

RAPPORT B-156

ONDERZOEK NAAR ERFELIJKE VERSCHILLEN
IN KOPERGEVOELIGHEID BIJ SCHAPEN

W. Zaalmink, Dr. G.J. Garssen &
Drs. A.H. Visscher

november 1979

Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek "Schoonoord"
Driebergseweg 10d, Zeist tel. 03404-17111

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS

BIBLIOTHEEK
VON
LANDBOUWSCHOOL
WAGENINGEN

15N = 103691-03

INHOUDSOPGAVE

	<u>blz.</u>
1. INLEIDING	1
2. KOPERVERGIFTIGING	3
2.1. Oorzaken van kopervergiftiging	3
2.2. Symptomen bij kopervergiftiging	3
3. LITERATUUROVERZICHT	4
4. MATERIAAL	6
5. METHODEN	7
5.1. Werkwijze	7
5.2. Instrumentaal	7
5.3. Bloedparameters	8
5.4. Kopergehalte in de lever	10
5.5. Verwerking der gegevens	10
6. RESULTATEN	12
6.1. Hemoglobine en hematocriet	12
6.2. Ceruloplasmine, totaal plasma- en vrij plasmakoper	14
6.3. Alkalische fosfatase en γ -GT	17
6.4. Leverkopergehalte	19
6.5. Hemoglobine-type	21
7. GENETISCHE PARAMETERS	22
8. DISCUSSIE	25
8.1. Algemeen	25
8.2. Relatie plasma koper, ceruloplasmine en leverkoper	26
8.3. Relatie hoeveelheid opgenomen krachtvoer met lever- kopergehalte	27
8.4. Het levermonster	28
9. SAMENVATTING	29
10. LITERATUUR	31

ONDERZOEK NAAR ERFELIJKE VERSCHILLEN IN KOPERGEVOELIGHEID BIJ SCHAPEN

W. Zaalmlink*, Dr. G.J. Garssen** en Drs. A.H. Visscher**

1. INLEIDING

Het schaap is in het algemeen gevoelig voor koper. Enerzijds kan een kopergebrek leiden tot verschillende abnormaliteiten, zoals 'zwaaiगत', anderzijds kan door een teveel aan koper het schaap geheel te gronde gaan. De tolerantie van het schaap ten opzichte van koper is veel lager dan bij andere diersoorten. Bij mestvarkens wordt vaak koper aan het voer toegevoegd vanwege de groeistimulerende werking (tot 250 ppm), koeien kunnen een concentratie van 50 ppm in de droge stof nog verdragen, terwijl bij schapen een koperconcentratie wordt aangegeven van niet meer dan 15 ppm (BEKEDAM & HERWEIJER, 1978).

Er zijn aanwijzingen dat er rasverschillen zijn in kopergevoeligheid bij schapen. Bekend is dat de Texelaar gevoelig is voor koper, terwijl andere rassen relatief vrij veel koper kunnen verdragen (LÜKE & MARQUERING, 1972). In het buitenland hebben enkele onderzoekers zich met dit probleem bezig gehouden; in Nederland is een rasvergelijkend onderzoek nog niet eerder verricht.

Het probleem van kopervergiftiging gaat de laatste jaren een steeds grotere rol spelen, en wel om de volgende redenen:

1. door besmetting van weilanden met varkensmest welke zeer veel koper bevat
2. door de kunstmatige opfok van lammeren tot één à twee maanden, waarna ze met krachtvoer slachtrijp worden gemaakt. Aan dit krachtvoer moeten hoge eisen gesteld worden ten aanzien van het kopergehalte.

* Student Vakgroep Veefokkerij van de Landbouwhogeschool.

** Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek "Schoonoord".

In dit opzicht is het interessant na te gaan welke rassen kopergevoelig zijn en in hoeverre deze gevoeligheid binnen rassen erfelijk bepaald is. Daarnaast is het doel van dit onderzoek het meten van enkele parameters welke met kopergevoeligheid te maken kunnen hebben van enkele schapenrassen en een kruisingsprodukt.

2. KOPERVERGIFTIGING

Van het koper, dat opgenomen wordt met het voer, wordt zeer weinig geresorbeerd (5 - 10 % , VAN KOETSVELD, 1954). Van dit geresorbeerde koper wordt een gedeelte weer uitgescheiden met de gal en het overgeblevene wordt opgeslagen in de lever en in mindere mate in de nieren en hersenen. In 8.1 wordt nader op de route van het koper in het lichaam ingegaan.

2.1. Oorzaken van kopervergiftiging

Kopervergiftiging kan onderscheiden worden in acuut en chronisch (SOL, 1970). De acute kopervergiftiging is het gevolg van onmiddellijke vergiftiging door toevoeging van veel koper in het voer, de chronische vergiftiging ontstaat door een langdurig opnemen van voer met een hoog kopergehalte. De chronische kopervergiftiging wordt in de literatuur nog onderverdeeld in primaire vergiftiging, welke optreedt bij langdurige verstrekking van koperrijk voer, en secundaire vergiftiging, welke ontstaat doordat in het voer bepaalde stoffen aan- of afwezig zijn die de koperopslag in de lever bevorderen. Weinig molybdeen in het voer bevordert de koperopname door de darmwand. Zo bestaan er ook interacties met ijzer, zink, mangaan en sulfaten.

