

**POVEZANOST POLIMORFIZMA β -LAKTOGLOBULINA S
MLIJEČNIM PROIZVODNIM OSOBINAMA HRVATSKOG
SIMENTALCA II. UTJECAJ GENA**

Jasmina Lukač - Havranek, I. Čurik, M. Kapš, N. Antunac,
Dubravka Samaržija

Sažetak

Istraživan je utjecaj alela β - laktoglobulin lokusa u 195 uzoraka na količinu mlijeka i masti (kg) te sadržaj masti (%) prve laktacije hrvatskog simentalca. Za isti gen lokus procijenjen je udio aditivne u fenotipskoj varijanci. Prosječan efekt supstitucije alela B za A izračunat je gen supstitucijskim modelom. Aditivna genetska varijanca (σ^2_A) istih mliječnih proizvodnih osobina izračunata je formulom $\sigma^2_A=2pq\alpha^2$. Signifikantan prosječan efekt supstitucije alela B za A utvrđen je za količinu mlijeka - $176,648 \pm 63,273$ ($P=0,006$), masti - $5,487 \pm 2,690$ ($P=0,043$) i sadržaj masti $0,041 \pm 0,013$ ($P=0,003$). Udio aditivne genetske varijance u fonotipskoj varijanci iznosio 4,1% za količinu mlijeka (kg), 2,2% za količinu masti (kg) i 4,9% za sadržaj masti. U ovom radu utvrđena je veća količina mlijeka i masti (kg) za alel A, te viši postotak masti (%) za alel B. Naravno, potrebna su daljnja istraživanja koja bi potvrdila dobivene rezultate prije uključivanja β -laktoglobulin alela u selekciju.

Uvod

Sirutkin protein β -laktoglobulin pojavljuje se u deset genetičkih varijanti. U simental-skoj, kao i većini europskih pasmina goveda najzastupljenije su njegove A i B varijante (Lukač i sur., 1992.). Povezanost genotipova β -laktoglobulina s mliječnim proizvodnim osobinama, premda rezultati nisu uvijek istovjetni, utvrđena je u mnogim istraživanjima (Grosclaude, 1988., Antunac i sur., 1992.). Bovenhuis i sur., (1992.) i Cowen i sur., (1992.) smatraju da je u populacijama moguće utvrditi različite utjecaje istih genotipova, stoga različiti rezultati nisu neobjašnjivi. Čurik i sur. (1993.) utvrdili su, u populaciji hrvatskog simentalca, signifikantno povoljniji utjecaj AB genotipa za količinu mlijeka i BB za sadržaj masti (%) prve laktacije. Međutim, malo je radova u kojima je istražen utjecaj alela i udjela aditivne genetske varijance (Lin i sur., 1986.), što je razlog zašto smo na istim uzorcima mlijeka (Čurik i sur., 1993.) željeli utvrditi utjecaj alela gen supstitucijskim modelom. Isto tako procijenili smo i udio aditivne genetske varijance β -laktoglobulin lokusa za količinu mlijeka (kg), masti (kg) i sadržaj masti (%).

Prof. dr Jasmina Lukač-Havranek; dipl. inž. Ino Čurik, istraživač pripravnik, mr Neven Antunac, asistent, mr Dubravka Samaržija, asistent, Zavod za mljekarstvo; mr Miroslav Kapš, asistent, Zavod za specijalno stočarstvo, Agronomski fakultet, Zagreb.

Materijal i metode

Uzorci mlijeka

Uzorke mlijeka (195) hrvatskog simentalca tijekom 1992. godine prikupili smo iz 39 seljačkih gospodarstava i farme "Krndija" PIK Đakovo. Podatke o količinama mlijeka (kg), masti (kg) i sadržaju masti (%) prve laktacije do 305 dana, dobili smo od Stočarskog selekcijskog centra Hrvatske. Laktacije kraće od 250 dana isključili smo iz daljnje obrade. Strukturu istraživane populacije u odnosu na mliječne proizvode osobine i frekvenciju β -laktoglobulin genotipova prikazali smo u radu Čurik i sur., (1993.).

