

UTJECAJ SELEKCIJE NA FREKVENCIJE GENOTIPOVA I GENA ZA HEMOGLOBIN OVACA

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

Sažetak

Promjene u frekvenciji hemoglobin genotipova i gena, pod uvjetima selekcije, istražene su u populaciji od 85 ovaca. Životinje su bili križanci F2 generacije između istarske pramenke i sardinijskih ovnova. Tipovi hemoglobina utvrđeni su pomoću elektroforeze na celogel trakama, a selekcija je obavljena s obzirom na visinu do grebena, dužinu trupa, dubinu prsa i proizvodnju mlijeka. Niski i srednji kriteriji selekcije nisu prouzročili značajnije promjene u frekvencijama genotipova i gena. Primjenom visokog selekcijskog kriterija utvrđeno je povećanje frekvencije Hb-gena A (kod selekcije na tjelesne mjere) odnosno Hb-gena B (kod selekcije na proizvodnju mlijeka).

Uvod

Bjelančevinski dio hemoglobina naziva se globin i građen je od četiri polipeptidna lanca. Varijacije u strukturi tih lanaca uzrokom su pojave različitih formi molekula, pa u krvi čovjeka i većine životinjskih vrsta možemo opaziti polimorfne tipove hemoglobina.

Kod odraslih zdravih ovaca najčešće se javljaju dva tipa hemoglobina: hemoglobin A i hemoglobin B. Uloga tipova nije potpuno razjašnjena ali njihovo postojanje upućuje na to da su važni za preživljavanje i biološku funkciju organizma.

Spoznaje o genetskoj određenosti tipova (E v a n s i sur. 1956.), te ulozi polimorfizma (R a u s h e n b a c h i K a m e n e k 1979.), potakle su veći broj autora na istraživanje frekvencije Hb-genotipova i gena kod različitih pasmina ovaca (B u s c h m a n n i S c h m i d 1968., A g a r i sur. 1972., M a k a v e e v 1984., O r d a s i S a n P r i m i t i v o 1986., Z a n o t t i C a s a t i i sur. 1990., P o g a č n i k i sur. 1990.). Rezultati su ukazali na moguću selektivnu prednost određenog tipa u specifičnim uzgojnim prilikama. Kako su te prilike rezultat djelovanja s jedne strane prirodnih čimbenika, a s druge strane uzgajivačkog rada čovjeka, neki autori istraživali su ulogu tipova hemoglobina u adaptaciji na okolišne uvjete (P o g a č n i k 1990.) i genetskoj izgradnji proizvodnih tipova ovaca (M a k a v e e v i sur. 1982., O r d a s

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

i San Primitivo 1986., Zanotti Casati 1990.). Spoznaje da u slučaju premještanja ovaca u nove okolišne uvjete može doći do značajne promjene u frekvenciji Hb-gena, odnosno da pasmine s istim proizvodnim usmjerenjem očituju slične frekvencije tipova, upućuju da bi učinci prirodne i umjetne selekcije mogli igrati značajnu ulogu u zastupljenosti Hb- genotipova i gena u populaciji. Kako bi se moglo sigurnije zaključivati o navedenoj pretpostavci nužno je dosadašnje rezultate potvrditi istraživanjima što većeg broja različitih populacija ovaca, držanih u specifičnim ekološkim i uzgojno selekcijskim prilikama.

U našem radu nastojali smo kod domaćih ovaca utvrditi da li selekcija, kojom se daje prednost ovcama s određenim obilježjima vanjštine i proizvodnosti, mijenja frekvenciju hemoglobin genotipova i gena. Pri izboru selekcijskih obilježja odlučili smo se za određene tjelesne mjere i mliječnost, uvažavajući činjenicu o značaju tjelesne razvijenosti za proizvodnju kao i činjenicu da je u relativno malom broju radova istraživana povezanost tipova hemoglobina s proizvodnjom mlijeka kod ovaca.

Materijal i metode rada

U istraživanje je uključeno ukupno 85 ovaca, križanki F2 generacije između istarske pramenke i ovnova sardinijske pasmine.

Punkcijom jugularne vene svakoj ovci izvađen je uzorak krvi koji je zajedno s antikoagulansom obrađen i pripremljen za analizu na tipove hemoglobina. Primijenjena je metoda elektroforeze na celogel trakama. Spomenute trake veličine 5,7 x 14 cm stajale su uronjene u tris-glicin pufer (pH 9.0) oko 10 minuta. Nakon vađenja trake su učvršćene na most (8,5 cm) i smještene u kadu s navedenim puferom. Uzorci hemolizata nanoseni su na traku pomoću semimikro aplikatora na 2 cm od katodnog kraja. Elektroforeza je obavljena uz stalni napon od 200 volti, u trajanju od 60 minuta.