2.2. Symptomen bij kopervergiftiging

De symptomen van een chronische kopervergiftiging treden pas op als het kopergehalte in de lever een bepaald niveau bereikt heeft. Is deze limiet bereikt dan treedt er, door een verminderde leverfunctie, geelzucht op, gepaard met een verhoogde lichaamstemperatuur, hemoglobinurie en een verhoogd bloedkopergehalte, waarna de dood volgt (The Merck Veterinary Manual, 1973). De kopergehalten in het bloed kunnen dan het 10-voudige van het normale zijn (Todd, 1962).

Al enkele weken voor het optreden van de klinische symptomen bestaat er een sterke disfunctie van de lever (VAN ADRICHEM, 1965). Dit is te meten aan enkele leverspecifieke enzymen als sorbitoldehydrogenase, laktaatdehydrogenase, alkalische fosfatase en γ -glutamyltranspeptidase. Deze enzymen geven bij leverbeschadiging een verhoogde activiteit te zien.

3. LITERATUUROVERZICHT

Het probleem van kopervergiftiging komt veel voor in de literatuur. Zo worden in het Tijdschrift voor Diergeneeskunde nogal eens praktijkgevallen beschreven welke met kopervergiftiging te maken hebben (VAN ULSEN, 1972, WENSVOORT et al., 1975). Onderzoek hiernaar is veel gedaan, maar veelal op individu-niveau. Op populatie-niveau is er veel minder onderzoek naar gedaan. WIENER is één van de onderzoekers die in de loop der tijd veel aandacht heeft geschonken aan verschillen in kopergehalten tussen schapenrassen. Hij vond significante rasverschillen in bloedkoperconcentratie tussen Blackface, Cheviot en Welsh Mountain. De kruisingen hiertussen vertoonden een zekere heterosis ten opzichte van het bloedkopergehalte (WIENER et al., 1969). Binnen rassen vond hij een positieve regressie van bloedkopergehalte op lichaamsgewicht. Later werden enkele dieren van deze rassen ingespoten met een bepaalde hoeveelheid koper, waarbij een significant ras-effekt werd gevonden voor het kenmerk sterftepercentage (WIENER & MACLEOD, 1970). Het ras met het hoogste bloedkopergehalte had hier ook het hoogste sterftepercentage.

Er werd verband gevonden tussen het voorkomen van 'zwaaiगत' en het bloedkopergehalte (WIENER, 1971). In sommige jaren kwam bij schapen met lage kopergehalten in het bloed relatief veel 'zwaaiगत' voor.

Er is ook een vergelijkend onderzoek uitgevoerd met Merino en Finse Landras (HAYTER, WIENER & FIELD, 1973). Het Finse Landras had het laagste bloedkopergehalte. Hierbij wordt de veronderstelling gemaakt dat door de geografisch verschillende oorsprong deze rassen onderworpen zijn geweest aan een verschillende selectiedruk voor koperretentie.

Er werd een significant verband gevonden tussen bloedkoperconcentratie en het hemoglobine (Hb)-type (WIENER, HALL & HAYTER, 1973). Binnen rassen had Hb-type BB een hoger bloedkopergehalte dan Hb-type AA. Hb-type AB lag er precies tussen in. Bij correctie voor Hb-type bleef er een significant raseffekt voor het bloedkopergehalte. Voor het plasmakopergehalte werd toen geen significant verband gevonden. In een later experiment werd wel een significant effect gevonden van Hb-type op het plasmakopergehalte (WIENER et al., 1974). WIENER geeft de volgende verklaring voor de verschillen in kopergehalten bij de verschillende Hb-typen. Er is een enkel gen dat een groot effect heeft op de koperconcentraties. Dit gen moet nauw gekoppeld zijn aan de locus voor Hb-type.

Om te toetsen of deze theorie juist was, werd daarna een experiment opgezet met acht rammen, waarvan twee rammen Hb-AA, hoog plasmakoper-niveau, twee rammen Hb-AA met laag plasmakoperniveau, twee rammen Hb-BB met laag plasmakoperniveau en twee rammen Hb-BB met hoog plasmakoper-niveau, die werden gepaard met 105 willekeurig gekozen oaien (WEINER & HAYTER, 1976). De plasmakopergehaltes van nakomelingen van hoog koper-niveau-rammen verschilden bijna significant van de nakomelingen van laag koper-rammen. Er was geen verschil tussen nakomelingen van Hb-AA en Hb-BB rammen. Dit wijst dus in de richting van een koper-gen.

HILL & WILLIAMS (1965) (gecit. door HILL, 1977) kwamen tot een negatieve correlatie tussen leverkopergehalte en groei per dag. ABDELLATIF (1968) vond een positieve correlatie tussen de hoeveelheid opgenomen krachtvoer en het kopergehalte in de lever.

