

Çine Tipi Koyunlarda Hemoglobin ve Transferrin Tipleri

Funda KARGIN, Ayşegül BİLDİK, Kamil SEYREK
Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 19.08.2002

Özet: Bu çalışmada Çine Tipi koyunlarda hemoglobin tipleri nişasta jel, transferrin tipleri ise poliakrilamid jel elektroforez kullanılarak belirlenmiştir. Çine Tipi koyunların 59 adedinde HbB tipi 3 adedinde ise Hb A tipi tespit edilmiştir. Transferrin tipleri olarak da üçü homozigot (Tf AA, Tf MM, Tf DD) ve beşi heterozigot (Tf AM, Tf AD, Tf AE, Tf BD, Tf MD) olmak üzere toplam sekiz fenotip belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Koyun, hemoglobin, transferrin, elektroforez

Haemoglobin and Transferrin Types in Çine Type Sheep

Abstract: Haemoglobin and transferrin types were investigated in Çine type sheep. Separation of transferrin (Tf) and haemoglobin (Hb) types was carried out using horizontal starch-gel and polyacrylamide gel electrophoresis, respectively. Three Hb A and 59 Hb B types, and 5 transferrin alleles (A, B, M, D, E) were isolated from Çine type sheep. Eight Tf phenotypes consisting of 3 homozygote types (Tf AA, Tf MM, Tf DD) and 5 heterozygote types (Tf AM, Tf AD, Tf AE, Tf BD, Tf MD) were detected.

Key Words: Sheep, haemoglobin, transferrin, electrophoresis

Giriş

Hayvan yetiştiriciliğinde önemli gelişmelerden birisi de pratik yetiştiricilik çalışmalarında biyokimyasal araştırmaların da birlikte düşünülmesidir. Bir popülasyonu oluşturan bireylerin genetik, biyokimyasal ve biyofiziksel yöntemler ile araştırılması, o popülasyonun genetik yapısına ilişkin daha ayrıntılı ve kesin bilgilerin elde edilmesine olanak verir (1).

Polimorfizm popülasyonlardaki genetik dengenin bir ürünü olup, söz konusu bir popülasyonda herhangi bir özelliğin 2 ya da daha fazla formunun aynı anda ve sadece tekrarlanan mutasyonlarla açıklanamayan oranlarda bulunmasını ifade eder (2). Biyokimyasal polimorfizm ise, kalıtsal bir durum gösteren biyokimyasal farklılıkların bulunmasıdır ve bu karakterlerin çoğu kanda tespit edilebilmektedir. Bunları alyuvar karakteristikleri, serum karakteristikleri ve globulinler şeklinde sınıflandırmak mümkündür. Alyuvar karakteristikleri içerisinde hemoglobin, x-protein, potasyum ve sodyum miktarı, karbonik anhidraz ve alyuvar antijenleri sayılabilir. Serum karakteristiklerinin bazıları ise şöyle sıralanabilir; transferrin, albümin, prealbümin, esteraz-a, alkalen fosfataz (3,4).

Çiftlik hayvanlarında genetik araştırmalar için kan grupları ve serum karakterlerinin bir avantaj sağladığı ileri sürülmektedir. Biyokimyasal polimorfik kan karakterleri büyük heterojenlik göstermekle beraber çevre faktörlerinden en az düzeyde etkilenmektedir (1,5,6).

Aydın ve yöresinde eskiden varolan yağlı kuyruklu koyunlar yerini zamanla yağsız ince kuyruklu koyunlara bırakmıştır. Yetiştiriciler Kıvırcık ve Sakız gibi genotipleri kullanarak yöreye uygun yağsız kuyruklu tipler oluşturmuşlardır. Bunlardan biri Çine yöresinde oluşturulan Çine Tipi olarak adlandırılacak koyun tipidir (7).

Yerli koyun ırklarının yetiştirildikleri bölgelerde genetik yapının araştırılması Türkiye koyunculunun ıslahı açısından önem taşımaktadır. Bu araştırmada da yöresel Çine Tipi koyunlarının hemoglobin (Hb) ve transferrin (Tf) tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmanın materyalini Adnan Menderes Üniversitesi Grup Yetiştirme Programı çerçevesinde Çine Meslek

Yüksekokulunda oluşturulan koyunculuk ünitesinde bulunan 62 baş Çine Tipi koyun oluşturmuştur. Kan örnekleri V. jugularisten hemoglobin tiplerini saptamak için antikoagülan olarak EDTA içeren tüplere, transferrin tipleri için de antikoagülsüz tüplere alınmıştır.

