

GENOTIPOVI HEMOGLOBINA I NJIHOVA POVEZANOST S PROIZVODNJOM MLIJEKA KOD SARDINIJSKE OVCE I NJEZINIH KRIŽANACA

V. Sušić, K. Mikulec, Vlasta Šerman, S. Bencetić, D. Matičić

Sažetak

Istražene su ukupno 104 životinje. Od tog broja 31 ovca je bila sardinijske pasmine, a 73 križanci F2 generacije (istarska pramenka x sardinijska pasmina). Tipovi hemoglobina identificirani su pomoću celogel elektroforeze i na temelju toga izračunata je frekvencija Hb-genotipova i gena. Genotipovi AA, AB, i BB ustanovljeni su u skupini križanki, dok je u skupini sardinijskih ovaca izostala pojava genotipa AA. U obje istražene skupine Hb-gen B imao je veću frekvenciju (92%) u odnosu na Hb-gen A (8%). U posljednjem mjesecu laktacije sardinijske ovce s Hb genotipom BB proizvele su veću količinu mlijeka od ovaca s Hb genotipom AB. Razlika od 2.3 litre bila je statistički značajna ($P < 0.01$). U ostalim razdobljima laktacije razlike su bile male i neznačajne ($P > 0.05$).

Uvod

U odraslih zdravih ovaca najčešće se javljaju dva tipa hemoglobina-Hb A i Hb B. Razlike među tipovima rezultat su promjena u genetskom kodu koje dovode do supstitucije aminokiselina u globinskom dijelu molekule. Svaka supstitucija, osim što mijenja strukturu molekule, utječe i na njezin neto naboj, odnosno pokretljivost u električnom polju. To načelo se primjenjuje u elektroforezi tijekom koje se razdvajaju različite frakcije što predstavlja svojevrsno fenotipsko obilježje jedinke.

Harris i Warren (1955.) su prvi opisali različite tipove hemoglobina kod ovaca.

Evan s sur. (1956.) su izvijestili da je svaki tip hemoglobina kontroliran s dva autosomna-kodominantna gena koji se mogu javiti u tri fenotipske kombinacije: Hb AA, Hb AB i Hb BB. Nakon otkrića H u i s m a n a i sur. (1958.) da tip A ima veći afinitet prema kisiku, polimorfizam hemoglobina istražen je kod brojnih pasmina ovaca. Pregled tih istraživanja dali su Buschmann i Schmid (1968.) te Agar i sur. (1972.). Rezultati su, u većini slučajeva, pokazali karakterističnu učestalost tipova ovisno o području uzgoja: A tip češće je ustanovljen kod planinskih populacija, dok je B tip karakterističan za ravničarske populacije ovaca. U prilog tome

Mr. Velimir Sušić, asistent, dr. Krešimir Mikulec, red. prof., dipl. vet. Stjepan Bencetić, mladi istraživač, dipl. vet. Dražen Matičić, mladi istraživač, Zavod za stočarstvo; dr. Vlasta Šerman, red. prof., Zavod za hranidbu, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55.

idu i rezultati istraživanja promjene učestalosti tipova prilikom premještanja ovaca u nova klimatska područja, Pogačnik i sur. (1990.).

Neki autori (Budnikov i Bashkeev 1979., Dally i sur. 1980., Barovicz i Pacek 1984., Zanotti Casati i sur. 1990.) istraživali su povezanost Hb-tipova s reprodukcijom i proizvodnim osobinama ovaca. Različiti i često proturječni rezultati pokazuju da pretpostavku o povezanosti nije moguće sa sigurnošću prihvatiti ali ni odbaciti. To nameće potrebu sličnih istraživanja populacija ovaca različitih proizvodnih usmjerenja, držanih pod različitim ekološkim i uzgojno-selekcijanskim prilikama.

Naše istraživanje obavili smo u obalnom dijelu Istre, na sardinijskim ovcama uvezenim iz Italije i križancima između istarske pramenke i sardinijskih ovnova. Analizirana je varijabilnost hemoglobin genotipova, odnosno gena i njihova povezanost s proizvodnjom mlijeka.

Materijal i metode rada

Istražene su ukupno 104 životinje. Od tog broja 73 ovce su bili križanci F2 generacije između istarske pramenke i sardinijskih ovnova, a preostalo 31 grlo činile su čistokrvne sardinijske ovce.

Sve ovce su bile u dobi od približno 3 godine i držane u istom stadu pod ujednačenim uvjetima smještaja i hranidbe.