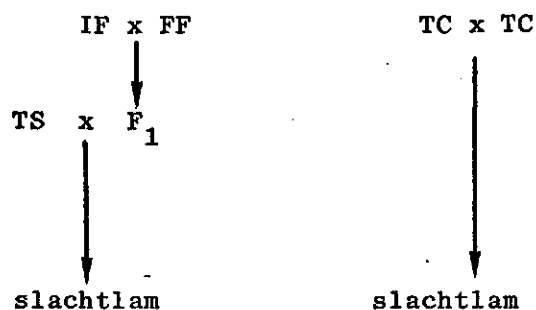
In W. Duitsland is door LÜKE & MARQUERING onderzoek gedaan naar kopergehaltes in de lever bij verschillende schapenrassen. Zij vergeleken Texelaar, Schwarzkopf en het Duitse Melkschaap en vonden dat de Texelaar een significant hoger leverkopergehalte had en een positieve correlatie tussen het leverkopergehalte en de hoeveelheid opgenomen krachtvoer (LÜKE & MARQUERING, 1972). Met hetzelfde materiaal werd een negatieve correlatie gevonden tussen het leverkopergehalte en de groei (LÜKE & MARQUERING, 1974). Oorzaken hiervan konden niet afgeleid worden, er waren echter aanwijzingen dat bij dieren met een slechte ontwikkeling de regulatiemechanismen voor de sporenelementenuitscheiding niet goed funktioneerden.

De variatie in leverkopergehalte kon voor 33 % verklaard worden uit een rasinvloed en voor 24 % uit een vaderinvloed (LÜKE & MARQUERING, 1974). De erfelijkheidsgraden, berekend uit half sib analyse, waren 0.67 ± 0.27 voor de Schwarzkopf en 0.31 ± 0.28 voor de Texelaar (SCHMITTEN, LUKE & TRAPPMANN, 1978).

Samengevat kan men stellen dat er grote verschillen bestaan zowel in bloed- en plasmakopergehaltes als in leverkopergehaltes. De variatie in het leverkopergehalte kan verklaard worden door ras- en vadereffekten en door de hoeveelheid opgenomen krachtvoer.

4. MATERIAAL

Het materiaal van deze proef bestaat uit lammeren, welke deel uitmaken van een I.V.O.-voeropnameproef. Bij deze proef zijn een aantal rassen betrokken, die ingepast zijn in een kruisingsproef van het I.V.O. Doel van deze kruisingsproef is het vergelijken van een driewegkruising met de Nederlandse Texelaar. Als grootmoederdier van deze kruising is het Finse Landras (FF) gekozen vanwege de hoge vruchtbaarheid en het lange bronstseizoen. Als grootvaderdier is de keus gevallen op de Ile de France (IF), één van de beste Fransé vleesrassen. De kruising IF x FF wordt als moederdier gebruikt. Dit dier zou in staat zijn om drie keer in twee jaar af te lammeren. Als vaderdier wordt een texelaar Selectielijn (TS) gebruikt. Deze TS is geselecteerd op groeisnelheid en be vleesdheid. Een Texelaar Controlelijn (TC) wordt als referentielijn aangehouden. In deze lijn wordt volgens stamboeknormen geselecteerd op type, ontwikkeling en wol. Het kruisingsschema ziet er als volgt uit:



Uit voorlopige resultaten bleek dat de F_2 -slachtlammeren meer vet bevatten dan volgens intermediaire vererving verwacht kon worden. Op grond hiervan is besloten tot een voeropnameproef met 5 paringstypen, nl. IF x IF, FF x FF, TS x F_1 , TS x TS en TC x TC. De lammeren van de voeropnameproef vormen het materiaal voor ons onderzoek naar verschillen in kopergevoeligheid. Het gaat hierbij om 150 lammeren, 30 van elk paringstype. Deze lammeren bestaan uit paren van full sibs, half sibs en onverwante dieren, waarvan het ene dier ad lib wordt gevoerd en het andere dier 85 % van ad lib. op gewichtsbasis. Deze paren zijn willekeurig verdeeld over 3 slachtgewichten, nl. 38, 42 en 46 kg. De lammeren zijn geboren in de periode april-mei 1978 en ze zijn als tweelingen door de ooi grootgebracht. Op een leeftijd van 60 dagen zijn ze gespeend en daarna in eenlingboxen gehuisvest. Het voer bestond uit krachtvoer met een kopergehalte van 11 ppm in de drogestof aangevuld met 150 gram hooi per dag.

5. METHODEN

Bij het vinden van parameters voor de koperhoeveelheid in, en de kopergevoeligheid van het dier hebben we ons laten leiden door het gegeven dat het kopergehalte van de lever een goede maatstaf is voor de koperhoeveelheid in het dier, omdat veel van het geresorbeerde koper in de lever wordt opgeslagen. Het kritieke moment bij kopervergiftiging treedt op als de levercellen de via de bloedbaan aangeboden hoeveelheid koper niet meer kunnen verwerken, doordat deze cellen verzadigd zijn met koper en er zelfs aan te gronde gaan. Dit laatste heeft een verminderde leverfunctie tot gevolg.