Simuliranu selekciju ovaca obavili smo s obzirom na njihovu visinu do grebena, dužinu trupa, dubinu prsa i količinu proizvedenog mlijeka.

Tjelesne mjere utvrdili smo pomoću Lydtinova štapa. Mjerenje je obavljeno u prosječnoj dobi ovaca od 1,5 godine.

Mliječnost je analizirana kao količina pomuzenog mlijeka (bez mlijeka koje je posisalo janje) tijekom 1. laktacije promatranih ovaca. Razdoblje mužnje trajalo je prosječno 120 dana i obuhvaćalo vrijeme od odbića janjadi do početka zasušivanja ovaca. U tom periodu obavljeno je ukupno 5 jednodnevnih kontrola mliječnosti. Razmak od janjenja do prve kontrole iznosio je 60 ± 5 dana, a nakon te kontrole uslijedile su još 4 u razmacima od 26 do 33 dana. Dnevnu mliječnost činio je zbroj rezultata dvokratne kontrole (večernje i jutarnje slijedećeg dana) koju smo obavili izravno na liniji strojne mužnje. Mliječnost na dan kontrole izražena je u litrama i pomnožena s brojem dana proteklim od posljednje kontrole čime je izračunata mliječnost u jednomjesečnom razdoblju. Zbrajanjem mliječnosti svih 4 mjesečnih razdoblja utvrđena je ukupna količina pomuzenog mlijeka za svaku pojedinačnu ovcu.

Za sve tjelesne mjere i mliječnost provedena je osnovna statistička obrada te provjera da li su raspoređeni po normalnoj raspodjeli. Zatim je obavljeno "sređivanje" niza podataka svrstavanjem varijabli od najveće do najmanje. Kod svakog obilježja primijenjena su 3 različita kriterija selekcije:

1. Niski kriterij-za stvaranje slijedeće generacije odabrali smo ovce čija je veličina obilježja bila jednaka ili veća od prosjeka populacije umanjenog za 1 standardnu devijaciju. (Oznaka: sel. $\geq \bar{X} - 1s$).
2. Srednji kriterij-za stvaranje slijedeće generacije odabrali smo sve ovce čija je veličina obilježja bila jednaka ili veća od prosjeka populacije. (Oznaka: sel. $\geq \bar{X}$).
3. Visoki kriterij-za stvaranje slijedeće generacije odabrali smo sve ovce čija je veličina obilježja bila jednaka ili veća od prosjeka populacije uvećanog za 1 standardnu devijaciju. (Oznaka: sel $\geq \bar{X} + 1s$).

Nakon selekcije, u skupini odabranih ovaca izračunata je frekvencija genotipova odnosno gena i uspoređena s frekvencijom prije selekcije. Značajnost razlika provjerena je Hi-kvadrat testom.

Rezultati i diskusija

U uzorcima krvi istraženih ovaca utvrđena su dva tipa hemoglobina. Njihovo razlikovanje omogućeno je na temelju različite pokretljivosti tijekom elektroforeze. Molekule s manjom pokretljivošću zgusnule su se u prugu smještenu na većoj udaljenosti od anodnog kraja, dok su molekule s bržim kretanjem zastale u pruzi smještenoj bliže anodnom kraju. Prve smo označili kao hemoglobin tip B, a druge kao hemoglobin tip A. Ovisno o tome da li uzorak krvi pojedine ovce sadrži jedan ili mješavinu oba tipa, promatrane ovce smo prema genotipu podijelili u tri skupine: AA homozigoti, AB heterozigoti i BB homozigoti.

U tablicu 1 upisani su podaci o frekvenciji hemoglobin genotipova i gena kod istraženih ovaca.

Tab. 1. - FREKVENCIJA HEMOGLOBIN GENOTIPOVA I GENA KOD ISTRAŽENIH OVACA
HEAMOGLOBIN GENOTYPE AND GENE FREQUENCIES OF INVESTIGATED EWES

Broj istraženih ovaca Number of invest. ewes	Hb - genotip			Hb - gen	
	AA	AB	BB	A	B
85	2	8	75	0.071	0.929

Iz podataka se može uočiti visoka frekvencija BB genotipa koji je utvrđen kod 75 ovaca. Zastupljenost druga dva genotipa bila je znatno niža i kretala se od 8 životinja s genotipom AB do samo 2 životinje s genotipom AA.

Ovakva distribucija genotipova imala je odraza i na učestalost pojedinih hemoglobin gena. Brojnost BB homozigota utjecala je na izrazito visoku frekvenciju gena B čiji je relativni udio u ukupnom broju gena za hemoglobin iznosio oko 93% prema približno 7% gena A.

Podatke o promjenama u frekvenciji Hb-genotipova i gena prilikom selekcije na tjelesne mjere upisali smo u tablicu 2. Radi lakše usporedbe u tablicu su upisani i podaci o frekvenciji prije selekcije.