Za utvrđivanje tipova hemoglobina primijenjena je metoda elektroforeze na celogel trakama. Primijenjen je kontinuirani tris-glicin puferski sustav (pH 9.0). Elektroforeza je trajala 60 minuta uz stalni napon od 200 volti.

Količinu mlijeka mjerili smo izravno na liniji strojne mužnje, tijekom 1. laktacije istraženih ovaca. Vrijeme kontrole iznosilo je prosječno 120 dana i obuhvaćalo posljednje dvije trećine laktacije, od odbića do početka zasušivanja. Stoga se podaci o mliječnosti ovaca odnose na količinu pomuzenog mlijeka, bez količine koju je posisalo janje. Na ovakav način kontrole odlučili smo se uvažavajući tehnološke postupke uobičajene za iskorištavanje promatranih ovaca; najveći broj ovaca janji se u drugoj polovici siječnja; janjad ostaje na sisi oko 60 dana kada uslijedi odbić; ovce se strojno muzu od konca ožujka do kraja srpnja; tijekom kolovoza sve se ovce zasušuju i pripremaju za oplodnju kako bi se tempiralo vrijeme slijedećeg janjenja.

Pri formiranju skupina ovaca pod kontrolom vodili smo računa o datumu janjenja. U obzir su uzete ovce ojanjene unutar 10 dana tako da je razmak od janjenja do prve kontrole mliječnosti iznosio 60 ± 5 dana. nakon prve kontrole (ožujak), obavljene su još četiri uzastopne kontrole (travanj, svibanj, lipanj i srpanj) u razmacima koji nisu bili kraći od 26 ni duži od 33 dana.

Svaka kontrola sastojala se od dvokratne mužnje, tako da su večernja mužnja jednog dana i jutarnja mužnja slijedećeg dana činile dnevnu količinu mlijeka. Količina mlijeka utvrđena na dan kontrole izražena je u litrama i pomnožena s brojem dana koji je protekao između dvije uzastopne kontrole. Zbrajanjem količine mlijeka svih (ukupno 4) kontrolnih razdoblja za svaku pojedinačnu ovcu izračunata je količina pomuzenog mlijeka.

Varijacijsko statističku obradu podataka obavili smo služeći se postupcima koje

su opisali *Snedecor i Cochran* (1967.) te *Petz* (1985). Pri ocjeni značajnosti razlika između teoretski očekivanih i opaženih frekvencija genotipova i gena služili smo se *Hi-kvadrat* testom. Značajnost razlika između srednjih vrijednosti za mliječnost testirali smo *t-testom* i analizom varijance.

Rezultati i diskusija

Analizom uzoraka krvi u populacijama istraženih ovaca utvrđena su dva tipa hemoglobina. Pomoću standardnih uzoraka idnetificirali smo ih kao Hb A i Hb B. Ustanovljeni tipovi pojavili su se kod sardinijskih ovaca u dvije fenotipsko-genotipske kombinacije (Hb AB i Hb BB), a kod križanaca s istarskom ovcom u tri fenotipsko-genotipske kombinacije (Hb AA, Hb AB i Hb BB). Ovakav rezultat u skladu je s navodima *A g a r a i sur.* (1972.) koji su iznijeli podatke o varijabilnosti hemoglobina mnogobrojnih pasmina u svijetu. U većini slučajeva utvrđeni su upravo tipovi A i B, odnosno tri teoretski moguća genotipa (AA, AB, BB), dok je pojava drugih tipova kao npr. Hb F, Hb C i Hb D znatno rjeđa i vezana je za mlade dobne kategorije ovaca ili neka patološka stanja. Izostanak genotipa AA, utvrđen u skupini sardinijskih ovaca, može se razjasniti malim brojem istraženih životinja ili eventualnim selekcijskim učincima koji se mogu pojaviti dovodenjem životinja u nove uvjete uzgoja.

Broj opaženih genotipova poslužio nam je za izračunavanje frekvencije genotipova i gena, odnosno za usporedbu te frekvencije s teoretski očekivanom frekvencijom. Rezultati su upisani u tablicu 1.

