (11), TfMD (3) olmak üzere 12 fenotip belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Sonuçlara göre Akkaraman X Etçi Alman Karabaş Melezi koyunlarda hemoglobinin B tipinin yoğun olduğu görülmektedir. Araştırma materyalini sağlıklı koyunlar oluşturduğundan, anemiklerde bulunabildiği kaydedilen (15) HbC ve HbF'ye çalışmamızda rastlanılmamıştır. Doğrul'da (5) yaptığı çalışmada Akkaraman koyunlarda sadece HbB'nin bulunduğunu bildirmektedir. Alman etçi Karabaş koyunlarında da HbB'nin yoğun olduğu, HbA geninin ancak 0.16 frekansta bulunduğu bildirilmektedir (13). Bir numuneden HbA tipli hemoglobinin çıkması da bu genotipin etçi Alman Karabaş koyunundan kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir.

Transferrin tiplerine ait tablo ve şekil 2 incelendiğinde bu koyunlarda 4'ü homozigot TfAA, TfBB, TfDD, TfMM ve 8'i heterozigot TfBM, TfBD, TfAB, TfMD, TfME, TfBE, TfAE ve TfAM olmak üzere toplam 12 genotip saptanmıştır. Tiplendirmeler uluslararası standartlara göre değerlendirilmiş ve en hızlı seyreden banda TfA ve onu takibeden bantlara sırasıyla, TfB, TfM, TfD, TfE olarak adlandırılmıştır (12). Bu çalışmanın sonuçlarına göre TfBM ve TfBD'nin en fazla bulunduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla TfAB, TfBB, TfAD, TfAM, TfMD, TfME, TfBD, TfAE, TfBE ve TfAA şeklinde sıralanmaktadır. TfB, TfM ve TfD alelleri en fazla yoğunlukta bulunmakta TfE alleli ise en az yoğunlukta olup, TfEE'ye rastlanılmamıştır. Bulgularımız Rahman (12) ve Doğrul'un (5) bildirimlerine paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak hemoglobin ve transferrin tiplerinin belirlenmesi, soy testi ve seleksiyon için önemli parametrelerdir. Hemoglobinin tiplerinin fazla çeşitlilik göstermediği dikkate alınarak kayıtlarda transferrinin de değerlendirilmesinin uygulamayı daha güvenli hale getireceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Ashton, G.C. (1958). *Polymorphism in the B globulin of sheep*. Nature, 182, 849.
2. Ashton, G.C. and Mc Dougall, R.L. (1962). *Beta globulin polymorphism in goats*. The Vet. Record, 73, 256.
3. Allonby, L.V., Urguhart, G.M. (1976). *A possible relationship between haemonchosis and haemoglobin polymorphism in merino sheep in Kenya*. Res. in Vet. Sci., 20, 2:212-214.
4. Berg, R.T. and Gall, G.A.I. (1963). *Serum transferrin and productive traits in cattle*. J. Anim. Sci., 22, 815.
5. Doğrul, F. (1985). *Çeşitli koyun ırklarında transferrin ve hemoglobin tiplerinin dağılımı üzerinde araştırma*. Etlik Vet. Mikrobiol. Enst. Derg., 5 (8-9):61-75.
6. Gahne, R., Juneja, K. and Grolmus, J. (1977). *Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle*. Anim. Blood Grps biochem. Genet., 8: 127-137.
7. Geldermann, H. (1970). *An improved method for horizontal starch-gel electrophoresis*. Anim. Blood Grps biochem. Genet., 1:229-234.
8. Evans, J.V. (1966). *Red cell electrolytes and haemoglobin*. Proc. XI th Int. Congr. Soc. Haemat., Sydney, Aust., 1:278-293.
9. Evans, J.V. and Turner, H.N. (1965). *Haemoglobin type and reproductive performance in Australien Merino sheep*. Nature, Lond., 207: 1396-1397.
10. Hanrahan, J.P., Quirke, J.F., Wilkins, N.P. and Cosling, E.M. (1977). *Haemoglobin genotype, reproductive performance and response to PMSG in sheep*. J. Reprod. Fert., 51: 499-501.
11. Meyer, H., Lohse, B., Gronning, M. (1967). *Ein Beitrag Zum Hamoglobin und Blutkalium-Polymorphismus beim Schaf*. Z. Tierzücht-Züchtbiol., 83:340-357.
12. Rahman, M.F. (1974). *Koyunlarda transferrin (B-globulin) tipleri ile et tutma yeteneği arasındaki ilgi üzerinde araştırma*. Doktora tezi, Ankara.

13. Töre, İ.R. (1979). *Koyunlarda biokimyasal polimorfizm 11. Hemoglobin tipleri*. İ.Ü. Vet. Fak. Derg., 5(1): 113-126.
14. Tucker, E.M. (1966). *The life span and other physiological properties of sheep red cell containing type A B or C haemoglobin*. Res. Vet. Sci., 7:368-78.
15. Tucker, E.M. (1971). *Genetic variation in the sheep red blood cell*. Biol. Rev., 46: 341-386.
16. Vaskov, B. and Efmerov, G. (1967). *Fourth Haemoglobin type in sheep*. Nature, Lond., 216: 593-94.
17. Yaman, K., Üstal, K.M. (1983). *Türkiyedeki bazı koyun ırklarında hemoglobin tipleri üzerine araştırmalar*. U.Ü. Vet. Fak. Derg., 2: 79-83.
18. Zeybek, H., Kalkan, A., Ergün, H., Üstal, M. (1982). *Koyunlarda abomosal nematod invazyonları ile hemoglobin tipleri arasında ilişki*. Türkiye Parazit. Derg., 5:66-68.