Hemoglobin tiplerinin analizi için önce kan örnekleri serum fizyolojik ile üç kez yıkanarak saf eritrosit süspansiyonları elde edilmiştir. Bu süspansiyon aynı hacimde distile su ile sulandırılarak eritrositlerin hemolize olması sağlanmış ve elektroforez için hazır duruma getirilmiştir. Transferrin tiplerinin analizi için ise antikoagülsüz kan santrifüje edilerek serumu ayırmıştır. Serum ve hemolizat örnekleri analiz yapılana kadar -20°C 'de saklanmıştır.

Hemoglobin analizleri hemolizatlarda Tris-Borik asit tampon sistemi kullanılarak horizontal nişasta jel elektroforezinde yapılmıştır (8). Aynı tampon çözelti hem jel hem de elektrod tamponu olarak kullanılmıştır. Hemolizatlar 5 x 6 mm'lik filtre kağıtlarına (Whatman No. 3) emdirilerek, jelin katodik kenarından 3 cm uzaklığa açılan örnek gözelerine yerleştirilmiş ve 350 voltta yaklaşık 2.5-3 saat göçe tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda ayrılan hemoglobin bantları boyanmaksızın doğrudan jel üzerinden okunmuştur.

Transferrin tiplerinin ayırımı poliakrilamid jel elektroforezi kullanılarak yapılmıştır (9). Jel akrilamid yoğunluğuna bağlı olarak % 10, % 4, % 8 olmak üzere üç kademede dökülmüştür. Daha sonra jelleşen tabakalara 0,2 x 0,6 cm'lik filtre kağıtlarına emdirilen serum örnekleri % 4'lük kademelerin ortasına gelecek şekilde tatbik edilmiş, uygulamanın başlamasından 10 dakika sonra filtre kağıtları alınarak 800 voltta 4-5 saat elektroforez gerçekleştirilmiştir. Elektroforetik ayırım

yapıldıktan sonra 5 dakika süreyle genel protein boyası olan Amido Black 10B ile boyanan jeller yıkama solüsyonu (5: Metil Alkol; 1: Glasiyel Asetik Asit; 5: Saf Su) ile yıkanarak transferrin tipleri belirlenmiştir.

Gen frekansları üzerinde durulan genle ilgili homozigot fenotip sayısının iki katı ile heterozigot fenotiplerin sayısının toplamının tüm allel genlerin sayısına bölünmesiyle bulunmuştur (10).

Bulgular

Araştırmamızda kullanılan 62 baş Çine Tipi koyuna ait hemoglobin tipleri ve transferrin tiplerine ait sonuçlar Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir. Ayrıca Şekil 1'de hemoglobin tipleri, Şekil 2'de transferrin elektroforezine ait bantlar gösterilmiştir.

Tablo 1'de de görüleceği üzere Çine Tipi koyunların 59 adedinde HbB tipi, 3 adedinde ise HbA tipi tespit edilmiştir. Transferrin tipleri olarak da 3'ü homozigot (Tf AA (3), Tf MM (3), Tf DD (9) ve 5'i heterozigot (Tf AM (3), Tf AD (12), Tf AE (3), Tf BD (3), Tf MD (8)) olmak üzere toplam 8 fenotip belirlenmiştir.

Tartışma

Hemoglobin, oksijeni akciğerlerden alıp dokulara götüren ve oluşan karbondioksiti alarak akciğerlere getiren bir kromoproteindir. Molekül yapısı küresel olup, dört molekül hem (% 4) ile dört polipeptid zincirden oluşan globin (% 96) molekülünden oluşmuştur (11,12).

Koyun hemoglobin polimorfizmi ilk kez 1955 yılında kağıt elektroforezi ile incelenmiştir. Daha sonraları yapılan elektroforetik incelemeler sonucu koyunlarda en

Tablo 1. Hemoglobin ve transferrin fenotiplerinin dağılımı.