Er is echter geen duidelijke grens aan te geven waarbij de levercellen hun functie gaan verliezen. Ook is er geen parameter bekend welke specifiek leverbeschadiging door koper aangeeft.

Om de koperstatus en eventuele leverbeschadiging van het dier na te gaan, hebben we enkele parameters gekozen die in de klinische chemie hun toepassing vinden en in het bloed (plasma) bepaald kunnen worden. Daarnaast is koper in de lever bepaald.

5.1. Werkwijze

Bloed (ca. 10 ml) werd afgenomen bij het spenen en voor de verschillende slachtmomenten met behulp van een gehepariniseerde "Vacutainer" buis. Op dezelfde dag werden hemoglobinegehalte en hematocrietwaarde bepaald, waarna het plasma ingevroren werd. Op de volgende dagen werden hierin de andere parameters bepaald.

Van de lammeren werd op het slachthuis een levermonster genomen. Vanwege de goede identificeerbaarheid werd de Spiegelse kwab hiervoor genomen. De levermonsters werden bij -20°C bewaard.

5.2. Instrumentaal

Voor de spectrofotometrische bepaling van ceruloplasmine, hemoglobine en enzymaktiviteiten werd gemeten op een Shimadzu UV 200 "double beam" apparaat. De bepaling van koper werd met behulp van atomaire absorptie verricht met een Perkin Elmer 303 atomaire absorptie spektrofotometer. Centrifugering vond plaats met een Homef LC-30 tafelcentrifuge. Glaswerk werd kopervrij gemaakt door het minimaal 12 uur te behandelen

met een 10 % HNO₃-oplossing en daarna te spoelen met aqua bidest.

5.3. Bloedparameters

In het bloed zijn de volgende parameters bepaald:

- a. hemoglobinegehalte (Hb)
- b. hematocrietwaarde (Ht)
- c. ceruloplasmine (Cp)
- d. totaal plasma koper (ToCu)
- e. vrij plasma koper (VrCu)
- f. L- γ -glutamyl-transferase EC 2.3.2.2 (γ -GT)
- g. alkalische fosfatase EC 3.1.3.1 (AF)
- h. hemoglobine-type

ad (a) en (b): Uit de literatuur blijkt dat Hb en Ht afnemen bij een chronische kopervergiftiging. Dit is niet zozeer een direkt gevolg, maar een indirekt effect doordat de leverfunctie min of meer achteruit gaat.

Het hemoglobinegehalte werd bepaald volgens de hemiglobine-cyanide methode van VAN KAMPEN & ZIJLSTRA (1971) met de test-combinatie van BOEHRINGER (Mannheim, W.Duitsland). Het gehalte werd uitgedrukt in g/100 ml bloed. De hematocriet werd volgens de Wintrobe (macro-hematocriet)-methode bepaald. (Centrifugering bij 3000 rpm gedurende 18 minuten. De hematocriet wordt gedefinieerd als het percentage van het totale bloedvolume dat wordt ingenomen door de erythrocyten.

ad (c), (d) en (e): Koper komt in het plasma op twee manieren voor, namelijk sterk gebonden aan het eiwit ceruloplasmine of zwak gebonden aan albumine en aminozuren ("vrij koper"). Ceruloplasmine is een α -globuline, dat per molecuul maximaal acht atomen koper kan binden. Dit ceruloplasmine heeft tevens een enzymatische werking. Het kan worden bepaald door meting van zijn para-fenyleendiamine-oxiderende activiteit.

Voor monster en blanco wordt bij 2,0 ml 0,2 M natriumacetaat buffer (pH 5,60) 0,05 ml plasma gevoegd. In een waterbad op 37°C wordt geëquilibreerd en vervolgens 1,0 ml 0,1 % para-fenyleendiamine (in dezelfde acetaatbuffer) toegevoegd.

Na 5 minuten wordt de blanco-reactie gestopt met 1,0 ml 1 % NaN_3 .

Na 60 minuten incubatie wordt de monsterreactie gestopt.

De reactie wordt zo mogelijk in het donker uitgevoerd.

De kleurintensiteit van het reactieprodukt wordt gemeten bij 530 nm t.o.v. water. Het verschil in absorptie (extinctie) tussen monster en blanco, vermenigvuldigd met de factor 0,079 geeft het aantal mg ceruloplasmine per 100 ml plasma (RICHTERICH, 1965, SUNDERMAN & NOMOTO, 1970).

Het totaal kopergehalte in plasma werd bepaald via atomaire absorptie.

0,3 ml plasma werd 10x verdund met 6 % butanol. Deze oplossing werd verstoven in de lucht-acetylenevlam; gemeten werd bij een golflengte van 324,7 nm. Koperstandaarden en blanco waren opgelost in fysiologisch zout waarin 5 % H_2SO_4 (MERET & HENKIN, 1971). Het kopergehalte werd uitgedrukt in mg/l.