Tab. 2. - PROMJENE U FREKVENCiji HB-GENOTIPOVA I GENA POD UVJETIMA SELEKCIJE NA TJELESNE MJERE
CHANGES IN HB-GENOTYPES AND GENES FREQUENCIES IN THE CONDITIONS OF SELECTION FOR BODY MEASUREMENTS

VISINA DO GREBENA Wither height						
SELEKCIJSKI KRITERIJ Sel. criteria	N	Hb-genotip			Hb-gen	
		AA	AB	BB	A	B
Prije selekcije - Before sel.	85	2	8	75	0.071	0.929
Sel. $\geq \bar{X} -1s$	73	2	7	64	0.075	0.925
Sel. $\geq \bar{X}$	48	2	4	42	0.083	0.917
Sel. $\geq \bar{X} +1s$	19	1	4	14	0.158	0.842
DUŽINA TRUPA Body length						
SELEKCIJSKI KRITERIJ Sel. criteria	N	Hb-genotip			Hb-gen	
		AA	AB	BB	A	B
Prije selekcije - Before sel.	85	2	8	75	0.071	0.929
Sel. $\geq \bar{X} -1s$	78	2	6	70	0.064	0.936
Sel. $\geq \bar{X}$	57	2	4	51	0.070	0.930
Sel. $\geq \bar{X} +1s$	11	1	3	7	0.227	0.773
DUBINA PRSA Chest depth						
SELEKCIJSKI KRITERIJ Sel. criteria	N	Hb-genotip			Hb- gen	
		AA	AB	BB	A	B
Prije selekcije - Before sel.	85	2	8	75	0.071	0.929
Sel. $\geq \bar{X} -1s$	76	2	6	68	0.066	0.934
Sel. $\geq \bar{X}$	46	2	4	40	0.087	0.913
Sel. $\geq \bar{X} +1s$	20	1	4	15	0.150	0.850

Rezultati pokazuju da primjenom niskog ili srednjeg selekcijskog kriterija nije značajnije narušena frekvencija koju smo za Hb genotipove i gene opazili prije selekcije. U prilog tome govori poglavito frekvencija Hb-gena koja se zadržala na približno istoj razini usprkos značajnog izlučivanja ovaca s genotipom BB.

Primjenom visokog selekcijskog kriterija došlo je do većeg odstupanja u frekvencijama Hb-genotipova i gena. Naročito je to izraženo u slučaju selekcije na dužinu trupa koja je dovela do povećanja frekvencije gena A od početnih 7% na približno 23%. Navedeno ukazuje na selektivnu prednost AA homozigota i AB heterozigota u odnosu na BB homozigote. Slično je utvrđeno i kod selekcije na visinu do grebena i dubinu prsa, međutim u slučaju ovih mjera povišenje učestalosti gena A nije bilo tako izraženo (frekvencija je porasla od početnih 7% na 15-16%).

Ovakvi rezultati upućuju na moguću povezanost Hb-gena A i gena koji utječu na tjelesnu razvijenost. Potreban oprez u tumačenju opaženih rezultata nužan je poglavito

radi činjenice da smo genotipove AA i AB utvrdili kod relativno malog broja životinja. To nameće potrebu većeg zahtjeva u pogledu statističke vjerojatnosti. Naše analize pokazale su da kod većine promatranih obilježja razlike u frekvencijama Hb-genotipova i gena između skupina selekcioniranih ovaca nisu statistički značajne ($P > 0,05$). Izuzetak je činilo obilježje dužine trupa kod kojeg je za skupinu visoko selekcioniranih ovaca ustanovljena statistički značajno ($P < 0,05$) viša frekvencija gena A (i proporcionalno niža frekvencija gena B) u odnosu na skupine neselekcioniranih i nisko odnosno srednje selekcioniranih ovaca.

Što se tiče promjena u frekvenciji Hb-genotipova i gena pod uvjetima selekcije na količinu pomuzenog mlijeka (tablica 3), uočljivo je da s povišenjem selekcijskog kriterija dolazi do snižavanja frekvencije gena A. Štoviše, primjenom visokog kriterija došlo je do njegovog potpunog isčezavanja iz populacije što znači da su skupinu odabranih ovaca činile isključivo ovce s genotipom BB. Iako razlike između skupina odabranih ovaca nisu bile statistički značajne ($P > 0,05$) ovakav rezultat ukazuje na moguću povezanost gena B s proizvodnjom mlijeka kod ovaca. Spomenutu pretpostavku podupiru i rezultati istraživanja frekvencije Hb-genotipova i gena kod specijaliziranih visokomliječnih pasmina ovaca. Tako je *Meveer* 1963. utvrdio višu učestalost gena B u odnosu na gen A kod ovaca istočnofrizijske pasmine, a isto su ustanovili *Dassati Sartore* 1962. za sardinijsku, te *Evans* i sur. 1958. za avasi pasminu.