Hemoglobin Tipleri ¹	AA	AB	BB							Σ
Sayıları	3	-	59							62
%	0,048	-	0,952							
Transferrin Tipleri ²	AA	AM	AD	AE	BD	MM	MD	DD		
Sayıları	3	3	12	3	3	3	8	9		44
%	0,068	0,068	0,273	0,068	0,068	0,068	0,182	0,205		

¹ Homozigot hemoglobin tipleri % = 100

² Homozigot transferrin tipleri % = 0,340

Heterozigot transferrin tipleri % = 0,660

Tablo 2. Hemoglobin ve transferrin gen frekansları.

	Allel adı	Gen frekansları
Hb	A	0,048
	B	0,952
Tf	A	0,273
	B	0,034
	M	0,193
	D	0,466
	E	0,034

fazla A ve B hemoglobin tipleri bulunmuştur. Bunlar otozomal kodominant (eş baskın) allel genler ile denetlenir ve AA, AB, BB fenotiplerini oluştururlar. Hb A anot yönünde Hb B'den daha hızlı göç eder (13). Yani anoda yakındır. Erken yaşlarda ve fetal dönemdeki kuzularda HbA ve Hb B arasında fetal hemoglobin (HbF) bulunur (14,15). Bunlardan başka koyunlarda HbC ve HbD tipleri de bulunmuş olup HbC anemik hemoglobin olarak bilinmektedir (15-17).

Hemoglobin gen frekanslarının coğrafi dağılımlarını saptamaya yönelik çalışmalar HbA'nın 40°'den daha yüksek enlemlerde yetişen hayvanlarda dominant olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durumun HbA geninin dünyanın sıcak bölgelerinde dezavantaja sahip olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Buna karşın HbB'nin dominant olduğu hayvanlar dünyada daha geniş yayılım alanı bulmuştur. HbA ve HbB gen frekanslarının dağılımı koyun ırklarının yetiştirilmiş oldukları orijinal bölgeler içerisinde de farklılık gösterebilmektedir. Örneğin deniz seviyesine yakın bölgelerdeki koyunlarda HbA geninin

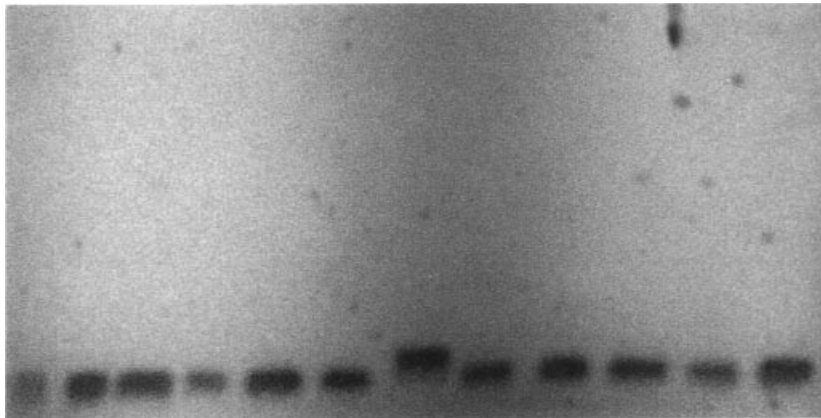
frekansı düşükken dağlık ve yüksek bölgelerde daha yüksek bulunmuştur. Bu durum yüksek bölgelerdeki düşük oksijen basıncına karşı HbA geni taşıyan koyunların daha iyi uyum sağlayabilecekleri yorumu ile açıklanmaktadır. HbB'nin oksijen affinitesi HbA'dan daha azdır ve bu nedenle de HbB'nin oksihemoglobin çözünme eğrisi, Hb A'nın sağında yer alır (12).