Tab. 1. - FREKVENICIJA HB-GENOTIPOVA I ALELA U POPULACIJAMA SARDINIJSKE PASMINE I NJEZINIH KRIŽANACA SA ISTARSKOM OVCOM
FREQUENCY OF HB-GENOTYPES AND ALLELES IN THE POPULATIONS OF SARDINIAN BREED AND ITS CROSSES WITH ISTRAN EWES

Pasmina Breed	Distribucija Hb-tipova Distribution of Hb-typ.	Distribucija Hb-tipova Distribution of Hb-typ.			Hi-kvad. Chi-squ.	Frek. Hb-alela Hb-allel. freq.	
		AA	AB	BB		A	B
Sardin.	opaže. obser.	0	5	26	1.111	0.081	0.919
	oček. expe.	1	4	26			
Križanci Crossbr.	opaže. obser.	3	6	64	2.032	0.082	0.918
	oček. expe.	1	10	62			
Ukupno Total		3	11	90		0.082	0.918

Iz podataka je uočljiva visoka frekvencija BB genotipa u obje promatrane populacije. Ovaj genotip utvrđen je kod 87% svih istraženih ovaca, s tim da mu je učestalost u skupini križanki iznosila 88%, a u skupini sardinijskih ovaca 84%. Frekvencija AB genotipa bila je znatno niža (8% kod križanki i 16% kod sardinijskih ovaca), dok su AA genotip imale smo tri ovce i to sve iz skupine križanki. Razlike u frekvenciji

genotipova između dvije istražene populacije nisu bile statistički značajne ($P > 0.05$). Isto je utvrđeno i za odstupanja od teoretski očekivanih vrijednosti, pa se može zaključiti da su obje populacije bile u genetičkoj ravnoteži.

Specifičnost populacija preciznije prikazuje relativna učestalost hemoglobinskih alela. U našem slučaju ona pokazuje za obje istražene populacije istu vrijednost od približno 8% za gen A i 92% za gen B. Brojčanu nadmoćnost B alela utvrdili su za sardinijsku pasminu i *Dassati Sartore* (1962.) te *Zanotti Casati* i sur. (1990.). Takvi rezultati pokazuju moguću selektivnu prednost tog tipa hemoglobina u evoluciji ove pasmine. Budući da u literaturi nismo našli podatke o varijabilnosti hemoglobina u populaciji istarske pramenke, bilo bi zanimljivo obaviti takva istraživanja. Ona bi pružila podatke o genetskim specifičnostima domaćih ovaca kao i o eventualnim promjenama tih specifičnosti tijekom postupka križanja s drugim pasminama.

Rezultati istraživanja povezanosti tipa hemoglobina i proizvodnje mlijeka pokazali su da unutar istraženih populacija različiti genotipovi očituju različitu razinu mliječnosti. Iz podataka upisanih u tablicu 2. može se zapaziti da su u skupini križanki najveću ukupnu količinu mlijeka proizvele ovce s genotipom AB. Njihova prosječna mliječnost bila je veća za 0.8 i 1.4 litre u odnosu na prosječnu mliječnost AA i AB genotipova. Razlike nisu bile statistički značajne ($P > 0.05$).

Tab. 2. - UKUPNA PROIZVODNJA MLIJEKA OVACA S RAZLIČITIM HB-GENOTIPOVIMA
TOTAL MILK PRODUCTION OF EWES WITH DIFFERENT HB-GENOTYPES

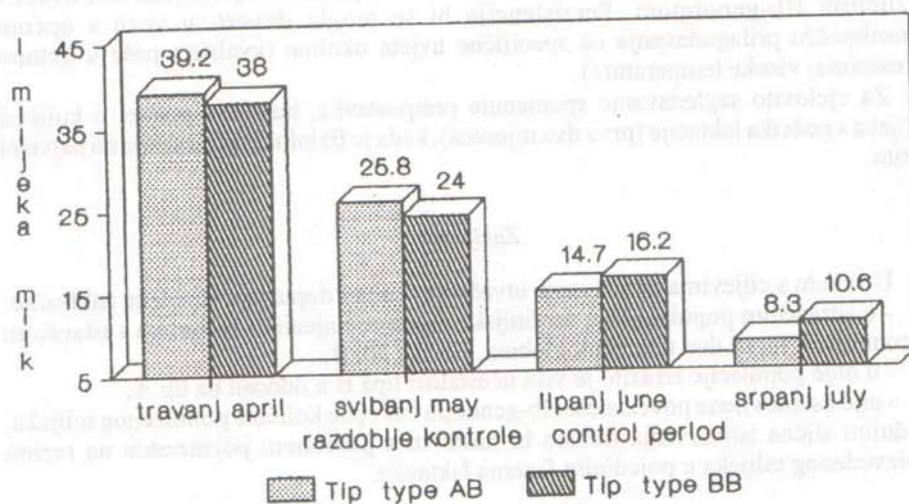
Hb-type	Proizvodnja mlijeka				Milk production			
	Sardinijska		Sardinian		Križanci		Crossbred	
	N	\bar{X}	S	KV%	N	\bar{X}	S	KV%
Ukupno Total	31	88.7	5.7	6.4	73	85.0	15.1	17.8
AA					3	85.5	7.2	8.4
AB	5	88.0	3.3	3.8	6	86.3	6.5	7.5
BB	26	88.9	6.1	6.9	64	84.9	15.9	18.7

