

Türkiye'deki Bazı Koyun Irklarında Hemoglobinin (Hb) Tipleri Üzerinde Araştırmalar

Kemalettin YAMAN *
K. Muzaffer ÜSTDAL **

Studies on Haemoglobin (Hb) Types in Some Sheep Breeds in Turkey

Summary: *In 7 sheep breeds, haemoglobins were typed by means of starch gel electrophoresis technique. Hb types AA, AB and BB were found in 348 sheep. In this experiment, gene frequency of Hb B was higher in the mentioned sheep breeds.*

Özet: *Nişasta jeli elektroforez tekniği kullanılarak 7 koyun ırkında hemoglobin tipleri tayin edilmiştir. İncelenen 348 koyunda AA, AB ve BB tipleri elde edilmiştir. Bu çalışmamızda Hb B geni frekansı bütün ırklarda yüksek düzeyde bulunmuştur.*

GİRİŞ

Hemoglobinler karmaşık yapıda olan protein molekülleridir ve her molekül 4 polipeptid zincirinden oluşur. Bu dördü genellikle benzer iki çift zincirden oluşur. Her zincirde de bir hem grubu vardır. Alfa ve alfa olmayan bu zincirler farklı amino asit dizilerine sahiptir ve allelik olmayan ayrı genlerle denetlenirler^{2,3}.

Hemoglobinleri birbirinden ayırmanın en basit yolu, bunları 8.5-9.0 pH ortamında elektroforetik göçe uğratmaktır. Elektroforetik incelemeler sonucu koyunlarda en sık A ve B hemoglobin tipleri elde edilmiştir¹⁰. Bunlar otozomal ko-dominant (eş baskın) allel genlerle denetlenirler ve gözlenebilir AA, AB ve BB fenotiplerini oluştururlar^{10,14,15}.

Hb A anot yönünde Hb B'den daha hızlı göç eder, yani anoda daha yakındır^{3,4,10,13,20,21}. Diğer birçok hayvan türlerinde olduğu gibi, koyunlarda da fetal dönemde fetal hemoglobin (HbF) oluşur ve bu hemoglobin elektroforetik alanda A ile B arasında yer alır^{2,3}.

* Doç. Dr.; A.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Bilim Dalı, Ankara/TURKEY.

** Doç. Dr.; Anadolu Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir/TURKEY.

Bunlardan başka koyunlarda C ve D tipleri de bulunmuştur. Hb C, anemik hemoglobin olarak bilinir. Şiddetli anemi veya etkili paraziter invazyon sonucu yalnız A ve AB tipli koyunlarda ortaya çıkmaktadır ^{1.2.3}. Hb D ise Yugoslavya'da A ve B tipli koyunlarda bulunmuş, nişasta jeli elektroforezinde 9.0 pH'da Hb A'dan daha hızlı hareket ettiği saptanmıştır ²⁴.

Koyunlarda hemoglobinlerin istatistik önemde diğer bazı özelliklere de sahip oldukları bildirimler arasındadır: Hb A tipli koyunlarda Hb miktarı ile hematokrit değerler yüksek bulunmuş ⁶, ayrıca Hb A tipli koyunların hipoksiye daha dirençli oldukları saptanmıştır ⁸. Deniz düzeyine yakın bölgelerdeki koyunlarda Hb A geninin frekansı düşük, dağlık ve yüksek bölgelerde en yüksek bulunmuş, Hb A geninin çevreye uyabilmede önemli olabileceği vurgulanmıştır ⁹.

Mayer ve ark. ¹⁸ Hb AB tipli koyunlarda canlı ağırlığı B tiplerinden daha yüksek değerlerde bulmuşlardır. Kalla ve ark. ¹⁶ ise çeşitli koyun ırklarının, Hb A tipli olanlarında yün özelliklerinin diğer tipli olanlara oranla daha iyi özellikte olduklarını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Karagül ikiz kuzularda A ve AB fenotipleri B'den yüksek gözlenmiş, Hb A geni taşıyan koyunlarda fertilitenin de yüksek olduğu belirtilmiştir ¹⁹. Tersine, Bikaneri koyunlarında fertilité Hb B geni taşıyanlarda daha yüksek oranda (A: 50; B: 66.1; AB: 78.9 şeklinde) bildirilmiştir ²².