Araştırmamızın sonuçlarına göre, Çine Tipi koyunlarda hemoglobin B tipinin yoğun olarak bulunduğu görülmektedir. Araştırma materyalini sağlıklı koyunlar oluşturduğundan HbC ve HbF'ye rastlanmamıştır. Aydın yöresinin deniz seviyesinde bulunması ve oksijen seviyesinin yüksek olmasının da Çine Tipi koyunlarda HbB'nin gen frekansının yüksekliği ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

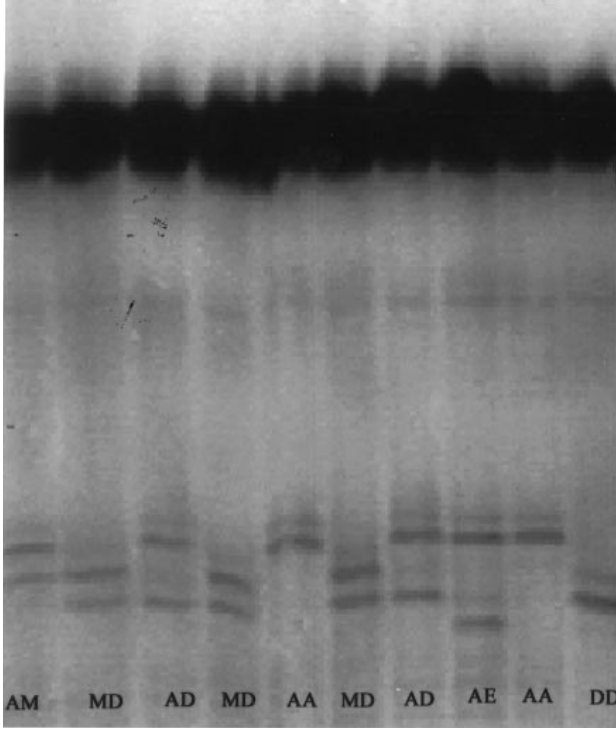
Türkiye'de yerli koyunlarda HbB fenotipi daha yaygın durumdadır. Morkaramanlarda yalnızca HbB, Akkaraman ve Dağlıç ırkında ise çoğunlukla HbB tipi, Doğu Anadolu bölgesinde yetişen Merinos, Karaman, İvesi ve melezlerinde HbAB ve HbB tipleri belirlenmiştir. HbA geni ise genel olarak tüm ırklarda heterozigot HbA/HbB yapıda bulunmaktadır. Bununla beraber Sakız, Ramlıç, İmroz, Orta Anadolu Merinosu ve Karakaya koyun ırklarında düşük oranda HbA/HbA tiplerine rastlanmıştır (18).

Asal ve ark. (1) Akkaraman ve Anadolu Merinoslarında yaptıkları çalışmada her iki koyun ırkında da HbB geni frekansını HbA geni frekansına göre yüksek bulmuşlardır.

Yaman ve Üstdal (11) yaptıkları çalışmalarda Karakaya ve Kıvırcık koyunlarında HbA geni frekansını diğer koyun ırklarına göre daha yüksek bulmuşlardır. Buna karşılık Doğrul (8) Kıvırcık koyunlarında HbB gen



Şekil 1. Çine Tipi koyunlarda hemoglobin tiplerine ait bantlar.



Şekil 2. Çine Tipi koyunlarda transferrin tiplerine ait bantlar.

frekansını yüksek bulmuştur. Bizim çalışmamızda da HbB geninin yüksek olması Doğrul'un (8) bulgularını desteklemektedir ve bu genotipin Sakız ve Kıvırcık ırkının genetik özelliklerini önemli ölçüde taşıdığını göstermektedir.

Transferrin plazma proteinlerinin % 3'ünü oluşturan metal bağlayıcı proteinler yada beta-globulinler olarak bilinen fraksiyonun demir ile bağlanmış biçimidir. Transferrinin başlıca fizyolojik görevi demir dağılımı ve taşınmasında aracılık etmektir (5).

Koyunlarda transferrin polimorfizmi ilk olarak Ashton tarafından gösterilmiş ve Smithies'in geliştirdiği, Paulic'in modifiye ettiği nişasta jel elektroforezi yöntemi ile çeşitli ırkların transferrin polimorfizmi incelenmiştir. Koyunlarda homozigot olarak 16 transferrin alleli (Tf I, Tf F, Tf A, Tf G, Tf B, Tf C, Tf M, Tf D, Tf U, Tf N, Tf Q, Tf E, Tf R, Tf S, Tf V, Tf P) bulunmuştur. Bu tiplerin sayısı ve yüzde oranları ırktan ırka değişmektedir (8).