Određivanje genetskih varijanti

Genotipove β -laktoglobulina odredili smo izoelektričnim fokusiranjem, PhastSystem (Bovenhuis i Verstege., 1989.). Služili smo se ovom metodom zbog njene mogućnosti da se istovremeno odrede genotipovi više uzoraka mlijeka. Frekvenciju alela izračunali smo brojanjem jer se aleli β -laktoglobulin lokusa nasljeđuju kodominantno.

Statistička analiza

Da bi procijenili aditivne utjecaje supstitucije alela β -laktoglobulin lokusa za količinu mlijeka (kg), masti (kg) i sadržaj masti (%) upotrijebili smo model

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + G_j + b_1 \times (X_{ijk} - \bar{X}) + b_2 \times (Z_{ijk} - \bar{Z}) + b_3 \times (U_{ijk} - \bar{U}) + e_{ijk},$$

gdje je Y_{ijk} = promatrana proizvodna osobina [mlijeko (kg), mast (kg) i sadržaj masti (%)], μ = korigirana srednja vrijednost na sve utjecaje, S_i = fiksni utjecaj i -te sezone ($i=1, \dots, 4$), G_j = fiksni utjecaj j -te godine ($j=1, \dots, 13$), b_1 = parcijalni koeficijent linearne regresije duljine laktacije (X_{ijk}) na proizvodna svojstva, X_{ijk} je dužina laktacije (dani), b_2 = parcijalni koeficijenti linearne regresije starosti krava kod prvog telenja (Z_{ijk}) na proizvodna svojstva, Z_{ijk} je starost kod prvog telenja, b_3 = parcijalni koeficijent linearne regresije koji predstavlja prosječan efekt supstitucije alela B za A, u_{ijk} je dio gena β -laktoglobulin lokusa, e_{ijk} = neprotumačeni utjecaj $N(0, \sigma_e^2)$.

Količinu mlijeka (kg), masti (kg) i sadržaj masti (%) definirali smo kao ovisne varijable. Utjecaji sezone, godine i genetske grupe očeva uzeti su u modelu kao fiksni utjecaji, a duljina laktacije i starost kod prvog telenja kao kontinuirane nezavisne varijable. Opravdanost definiranja utjecaja sezone, godine, duljine laktacije, starosti kod prvog telenja i genetske grupe očeva, pokazala su ranija istraživanja (Lin i sur., 1986., 1989., Ng-Kwai-Hang i sur., 1984.). Sezone smo definirali kao vremenska razdoblja od tri mjeseca počevši od prosinca. Utjecaj godine odnosio se na 13 godina u razdoblju od 1980. do 1992. godine. Očevi su podijeljeni u tri grupe, prema starosti.

U modelu gen supstitucije prema Falconer, (1981.), doprinos alela A uzet je u obzir kao vrijednost nula, jednog B alela kao vrijednost jedan, a dva B alela kao vrijednost dva na X osi i predstavlja nezavisnu varijablu. U tako definiranom modelu b_3 je prosječan efekt supstitucije alela B za alel A.

Aditivnu genetsku varijancu (σ^2_A) mliječnih proizvodnih osobina uzrokovanu β -laktoglobulin lokusom izračunali smo po formuli $\sigma^2_A=2pq\alpha^2$ (Falconer, 1981.), gdje je α prosječan efekt supstitucije gena. Fenotipske varijance (σ^2_p) definirane su kao neprotumačene varijance prema gore navedenom modelu.

Rezultati istraživanja i rasprava

Izračunata frekvencija alela, A = 0,554 i B = 0,446 slična je frekvenciji alela u populacijama Simentalca Europe (Lukač - Havranek i sur., 1993.).

U radu Čurik i sur., (1993.) utvrđen je signifikantan utjecaj β - laktoglobulin genotipova na količinu mlijeka (kg) i sadržaja masti (%) prve laktacija. Kako roditelji prenose na potomstvo gene, a ne genotipove u ovom radu izračunali smo prosječne efekte supstitucije gena β - laktoglobulin lokusa da bi utvrdili utjecaje β - laktoglobulin alela i procijenili udio aditivne genetske varijance za mliječne proizvodne osobine. Analiza varijance za količinu mlijeka (kg), masti (kg) i sadržaj masti (%) prikazana je na tablici 1 a udio aditivne genetske varijance (σ^2_A/σ^2_p), uzrokovane β - laktoglobulin lokusom na tablici 2.