Hb A ve B'nin gen frekansları ırklar arasında bir hayli farklı bulunmuştur. Khattab ¹⁷ Hb A gen frekansını 0.018, B'ninkini ise 0.982 olarak bulmuştur. Diğer taraftan Efremov ve Braend ⁷ 4 Norveç koyun ırkında Hb A geni frekanslarını sırasıyla 0.790, 0.770, 0.510 ve 0.130 olarak bildirmektedirler. Dassat ve Bernoco ⁵ ise bazı İtalyan koyunlarında Hb B geni frekanslarını yüksek düzeyde; 0.847, 0.677, 0.663, 0.648 şeklinde bulmuşlardır.

Amacımız, sayısal varlığı ve verim özellikleri ile ekonomimizde çok önemli bir yere sahip olan koyun ırklarımızdan bazılarında ait Hb tiplerini saptayıp, elde edilen verileri araştırmacıların yararına sunmak ve bu konularda yapılabilecek çalışmalara katkıda bulunabilmektir.

MATERYAL ve METOD

Toplam 348 koyundan alınan kan örnekleri hemoglobin tiplerini saptamak için kullanılmıştır.

Araştırmamızda Sigma nişasta kullanılmış ve Gelman elektroforez aracından yararlanılmıştır.

Hemoglobinleri tiplendirmek için, elektroforez gerekli elektrod tamponunun litresi 20.2 g tris (hidroksimetil)-aminometan, 2 g EDTA, 1.5 g borik asit içermekte ve pH 8.9'a ayarlanmaktadır. Jel tamponu ise, 30 ml elektrod tamponuna 70 ml su katılmasından oluşmaktadır.

Hemoglobin tipleri sürekli (continue) ve yatay nişasta jeli elektroforez yöntemi ile tayin edilmiştir ^{11.12.25}.

Jel tamponu ile % 10 oranında hazırlanan nişasta jeli 215x122x6 mm boyutlarındaki plakaya dökülmüştür. Oda ısısında bir saat bekletilen jel plakası daha sonra + 4 °C de 1.5-2 saat soğutulmaya bırakıldı. Kısa boyutun her iki yanına 3 cm'lik işaretler konarak 3 cm genişliğinde bir kısım kesilerek esas kalıptan 1 cm uzaklaştırıldı.

% 0.9 NaCl eriyiği ile 3 kez yıkanan alyuvarlar 1:1 oranında saf su ile karıştırılarak elde edilen örnekler 5x6 mm boyutlarındaki kromatografi kâğıtlarına (Whatman No:3) emdirilerek 2 mm aralıklarla tek sıra halinde jelle tatbik edildi. Böylece bir jel kalıbına 30 örnek tatbik edilerek, daha önce 1 cm geriye çekilen jel parçası ilk kesit yerine getirildi.

Elektroforeze 165 volt'la başlandı. 30 dakika sonra, örnek emdirilen kâğıt parçaları alındı ve gerilim 350 volt'a yükseltilerek 2 saat sonra elektroforeze son verildi. Hb tipleri okunarak kayıt altına alındı.

BULGULAR

Araştırmamızda kullanılan 348 baş koyuna ait örneklerde 2 homozigot ve 1 heterozigot olmak üzere 3 hemoglobin tipi elde edildi.