Transferrin tiplerinin adlandırılmasında başlıca kriter bant sayısı ve bantların anot yada katoda olan uzaklıklarıdır. Elektroforetik alanda koyun transferrin tipleri önde giden zayıf bir bant ve arkada ondan daha yavaş giden koyu bir bant ile karakterize olmaktadır.

Bütün hayvan türleri arasında şimdiye kadar tespit edilen transferrin polimorfizminde en karışık örnek gösteren tür koyundur. Çünkü koyunlarda transferrin tipleri diğer hayvan türlerine göre daha fazla sayıdadır ve her yeni keşfedilen transferrin tiplerinin adlandırılması problem olmaktadır (4,19).

Transferrin tipleri arasında çeşitli biyokimyasal farklılıklar bulunmaktadır. Transferrin tipleri arasında rastlanan bu farklılığın tiplerin çeşitli çevre şartlarına farklı şekillerde adapte olmalarının bir sonucu olduğu bildirilmektedir (8).

Doğrul (8) Kıvırcık, Karagül, Dağlıç, Merinos, Sakız, Karayaka ve Akkaraman koyunları ile yaptığı çalışmada 6 Tf alleli, 5'i homozigot (Tf AA, BB, MM, DD, EE) ve 14 'ü heterozigot (Tf AB, AM, AD, AE, AS, BM, BD, BE, BS, MD, ME, MS, DE, DS) 19 transferrin tipi belirlemiştir. Kıvırcık koyunlarında en yüksek gen frekansını Tf D = 0,336, fenotip olarak da sırasıyla en yüksek Tf BD,DD ve AD allellerini Sakız ırkında ise Tf A gen frekansını 0,588 ve Tf AD, AA ve DD allellerini en yüksek bulmuştur.

Soysal ve Özder (20) Türkgeldi koyunları ile yaptıkları araştırmada 6 Tf alleli (Tf A, B, M, D, E ve S) 5'i homozigot (Tf AA, BB, MM, DD, ve EE) ve heterozigot (Tf AB, AD, AM, AE, BD, BM, BE, BS, MD, ME ve MS) yapıda 16 Tf fenotipi saptamışlardır.

Yaprak ve ark. (5) İvesi ve Morkaramanlarda 5 Tf alleli, 3'ü homozigot (Tf AA, BB, MM) ve 6'sı heterozigot (Tf AB, AM, AD, BD, BM, BE) olmak üzere toplam 9 fenotip gözlemlemişlerdir.

Bildik ve ark. (3) da, Morkaraman kuzularda 1'i homozigot (Tf AA), 4'ü heterozigot (Tf AB, Tf AM, Tf AD, Tf BM) olmak üzere 5 Tf alleli bildirmişlerdir.

Transferrin tiplerine ait Şekil 2 ve Tablo 1 incelendiğinde bu koyunlarda 3'ü homozigot Tf AA, Tf MM, Tf DD ve 5'i heterozigot Tf AM, Tf AD, Tf AE, Tf BD ve Tf MD olmak üzere toplam 8 fenotip saptanmıştır. Tiplendirmeler uluslar arası standartlara göre değerlendirilmiş ve en hızlı seyreden bant Tf A ve onu takip eden bantlar sırasıyla Tf B, Tf M, Tf D, Tf E olarak adlandırılmıştır (18). Bu çalışmanın sonuçlarına göre Tf D, Tf A, Tf M allelleri en fazla yoğunlukta bulunmakta, Tf B ve Tf E alleli ise en az yoğunlukta bulunmaktadır ve Tf BB ve Tf EE'ye rastlanmamıştır.

Doğrul'un (8) Kıvırcık ve Sakız ırkı koyunlarında bulunduğu sonuçlar incelendiğinde Kıvırcık koyunlarında