Tab. 3. - PROMJENE U FREKVENCIJAMA HB-GENOTIPOVA I GENA POD UVJETIMA SELEKCIJE NA PROIZVODNJI MLIJEKA
CHANGES IN HB-GENOTYPES AND GENES FREQUENCIES IN THE CONDITIONS OF SELECTION FOR MILK PRODUCTION

PROIZVODNJA MLIJEKA Milk production						
SELEKCIJSKI KRITERIJ Sel. criteria	N	Hb-genotip			Hb-gen	
		AA	AB	BB	A	B
Prije selekcije - Before sel.	85	2	8	75	0.071	0.929
Sel. $\geq \bar{X} - 1s$	76	2	8	66	0.079	0.921
Sel. $\geq \bar{X}$	39		2	37	0.026	0.974
Sel. $\geq \bar{X} + 1s$	9			9	0.000	1.000

Zaključak

Na osnovi rezultata do kojih smo došli istraživanjem promjena u frekvenciji hemoglobin genotipova i gena pod uvjetima na tjelesne mjere i mliječnost ovaca zaključujemo slijedeće:

- niski i srednji kriteriji selekcije na visinu do grebena, dužinu trupa, dubinu prsa i količinu pomuzenog mlijeka nisu prouzročili značajnije promjene u frekvenciji hemoglobin genotipova i gena,

- primjenom visokog selekcijskog kriterija na tjelesne mjere došlo je do povećanja učestalosti hemoglobin gena A. U slučaju dužine trupa, skupina visoko selekcioniranih

ovaca imala je za oko 16% višu učestalost Hb-gena A u odnosu na ostale skupine ovaca (neselekcioniranih te selekcioniranih prema niskom i srednjem kriteriju). Razlike su bile statistički značajne ($P < 0,05$).

-povišenjem selekcijskog kriterija na mliječnost rasla je frekvencija Hb-gena B, a primjena visokog kriterija dovela je do potpunog izlučenja hemoglobin gena A.

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. Buschmann, H., D.O. Schmid (1968.): Serumgruppen bei tieren. Paul Parey, Berlin.
3. 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.).
4. 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.
5. Evans, J. V., H. Harris, F. L. Warren (1958.): Haemoglobin and potassium blood types in some non-British breeds of sheep and in certain rare British breeds. *Nature* 182, 320. (Cit. prema Buschmann i Schmid, 1968.)
6. Makaveev, Ts., M. Baoulov, I. Penkov (1982.): Genetic polymorphism and activity of some enzymes in the blood of sheep with varying direction and level of production. IV. Biochemical characters with alternating variability in the blood of sheep from the caucasian fine-wooled breed. *Genetics and plant breeding*, 15, 67-79.
7. Makaveev, Ts. (1984.): Haemoglobin genetic polymorphism in erythrocytes of some sheep breeds in Bulgaria. *Genetics and plant breeding*, 17, 56-63.
8. Meyer, H. (1963): Vorkommen und Verbreitung der Haemoglobin typen in deutschen Schafrasen. *Ztschr. Tierz. Zuchtbiol.* 79, 163. (Cit. prema Buschmann i Schmid, 1968.)
9. Ordas, J. G., F. San Primitivo (1986): Genetic variations in blood proteins within and between Spanish dairy sheep breeds. *Animal genetics*, 17, 255-266.
10. Pogačnik, M., V. Cestnik, S. Jovanović (1990.): Tipovi hemoglobina kod ovaca u Sloveniji. *Vet. glasnik*, 44, 10, 799-801.
11. Raushebach, Yu. I., V. M. Kamenek (1979): The role of biochemical polymorphism in ecologo-genetical differentiation of animals and its significance in selection for resistance to extreme environmental conditions. *Proceedings of the XVI international conference on animal blood groups and biochemical polymorphism* 4, 58-63.
12. Zanotti Casati, M., G. C. Gandini, P. Leone (1990.): Genetic variation and distances of five Italian native sheep breeds. *Animal genetics*, 21, 87-92.

INFLUENCE OF SELECTION ON HAEMOGLOBIN GENOTYPE AND GENE FREQUENCIES IN SHEEP

Summary

Changes in haemoglobin genotype and gene frequencies in the conditions of selection were investigated in the population of 85 crossbred ewes (F2 Istrian pramenka x Sardinian rams). Hemoglobin types were identified by the aid of celogel electrophoresis. Selection was done for three body measurements (withers height, body length and chest depth) and milk production. Selection with low and medium criteria did not cause significant changes in genotype and gene frequencies. Applying high selection criteria, higher Hb-gene A frequency was observed in the case of selection for body measurements. The same was observed for Hb-gene B when high criteria were used for milk production.

Primljeno: 15. 9. 1993.