Örneklerin alındığı ırklar, bulunan Hb tipleri, tiplerin ırklardaki dağılımı ve gen frekanslarına ait değerler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo: 1
Bazı Koyun Irklarımızda Hb Tiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansları

| Irklar | Hb tiplerinin dağılımı | | | Gen frekansı | |
|------------------|------------------------|----|----|--------------|-------|
| | AA | AB | BB | Hb A | Hb B |
| Akkaraman | — | 1 | 57 | 0.009 | 0.991 |
| Morkaraman | — | — | 48 | 0.000 | 1.000 |
| Dağlıç | — | 1 | 48 | 0.011 | 0.989 |
| Karayaka | 3 | 21 | 25 | 0.276 | 0.724 |
| Kıvırcık | 2 | 14 | 33 | 0.184 | 0.816 |
| Merinos x Dağlıç | 3 | 26 | 21 | 0.320 | 0.680 |
| Merinos | 2 | 7 | 36 | 0.123 | 0.877 |

SONUÇ ve TARTIŞMA

Bulgularımıza ait tablo incelendiğinde 2 homozigot "AA, BB" ve 1 heterozigot "AB" olmak üzere 3 Hb allelinin varlığı görülecektir. Fötal (HbF) ve anemik (HbC) hemoglobinler hariç tutulursa, şimdiye kadar koyunlar için 3 (A, B, D) Hb geninden bahsedilmiştir^{10,14,15,24}. Yapılan bu çalışmada iki Hb geni (Hb, A,B) saptanmış, zaten ender görülen Hb D genine rastlanılmamıştır.

Koyunlardaki Hb geni frekanslarını incelediğimizde çok farklı ve çarpıcı sonuçlar görmekteyiz. İtalyan koyunlarında Hb B geni frekansları 0.847, 0.677, 0.663 gibi yüksek değerlere ulaşırken⁵, Norveç koyunlarında aksine Hb A geni frekansları

0.790, 0.770, 0.510 değerlerinde izlenmiştir ⁷, Merinos x Dağlıç örneklerine ait değerler hariç tutulursa biz de bu çalışmamızda Hb B geni frekanslarını 1.000, 0.991, 0.989 gibi çok yüksek düzeylerde saptamış bulunuyoruz. Hb A geni frekans değerleri incelenen 7 koyun ırkında da düşük düzeylerde kalmıştır. Yalnız Merinos x Dağlıç, Karakaya ve Kıvrıcık koyunlarda Hb A geni frekans değerleri diğer 4 ırka nisbetle yükselme eğilimi göstermiştir; değerler sırasıyla 0.320, 0.276, 0.184 şeklinde bulunmuştur. Örnek sayısı arttırıldığında bu değerlerin değişeceği olası görülmektedir.

Hb tipleriyle belirtilen bazı verim özelliklerinin ^{1,2,3,6,8,16,18,19,22} aralarındaki ilişkileri de gözönüne alarak, çalışmamızı bir değerlendirmeye tabi tutarsak, bu konularda çalışmalar yapacak olan araştırmacılara ve meslektaşlarımıza bazı önemli noktaları belirtmek yönünden araştırmamızın yarar sağlayacağı inancındayız. Ayrıca Hb tiplerinin koyunlarda da soy denetimi ve seleksiyonda kriterler olarak kullanılmada yararlı olacağı kanısını taşımaktayız.