Voor de bepaling van het "vrije" koper (BLOMFIELD & MACMAHON, 1969) werd 0,5 ml plasma (koperstandaard of water) toegevoegd aan 0,5 ml ammonium pyrrolidine-dithiocarbamaat (APD, 0,1 %) en vervolgens 2,0 ml methylisobutylketon (MIBK). Het vrije koper vormt een sterk complex met APD dat gemakkelijk in de MIBK-fase oplost. Na 5 minuten schudden werd gedurende 10 minuten gecentrifugeerd, waarna uit de bovenlaag het kopergehalte bepaald kon worden via atomaire absorptie (acetylenevlam). Het vrije kopergehalte werd uitgedrukt in mg/l.

ad (f) en (g): Mogelijke parameters voor leverbeschadiging zijn leverenzymen welke in de bloedbaan treden wanneer levercellen beschadigd zijn of te gronde gaan. De klinische chemie maakt gebruik van deze methode en de volgende enzymen komen in aanmerking: sorbitol-dehydrogenase, alkalische fosfatase (AF), γ -glutamyl-transferase (γ GT), laktaatdehydrogenase, serum glutamine-pyrodruivezuur-transaminase en serum glutamine-oxaalacetaat-transaminase. Onze keuze is gevallen op γ -GT en AF vanwege de leverspecificiteit van γ -GT en het feit dat ze betrekkelijk eenvoudig bepaald kunnen worden in plasma. Voor de enzymactiviteitsbepalingen werden de testcombinaties van BOEHRINGER gebruikt. De activiteiten werden uitgedrukt in Units per liter bij 25°C.

ad (h): De bepaling van het haemoglobinetype is uitgevoerd op het Laboratorium van de Stichting Bloedgroepenonderzoek in Wageningen volgens de daar geldende bepalingen (zie LEENSTRA, 1978).

5.4. Kopergehalte in de lever

Na droge verassing werd koper bepaald met behulp van atomaire absorptie (MENDEN et al., 1977). Levermonsters van ca 0,6 g werden in duplo gedroogd bij 101°C gedurende 18 uur. Door terugweging werd het drooggewicht nauwkeurig bepaald. Het monster werd verast door verhitting gedurende minstens 12 uur bij 600°C in een moffeloven. De as werd opgelost in 8 ml 10 % HNO₃ en overgebracht in een maatkolf van 50 ml, welke met aqua bidest werd aangevuld tot 50 ml. Koperstandaarden werden op dezelfde manier behandeld met HNO₃ en verdund. Het kopergehalte werd bepaald met de atomaire absorptie-spektrofotometer en uitgedrukt in mg Cu per kg droge stof (ppm).

5.5. Verwerking der gegevens

De gegevens zijn geanalyseerd met het standaard programma van HARVEY (1976), omdat dit programma de beste schattingen geeft bij ongelijke aantallen per groep.

Het gebruikte statistische model is als volgt:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + VN_j + EM_k + (R \times VN)_{ij} + (R \times EM)_{ik} + (VN \times EM)_{jk} + bX_{ijkl} + e_{ijkl}$$

waarbij y = afhankelijke variabele

μ = algemeen gemiddelde

R_i = raseffekt (i = 1,5)

VN_j = voerniveaueffekt (j = 1,2)

EM_k = eindgewichteffekt (k = 1,3)

$(R \times VN)_{ij}$ etc. = interactie-effekten

X = begingewicht

e = restterm

Omdat er grote verschillen in begingewicht waren, zijn de gegevens voor deze verschillen gecorrigeerd.

Behalve van Harvey is er nog gebruik gemaakt van het programma BMD X82 (DIXON, 1973), omdat met dit programma regressiecoëfficiënten getoetst kunnen worden op gelijkheid.

6. RESULTATEN

Van de oorspronkelijk 150 lammeren zijn er in totaal 10 afgevallen, zodat er de volgende aantallen overblijven:

Ile de France (IF)	29
Finse Landras (FF)	29
Geselecteerde Texelaar (TS)	27
Controle Texelaar (TC)	26
Kruisingsprodukt (EP)	29

Geen van de 10 dieren is afgevallen vanwege kopervergiftiging. Achtereenvolgens zullen de verschillende parameters behandeld worden en hun eventuele relatie met het leverkopergehalte.

Opgemerkt moet worden dat parameters welke bij het spenen bepaald zijn gevolgd worden door een "1", parameters die bij de slacht bepaald zijn worden gevolgd door een "2".

6.1. Hemoglobine en hematocriet

In tabel 1 worden de "least squares" (LS) gemiddelden vermeld voor de verschillende rassen.

Tabel 1: LS-gemiddelden van hemoglobine (Hb) en hematocriet (Ht) en correlaties daartussen.