U skupini sardinijskih ovaca, životinje s AB i BB genotipom imale su općenito višu proizvodnju mlijeka u usporedbi s istim genotipovima kod križanski. Unutar skupine mliječnost je bila viša kod ovaca s BB genotipom, a razlika od 0.9 litara u odnosu na AB genotip nije bila statistički značajna ($P > 0.05$). Promatrajući rezultate po pojedinim kontrolnim razdobljima, kod sardinijskih ovaca (grafikon 1.) s AB genotipom može se zapaziti naglo opadanje mlijeka idući prema kraju muznog razdoblja.

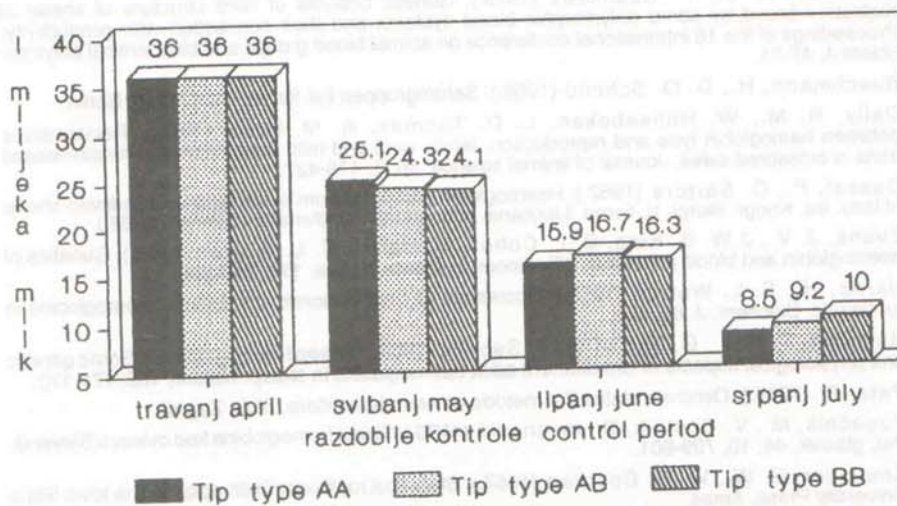
Ta pojava imala je odraza naročito na mliječnost u posljednjem razdoblju mužnje (srpanj) kada su ovce s ovim genotipom očitovale za 2.3 litre manju prosječnu proizvodnju od ovaca s genotipom BB. Navedena razlika bila je statistički značajna ($P < 0.01$).

Slična tendencija, više mliječnosti BB genotipa u završnoj fazi laktacije, može se zapaziti i u skupini križanki (grafikon 2.). Međutim razlike između genotipova u toj skupini su male, nisu statistički značajne ($P > 0.05$) i nisu imale bitnijeg utjecaja na ukupnu količinu pomuzenog mlijeka.

V. Sušić i sur.: Genotipovi hemoglobina i njihova povezanost s proizvodnjom mlijeka kod sardinijske ovce i njezinih križanaca



Grafikon 1. - MLIJEČNOST SARDINIJSKIH OVACA S RAZLIČITIM HB-TIPOM
MILK PRODUCTION OF SARDINIAN EWES WITH DIFFERENT HB-TYPE



Grafikon 2. - MLIJEČNOST KRIŽANACA S RAZLIČITIM HB-TIPOM
MILK PRODUCTION OF CROSSBREED WITH DIFFERENT HB-TYPE

Navedeno upućuje na pretpostavku o različitoj perzistenciji mlijeka kod ovaca s različitim Hb-genotipom. Perzistencija bi se mogla dovesti u vezu s općom sposobnošću prilagođavanja na specifične uvjete okoline (kvaliteta paše u ljetnim mjesecima; visoke temperature).

Za cjelovito sagledavanje spomenute pretpostavke, nužni su podaci o količini mlijeka s početka laktacije (prva dva mjeseca), kada je fiziološki proizvodnja na najvišoj razini.