LİTERATÜR

1. BLUNT, M.H. (1965): Changes in type of hemoglobin during experimental hemorrhagic anemias in sheep. *Am. J. Physiol.* 209, 986-990.
2. BLUNT, M.H., EVANS, J.V. (1963): Changes in the concentration of potassium in the erythrocytes and in haemoglobin type in Merino sheep under severe anaemic stress. *Nature. Lond.* 200, 1215-1221.
3. BRAEND, M., EFREMOV, G., HELLE, O. (1964): Abnormal haemoglobin in sheep. *Nature, Lond.* 204, 700.
4. CABANNES, R., SERAIN, C.H. (1955): Etude électrophorétique des hémoglobines des mammifères domestiques d'Algérie. *C.R. Séanc. Soc. Biol.* 149, 1193-1197.
5. DASSAT, P., BERNOCO, D. (1968): Analyses of lop-eared Italian breeds of sheep for haemoglobin, potassium type and transferrins. *Atti Ass. Genet. Ital.* 13, 137-151.
6. DAWSON, T.J., EVANS, J.V. (1965): Effect of haemoglobin type on the cardiorespiratory system of sheep. *Am. J. Physiol.*, 209, 593-597.
7. EFREMOV, G., BRAEND, M. (1965): Haemoglobins, transferrins, and albumins of sheep and goats. In *Blood groups of animals. Proc. 9th Eur. Anim. Blood Grp Conf., Prague 1964*, 313-320.
8. EVANS, J.V. (1966): Red cell electrolytes and Haemoglobin. *Proc. XIth Int. Congr. Soc. Haemat., Sydney, Aust.*, 1, 278-293.
9. EVANS, J.V., HARRIS, H., WARREN, F.L. (1958): Distribution of Haemoglobin and blood potassium types in British breeds of sheep. *Proc. R. Soc. Ser. B.*, 149, 249-262.
10. EVANS, J.V., KING, J.W.B., COHEN, B.L., HARRIS, H., WARREN, F.L. (1956): Genetics of haemoglobin and blood potassium differences in sheep. *Nature. Lond.* 178, 849-850.
11. GAHNE, B., RENDAL, J., VENGE, D. (1960): Inheritance of B-globulins in serum and milk from cattle. *Nature, Lond.*, 186, 907-908.

12. GELDERMANN, H. (1970): An improved method for horizontal starch-gel electrophoresis. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.*, 1, 229-234.
13. HARRIS, H., WARREN, F.L. (1955): Occurrence of electrophoretically distinct haemoglobins in ruminants. *Biochem. J.*, 60, 24.
14. HUISMAN, T.H.J., DASHER, G.A., MORETZ, W.H., DOZY, A.M., WILSON, J.B. (1968): Studies of haemoglobin types in Barbary sheep (*Ammotragus lervia*). *Biochem. J.*, 107, 745-751.
15. HUISMAN, T.H.J., VAN VLIET, G., SEBENS, T. (1958): Sheep haemoglobins. Some genetics and physiological aspects of two different adult haemoglobins in sheep. *Nature, Lond.*, 182, 171-172.
16. KALLA, S.D., DWARAKNATH, P.K., SINGH, M. (1971): Haemoglobin polymorphic studies in relation to wool quality in sheep of Northwest Rajasthan. *Indian J. Anim. Sci.*, 41, 109-112.
17. KHATTAB, A.G.H. (1968): Haemoglobin type and blood potassium and sodium concentration in Sudan desert sheep. *J. Agric. Sci. Camb.*, 70, 95-97.
18. MEYER, H., LOHSE, B., GRONING, M. (1967): Ein Beitrag Zum Hamoglobin und Blutkalium-Polymorphismus beim Schaf. *Z. Tierzücht-Züchtbiol.*, 83, 340-357.
19. ORBANYI, I., FESUS, L. (1968): Haemoglobin types and economic characters in sheep. *Allattenyésztés*, 17, 81-87. In haemoglobin types, erythrocyte counts and haematocrit in sheep and goats. Annotated Bibliography No. 101, 1955-1967 Abstr. No. 2696, C.A.B. Edinburgh, Scotland.
20. RODNAN, G.P., EBAUGH, F.G. (1956): Paper electrophoresis of animal hemoglobins. *Fedn. Proc. Fedn Am. Socs. Exp. Biol.*, 15, 155-156.
21. RODNAN, G.P., EBAUGH, F.G. (1957): Paper electrophoresis of animal hemoglobins. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 95, 397-401.
22. SETH, O.N. (1968): Influence of haemoglobin variant on the fertility in Bikaneri (Mağra) sheep. *Curr. Sci.*, 37, 231-232.
23. TUCKER, E.M. (1971): Genetic Variation in the sheep red blood cell. *Biol. Rev.* 46, 341-386.
24. VASKOV, B., EFREMOV, G. (1967): Fourth haemoglobin type in sheep. *Nature, Lond.*, 216, 593-594.
25. YAMAN, K. (1976): Ankara keçilerinde tiftik özellikleri ile hemoglobin tipleri, hemoglobin miktarı ve hematokrit değerler arasında ilişki. Doktora tezi.