	<u>Hb 1^{xx}</u>	<u>Ht 1^{xx}</u>	<u>Hb 2^{xx}</u>	<u>Ht 2^{xx}</u>	<u>r(Hb,Ht)1</u>	<u>r(Hb,HT)2</u>
IF	13,5	47,6	14,2	47,4	0,68 ^{xx}	0,50 ^{xx}
FF	12,7	43,1	14,3	46,3	0,61 ^{xx}	0,43 ^x
TS	12,5	42,4	12,3	41,4	0,64 ^{xx}	0,81 ^{xx}
TC	12,6	42,6	12,0	42,7	0,67 ^{xx}	0,71 ^{xx}
EP	12,5	44,5	13,5	44,3	0,42 ^x	0,48 ^{xx}

x : $p < 0,05$

xx : $p < 0,01$

De standaardafwijkingen van de LS-gemiddelden lopen voor de verschillende rassen weinig uiteen en bedragen voor Hb 1 : 0,2 ; voor Ht 1 : 0,8 ; Hb 2 : 0,3 en voor Ht 2 : 0,7. De Ile de France heeft bij het spenen een significant hogere hemoglobine- en hematocrietwaarde dan de andere rassen ($p < 0,01$), bij de slacht worden de verschillen wat genivelleerd, maar het raseffekt blijft significant ($p < 0,01$).

Vergeleken met de verwachtingen daarover zijn de correlaties tussen Hb en Ht niet erg hoog. Deze bepalingen zijn in enkelvoud uitgevoerd en er is bij de Hb-bepaling gebruik gemaakt van cuvetten, welke achteraf niet geheel identiek bleken te zijn. Voerniveau en eindgewicht hebben geen invloed op de bovengenoemde parameters.

Tabel 2: Hemoglobine en hematocriet, onderverdeeld in ad lib en beperkt.

	Ht 2		Hb 2	
	<u>ad lib</u>	<u>beperkt</u>	<u>ad lib</u>	<u>beperkt</u>
IF	48,4	46,4	14,2	14,3
FF	47,2	45,4	14,7	14,0
TS	39,9	42,8	12,2	12,3
TC	44,2	41,1	12,2	11,8
EP	44,7	43,9	14,1	13,0

Er zijn 2 significante interacties, nl. voor Ht 2: Ras x voerniveau ($p < 0,04$) en voor Hb 2: voerniveau x eindgewicht ($p < 0,005$).

Bij Ht 2 is het TS welke deze interactie veroorzaakt (zie tabel 2). De ad lib gevoerde dieren van de andere rassen hebben een hogere hematocrietwaarde dan de beperkt gevoerde lammeren. De TS wijkt hier duidelijk af. Ook voor Hb 2 is een dergelijke trend aan te geven, de interactie is hierbij niet significant. De interactie voerniveau x eindgewicht wordt in tabel 3 aangegeven.

Tabel 3: Hemoglobinegehalte bij de slacht, opgesplitst naar voerniveau (VN=voerniveau) en eindgewicht (EM=eindgewicht)

	<u>38 kg</u>	<u>42 kg</u>	<u>46 kg</u>
ad lib	12,9	14,3	13,2
beperkt	13,3	12,6	13,4

Binnen rassen is de interactie VN x EM niet significant, maar een dergelijke trend is bij elk ras wel aanwezig, behalve bij het Finse Landras, waar ad lib gevoerde lammeren over de drie slachtmomenten altijd een hoger hemoglobinegehalte hebben. Er is geen correlatie tussen Hb 2 en groei, hoeveelheid opgenomen voer of de leeftijd van het dier, waaruit deze interactie verklaard kan worden. Mogelijk bestaat er een niet-lineair verband tussen het hemoglobinegehalte en de leeftijd van het dier.

Er is geen relatie gevonden tussen hemoglobinegehalte en hematocrietwaarde met het kopergehalte in de lever.

6.2. Ceruloplasmine, totaal plasma- en vrij plasmakoper

In tabel 4 staan de LS-gemiddelden van ceruloplasmine (Cp), totaal en vrij plasma koper.

Tabel 4: LS-gemiddelden van ceruplasmine (Cp), totaal plasma koper (ToCu) en vrij plasma koper (VrCu).

A. bij spenen

	<u>Cp 1</u>	<u>ToCu 1</u>	<u>VrCu 1</u>
IF	28,5 \pm 1,3	1,18 \pm 0,04	0,17 \pm 0,01
FF	25,5 \pm 1,4	1,04 \pm 0,05	0,11 \pm 0,02
TS	27,3 \pm 1,4	1,07 \pm 0,05	0,14 \pm 0,02
TC	31,0 \pm 1,4	1,15 \pm 0,04	0,12 \pm 0,02
EP	26,9 \pm 1,2	1,08 \pm 0,04	0,12 \pm 0,01