bulduğu Tf D gen frekansının Çine tipi koyunlarda da en yüksek olduğu görülmektedir. Aynı şekilde Çine tipi koyunlarda en fazla görülen Tf AD ve DD fenotipinin Kıvrıcık ve Sakız ırkı koyunlarda da yüksek oranda görülmesi, Çine tipi koyunların genetik yapısının bu koyun ırklarının genetik yapısı ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, hemoglobin ve transferrin tiplerinin belirlenmesi soy testi ve seleksiyon için önemli parametreler olarak değerlendirilebilir. Ancak transferrin tipleri hayatın erken dönemlerinde tespit edilebilmekte ve hemoglobine göre de daha fazla çeşitlilik gösterdiğinden kayıtlarda her ikisinin birlikte değerlendirilmesinin uygulamayı daha güvenli hale getirebileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Asal, S., Dellal, G., Kocabaş, Ş.: Akkaraman ve Anadolu merinoslarında hemoglobin ve arilesteraz tipleri. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 1996; 20: 215-217.
2. Ashton, G.C.: Polymorphism in the B globulin of sheep. Nature. 1958; 182: 849.
3. Bildik, A., Yur, F., Odabaşoğlu, F., Çep, S., Çamaş, H.: Kuzuların doğum ağırlığı ve besi performansı ile transferrin tipleri arasındaki ilişkinin araştırılması. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 1999; 23: 43-48.
4. Tüzemen, N., Dayıoğlu, H.: Koyunlarda polimorfik kan karakterlerinin önemi ve çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkileri. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. 1990; 21: 119-127.
5. Yaprak, M., Macit, M., Emsen, H.: İvesi ve Morkaraman koyunlarında transferrin (Tf) tipleri ile çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkiler. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. 1997; 28: 420-432.
6. Elmacı, C., Asal, S.: Ankara keçilerinde transferrin (beta-globulin) polimorfizmi. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 1998; 22: 321-323.
7. Altın, T., Karaca, O., Cemal, İ., Atay, O.: Çine Çapanı ve Çine Tipi (Yöresel sentetik) koyunların yapağı verimi ve özellikleri. Uluslararası Hayvancılık 99 Kongresi. 21-24 Eylül 1999-İzmir.
8. Doğrul, F.: Çeşitli koyun ırklarında transferrin ve hemoglobin tiplerinin dağılımı üzerinde araştırma. Etlik Vet. Mikrob. Enst. Derg. 1985; 5: 61-75.
9. Türk Standartları. 1991; TS 8833/Şubat, UDK. 616-15-078.
10. Nei, M.: Molecular Evolutionary Genetics. Columbia Univ. Press. New York, 1987.
11. Yaman, K., Üstdal, K.M.: Türkiye'deki bazı koyun ırklarında hemoglobin tipleri üzerine araştırmalar. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg. 1983; 2: 79-83.
12. Dellal, G., Yıldız, M.A., Arık, Z.İ., Elmacı, C., Balcioğlu, S.: Koyunlarda hemoglobin tipleri ve döl verimi özellikleri arasındaki ilişkiler. Tıgem. 1995; 55: 19-24.
13. Töre, R.İ.: Koyunlarda biyokimyasal polimorfizm. II. Hemoglobin Tipleri. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 1979; 5: 113-126.
14. Blunt, M.H., Evans, J.V.: Changes in the concentration of potassium in the erythrocytes and in haemoglobin type in Merino sheep under severe anaemic stress. Nature. 1963; 200: 1215-1221.
15. Dratch, P.A., Allison, A.J., Williams, B.K., Kyle, B., Wyllie, J.G., Littlejohn, R.P.: Haemoglobin type and prolificacy in Booroola sheep. Proc. New Zealand Soc. Anim. Product. 1986; 46: 237-240.
16. Vaskov, B., Efmerov, G.: Haemoglobin types in sheep. Nature. 1967; 216: 593-594.
17. Tucker, E.M.: The life span and other physiological properties of sheep red cells containing type A, B or C (M) haemoglobin. Res. Vet. Sci. 1966; 7: 368-378.
18. Rahman, M.F.: Koyunlarda transferrin (B-globulin) tipleri ile et tutma yeteneği arasındaki ilgi üzerinde araştırma. 1974; Doktora Tezi, Ankara.
19. Geldermann, H.: An improved method for horizontal starch-gel electrophoresis. Anim. Blood. Grps. Biochem. Genet. 1970; 1: 229-234.
20. Soysal, İ.M., Özder, M.: Türkgeldi koyun popülasyonunun bazı kalıtsal polimorfik kan proteinleri bakımından genetik yapısı. Hayvan. Araşt. Derg. 1996; 6: 57-60.