Zaključak

U skladu s ciljevima istraživanja utvrđeni rezultati dopuštaju slijedeće zaključke:

- u istraženim populacijama sardinijske pasmine i njezinih križanaca s istarskom ovcom utvrđena su dva tipa hemoglobina, Hb A i Hb B;
- u obje populacije izrazito je viša učestalost tipa B u odnosu na tip A;
- nije ustanovljena povezanost Hb-genotipa i ukupne količine pomuzenog mlijeka, međutim slična istraživanja trebalo bi nastaviti s posebnom pozornošću na razinu proizvedenog mlijeka u pojedinim fazama laktacije.

LITERATURA

1. Agar, N. S., J. V. Evans, J. Roberts (1972.): Red blood cell potassium and haemoglobin polymorphism in sheep. *Animal Breeding Abstracts*, 40, 3, 407-436.
2. Barowicz, T., K. Pacek (1984.): Relationship between productivity and haemoglobin types in Polish long-wool sheep. 35. Annual meeting of the EAAP, 6.-9. August, Hague.
3. Budnikov, A. B., F. Bashkeev (1979.): Genetic analysis of herd structure of sheep of Kujbishev breed by some polymorphic blood systems and their connection with productivity. Proceedings of the 16 international conference on animal blood groups and biochemical polymorphism 4, 47-51.
4. Buschmann, H., D. O. Schmid (1968.): Serumgruppen bei tieren. Paul Parey, Berlin.
5. Dally, R. M., W. Hohenboken, L. D. Thomas, A. M. Craig (1980.): Relationships between hemoglobin type and reproduction, lamb, wool and milk production and health-related traits in crossbred ewes. *Journal of animal science*, 50, 3, 418-427.
6. Dassat, P., G. Sartore (1962.): Haemoglobin and potassium blood types in Sardinian sheep of Italy. *Int. Kongr. Blutgr. b. tieren*, Ljubljana. (Cit. prema Buschmann i Schmid, 1968.).
7. Evans, J. V., J.W. B. King, B. L. Cohen, H. Harris, F. L. Warren (1956.): Genetics of haemoglobin and blood potassium differences in sheep. *Nature*, 178, 849-850.
8. Harris, H., F. L. Warren (1955.): Occurrence of electrophoretically distinct haemoglobins in ruminants. *Biochem. J.* 60: xxix.
9. Huisman, T. H. J., G. Van Vliet, T. Sebens (1958.): Sheep haemoglobins. I. Some genetic and physiological aspects of two different adult haemoglobins in sheep. *Nature*, 182. 171-172.
10. Petz, B. (1985.): Osnovne statističke metode za nematematičare. SNL, Zagreb.
11. Pogačnik, M., V. Cestnik, S. Jovanović (1990.): Tipovi hemoglobina kod ovaca u Sloveniji. *Vet. glasnik*, 44, 10, 799-801.
12. Snedecor, G. W., W. G. Cochran (1967.): *Statistical methods*. Sixth edition. The Iowa State University Press, Ames.
13. Zanotti Casati, M., G. C. Gandini, P. Leone (1990.): Genetic variation and distances of five Italian native sheep breeds. *Animal genetics*, 21, 87-92.
14. Zanotti Casati, M., R. Rizzi, G. Pagnacco, F. Luzi, G. Rognoni (1990.): Marker genes and their association with production and reproduction in "delle Langhe" sheep. *J. anim. breed. genet.*, 107, 96-103.

HAEMOGLOBIN GENOTYPES AND THEIR ASSOCIATION WITH MILK PRODUCTION OF SARDINIAN EWES AND ITS CROSSBREDS

Summary

The total number of 104 animals was investigated. Out of that number 31 ewes were of Sardinian breed and 73 were crosses (Istrian pramenka x Sardinian). Haemoglobin types were identified by means of celogel electrophoresis and gene frequencies were calculated. Genotypes AA, AB and BB were found in Istrian crosses, while in the group of Sardinian ewes AA genotype was missing. In both groups investigated Hb gene B had higher frequency (92%) than Hb gene A (8%). In the last month of lactation Sardinian ewes with Hb BB genotype had higher milk yield than ewes with Hb Ab genotype. The difference of 2.3 litres was statistically significant ($P < 0.01$). Differences in other periods of lactation were small and non-significant ($P > 0.05$).

Primljeno: 12. 7. 1993.