B. bij de slacht

	<u>Cp 2^{xx}</u>	<u>ToCu 2</u>	<u>VrCu 2^x</u>
IF	26,4 \pm 1,7	1,21 \pm 0,06	0,16 \pm 0,01
FF	29,1 \pm 2,0	1,16 \pm 0,07	0,14 \pm 0,01
TS	32,7 \pm 1,9	1,27 \pm 0,07	0,13 \pm 0,01
TC	34,2 \pm 1,9	1,32 \pm 0,07	0,13 \pm 0,01
EP	25,4 \pm 1,7	1,11 \pm 0,06	0,11 \pm 0,01

x : p<0,05

xx : p<0,01

Het raseffekt blijkt significant voor Cp 2 en VrCu 2. Bij Cp 2 en ToCu 2 springen TS en TC eruit met hun hoge gehalten, bij het vrije plasma koper is het vooral de Ile de France die afwijkt van de andere rassen. Dit ras heeft, ook in verhouding met de concentratie aan totaal plasma koper, de grootste concentratie vrij koper in het plasma.

Tabel 5: Correlaties binnen rassen tussen ceruloplasmine (Cp), speengewicht (SG), totaal plasma koper (ToCu), gebonden plasma koper (GCu) en het leverkopergehalte (LCu).

	<u>SG,Cp1</u>	<u>SG,ToCu1</u>	<u>Cp1,GCu1</u>	<u>Cp2,GCu2</u>	<u>Cp2,LCu</u>	<u>ToCu2,LCu</u>
IF	0,19	0,09	0,37	0,67	0,48	0,04
FF	0,41 ^x	0,42 ^x	0,56 ^{xx}	0,49 ^{xx}	-0,40 ^x	-0,01
TS	0,17	0,27	0,50 ^{xx}	0,88 ^{xx}	0,00	-0,02
TC	0,03	0,00	0,42 ^x	0,81 ^{xx}	-0,10	0,18
EP	0,12	0,25	0,50 ^{xx}	0,66 ^{xx}	0,13	0,22

x : p<0,05

xx : p<0,01

In tabel 5 staan enkele correlaties tussen ceruloplasmine, totaal plasma koper, gebonden plasma koper (dit is het verschil tussen totaal en vrij plasma koper), het speengewicht en het kopergehalte in de lever.

Hieruit blijkt dat het gewicht bij het spenen bij sommige rassen nogal wat invloed kan hebben op het ceruloplasminegehalte en op het plasma kopergehalte; de "overall" correlaties (dus over alle rassen heen) tussen speengewicht en ceruloplasmine ($r = 0,32$; $p < 0,05$) en totaal plasma koper ($r = 0,31$; $p < 0,005$) zijn significant; dit kan mede veroorzaakt zijn door de zwaardere Texelaars die bij het spenen een hoger ceruloplasminegehalte hebben.

Er zijn 2 significante correlaties tussen Cp 2 en het leverkopergehalte, nl. bij Ile de France ($r = 0,48$) en bij het Finse Landras ($r = -0,40$). Het is merkwaardig dat deze correlaties verschillend van teken zijn het kan er op duiden dat deze rassen verschillend reageren op de hoeveelheid geresorbeerd c.q. opgeslagen koper.

Uit tabel 5 blijkt verder dat uit ToCu 2 geen voorspelling kan worden gedaan over het kopergehalte in de lever. Er is geen drempelwaarde van het leverkopergehalte waarboven het plasma kopergehalte gaat stijgen of waar beneden het kopergehalte in het plasma gaat dalen.

De correlaties tussen ceruloplasmine en plasma kopergehalten zijn allemaal significant; bij de slacht zijn deze correlaties hoger dan bij het spenen. Er kunnen voor de verschillende rassen afzonderlijke regressielijnen worden berekend van ceruloplasmine op gebonden koper. Deze blijken bogal wat te verschillen (tabel 6). Met behulp van het computerprogramma BMD X82 (DIXON, 1973) is het mogelijk deze regressielijnen te toetsen op gelijkheid van regressiecoëfficiënten. Verschillen deze coëfficiënten, dan geldt voor elk ras de berekende regressielijn. Zijn de coëfficiënten niet significant verschillend, dan kunnen de voor koper gecorrigeerde hoeveelheden ceruloplasmine nog met elkaar vergeleken en getoetst worden.

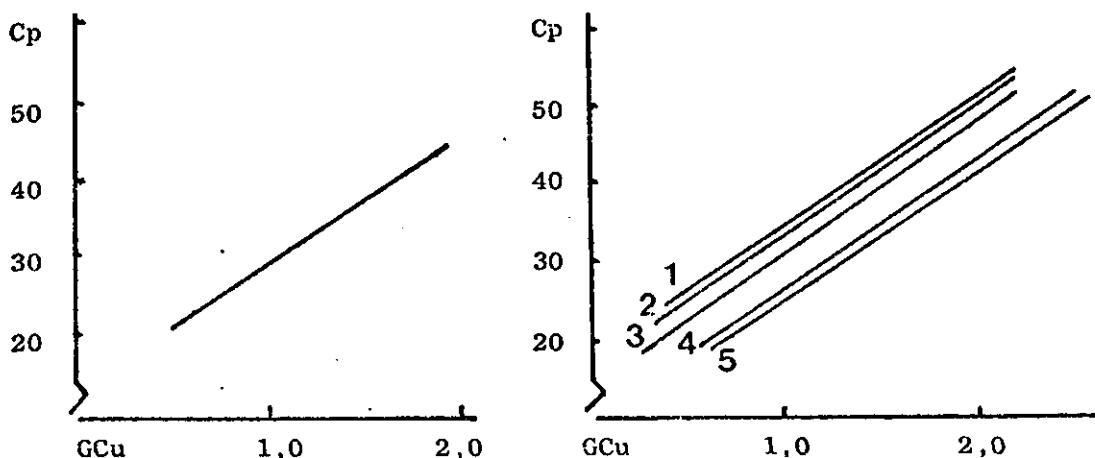
Tabel 6: Regressielijnen van ceruloplasmine (y) op gebonden koper (x):
 $y = a + bx$.