Tab. 1 - VARIJANCA OSTATKA I F VRIJEDNOSTI MLIJEČNIH PROIZVODNIH OSOBINA PRVE LAKTACIJE (305 dana)
- RESIDUAL MEAN SQUARES AND F STATISTICS FOR FIRST LACTATION YIELDS (305 days).

Utjecaj Effect	SS df	Količina mlijeka (kg) Milk yield	Količina masti (kg) Fat yield	Sadržaj masti (%) Fat content
Grupa bikova Sires group	2	3,467*	3,846*	0,859
Sezona Season	3	4,049**	1,967	2,691*
Godina Year	12	1,406	1,704	0,917
Dužina laktacije, dani Leangth of lactation, days	1	45,858**	19,273**	1,122
Starost kod teljenja, dani Age at calving, days	1	0,267	0,940	0,071
B alel β -laktoglobulina B allele of β -lactoglobulin	1	7,794**	4,158*	9,328**
Ostatak Residual	174	373 642,313	675,694	0,017

*P < 0,05
**P < 0,01

Tab. 2.- UDIO ADITIVNE GENETSKE VARIJANCE (σ^2_A) MLIJEČNIH PROIZVODNIH OSOBINA PRVE LAKTACIJE (305 dana) UZROKOVANE β - LAKTOGLOBULIN LOKUSOM
- CONTRIBUTION OF ADDITIVE GENETIC VARIANCE (σ^2_A) IN FIRST LACTATION YIELDS (305 days) DUE TO β -LACTOGLOBULIN LOCI.

	Količina mlijeka (kg) Milk yield	Količina masti (kg) Fat yield	Sadržaj masti (%) Fat content
Aditivna genetska varijanca (σ^2_A) Additive genetic variance	15 420,273	14,107	0,000822
Fenotipska varijanca (σ^2_P) Phenotypic variance	373642,313	675,694	0,016 658
σ^2_A / σ^2_P	0,041	0,022	0,049

Utvdili smo signifikantan prosječan efekt supstitucije alela B za alel A - $176,648 \pm 63,273$ ($P=0,006$) za količinu mlijeka (kg), - $5,487 \pm 2,690$ ($P=0,043$) za količinu masti (kg) i $0,041 \pm 0,013$ ($P=0,003$) za sadržaj masti (%). Udio aditivne genetske varijance u fenotipskoj varijanci iznosio je 4,1% za količinu mlijeka (kg), 2,2% za količinu masti (kg) i 4,9% za sadržaj masti. Lin i sur., (1986.) nisu utvdili signifikantan utjecaj alela β - laktoglobulin lokusa na proizvedenu količinu mlijeka i masti (kg) prve laktacije. Prosječni efekti supstitucije gena, ovisi ne samo o genu, već i njegovoj frekvenciji u populaciji (Falconer, 1981.) pa su izračunate vrijednosti u ovom radu svojstvo populacije hrvatskog simentalca. Udio aditivne varijance u fenotipskoj varijanci prikazuje veličinu utjecaja β - laktoglobulin lokusa, no treba uzeti u obzir da su velike standardne greške i vezani kvantitativni geni, ako su bili u linkage disequilibrium s genima β - laktoglobulin lokusa, mogli utjecati na procjenu udjela aditivne genetske varijance u ukupnoj varijabilnosti (Falconer, 1981.).

Povoljniji utjecaj alela A za količinu mlijeka i masti (kg) sugerira favoriziranje ovog alela u selekciji. Međutim, kako smo utvdili povoljniji utjecaj alela B za sadržaj masti (%), a općenito se genotip BB smatra povoljnijim za sadržaj kazeina u mlijeku (Shaar i sur., 1985.) i za randman sira (Aleandri i sur., 1992.), koji alel favorizirati ovisit će o cilju selekcije. Svakako, prije konačne odluke nužna su daljnja istraživanja koja će uvažiti utjecaj kvantitativnih gena i utjecaj β - laktoglobulina *per se* kao i utjecaj ostalih proteina u mlijeku.

Zaključak

Gen supstitucijskim modelom utvdili smo signifikantan utjecaj alela A za količinu mlijeka i masti (kg), a alela B za sadržaj masti (%). Procijenjeni udio aditivne genetske varijance iznosio je 4,1, 2,2 i 4,9 % za količinu mlijeka, masti (kg) i sadržaj masti (%). Međutim, prosječan efekt supstitucije gena ovisi i o njegovoj frekvenciji u populaciji, a udio aditivne genetske varijance o veličini standardne greške te linkage disequilibrium β - laktoglobulin gena s kvantitativnim genima. Odluka, koji alel treba favorizirati u selekciji mliječnih proizvodnih osobina, zahtijeva daljnja istraživanja.

LITERATURA

1. Aleandri, R., Buttazzoni, L.G., Schneider, J.C., Caroli, A., Davoli, R. (1990.): The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *J. Dairy Sci.*, 73: 241-255
2. Antunac, N., Jasmina Lukač-Havranek, I., Čurik, Dubravka Samaržija, (1991.): Polimorfizam proteina mlijeka u odnosu na proizvodnju i sastav mlijeka. *Mljekarstvo*, 11: 297-302
3. Bovenhuis H. and A.J.M. Verstege, (1989.): Improved method for phenotyping milk protein variants by isoelectric focusing PhastSystem. *Neth. Milk Dairy J.*, 43: 447-451
4. Bovenhuis, H., J.A.M. van Arendonk, S. Korver, (1992.): Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.*, 75:2549-2559
5. Cowan, C.M., M.R. Dentine, T. Coyle, (1992.): Chromosome Substitution Effects Associated with κ -Casein and β -Lactoglobulin in Holstein Cattle. *J. Dairy Sci.* 75: 1097-1104
6. Čurik, I., M. Kapš, Jasmina Lukač - Havranek, N. Antunac, Dubravka Samaržija, (1993.): Povezanost polimorfizma proteina mlijeka s mliječnim proizvodnim osobinama hrvatskog simentalca, I. Utjecaj genotipa. *Stočarstvo*, 47: 15-22
7. Falconer, D. S., (1981.): Introduction to quantitative genetics. 2nd ed. Longman, London.
8. Grosclaude, F. (1988.): Le polymorphisme genetique des principales lactoproteines bovines. *INRA Prod. Anim.*, 1:5-17
9. Lin, C.Y., A.J. McAllister., K.F. Ng-Kwai-Hang, J.F. Hayes (1986.): Effects of Milk Protein Loci on First Lactation Production in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 69: 704-712
10. Lin, C.Y., A.J. McAllister, K.F. Ng-Kwai-Hang, J. F. Hayes, T. R. Batra, A.J. Lee, G.L. Roy, J.A. Vesely, J.M. Wauthy, K.A. Winter, (1989.): Relationships of Milk Protein Types to Lifetime Performance. *J. Dairy Sci.*, 72: 3085-3090
11. Lukač-Havranek Jasmina, I., Čurik, Dubravka Samaržija, N. Antunac, M. Posavi, (1992.): Polimorfizam proteina mlijeka u goveda. *Stočarstvo*, 46:277-306
12. Ng-Kwai-Hang, K.F., J.F. Hayes, J.E. Moxley, H.G. Monardes, (1984.): Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 67: 835-840
13. Schaar, J., B. Hansson, H.E. Pettersson, (1985.): Effects of genetic variants of κ -casein and β -lactoglobulin on cheesemaking. *J. Dairy Res.*, 52: 429 - 437

ASSOCIATION OF β -LAKTOGLOBULIN WITH MILK YIELD OF CROATIAN SIMMENTAL II. GENE EFFECT

Summary

Effects of β -lactoglobulin locus on first lactation milk yield, kilograms of fat and fat percentage in milk samples from 195 Croatian Simmental cows were examined by gene substitution models after allele A was set to zero. Additive genetic variance due to β -lactoglobulin locus was calculated by formula $\sigma^2_A = 2pq \alpha^2$. The substitution of the B allele for the A allele was associated with decreased milk yield ($P=0,006$) and fat yield ($P=0,043$) but increased fat content ($P=0,003$). The contribution of β -lactoglobulin locus accounted for 4.1% of phenotypic variance in milk yield, 2.2% in fat yield and 4.9% in fat content. This study found that milk with allele A had higher milk and fat yield but allele B was associated with higher fat content. However, more research is necessary to confirm these findings before β -lactoglobulin alleles are included in selection.

Primljeno: 26. 11. 1993.