	<u>Spenen</u>			<u>Slacht</u>		
	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>r</u>	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>r</u>
IF	13,48	12,53	0,37	9,11	14,41	0,67
FF	11,64	12,08	0,56	1,83	23,49	0,49
TS	18,62	8,87	0,50	5,14	20,67	0,88
TC	8,95	19,49	0,42	10,59	17,86	0,81
EP	11,81	13,99	0,50	14,51	9,81	0,66

De regressielijnen van de verschillende rassen bij het spenen verschillen niet significant van elkaar. De daarop volgende toets op gelijkheid van voor gebonden plasma koper gecorrigeerde ceruloplasminegehalten geeft aan dat er geen significant verschil tussen rassen bestaat. Dit betekent dat voor al deze rassen één regressielijn berekend kan worden. Deze vergelijking is als volgt (zie ook fig. 1a):

$$y = 13,66 + 14,48x, \text{ waarbij } y = \text{ceruloplasminegehalte}$$
$$x = \text{gebonden plasma koper}$$
$$r = 0,51$$

Figuur 1: Regressie van ceruloplasmine op gebonden plasma koper.
a. bij spenen
b. bij slacht



Een zelfde toets is uitgevoerd met Cp 2 en GCu 2. Ook hier verschillen de regressiecoëfficiënten niet significant; de gecorrigeerde ceruloplasminegemiddelden verschillen wel significant ($p < 0,005$). De regressielijnen van ceruloplasmine op gebonden koper worden dan (zie ook fig. 1b):

$$\text{IF} : \text{Cp} = 9,0 + 16,72 \times \text{GCu} \quad (\text{lijn } 4)$$

$$\text{FF} : \text{Cp} = 12,2 + 16,72 \times \text{GCu} \quad (" \quad 3)$$

$$\text{TS} : \text{Cp} = 13,2 + 16,72 \times \text{GCu} \quad (" \quad 2)$$

$$\text{TC} : \text{Cp} = 14,2 + 16,72 \times \text{GCu} \quad (" \quad 1)$$

$$\text{EP} : \text{Cp} = 8,7 + 16,72 \times \text{GCu} \quad (" \quad 5)$$

De correlatie van deze vergelijkingen is 0,71. Opvallend is de overeenkomst tussen IF en EP enerzijds en FF, TS en TC anderzijds, waarbij de laatste groep de hoeveelheid aangeboden koper met meer ceruloplasmine vasthoudt dan de eerste groep.

Voerniveau en eindgewicht hebben geen effect op de ceruloplasmine- en kopergehalten. Het totale plasma kopergehalte tendeert bij ad lib gevoerde lammeren hoger te zijn dan bij de beperkt gevoerde, maar dit effect is niet significant.

6.3. Alkalische fosfatase (AF) en γ -GT

De gegevens van de twee leverenzymen, AF en γ -GT zijn te vinden in tabel 7. Raseffekten zijn er voor γ -GT ($p < 0,05$), waar TC en TS duidelijk afwijken van de andere rassen, en voor AF 2, waar het Finse Landras een veel lagere waarde heeft dan de andere rassen.

Significant ($p < 0,04$) is de regressie van het speengewicht op AF 2.

Doordat de alkalische fosfatase ook een rol speelt bij de opbouw van het skelet en de activiteit van dit enzym met de leeftijd terugloopt, is deze regressie te verklaren, evenals het feit dat het Finse Landras een lagere AF 2 heeft, omdat dit ras door de lage groeisnelheid langer in de proef zit en dus op de slachtdatum een hogere leeftijd heeft.

Tabel 7: LS-gemiddelden van γ -GT en alkalische fosfatase (AF).

	γ -GT 1	γ -GT 2 ^{xx}	AF 1	AF 2 ^{xx}
IF	41,7 + 2,0	34,4 + 1,8	167 + 13	158 + 9
FF	42,5 + 2,3	32,5 + 2,1	185 + 15	125 + 11
TS	44,6 + 2,3	40,6 + 2,0	179 + 14	151 + 11
TC	46,9 + 2,2	43,6 + 2,0	191 + 14	152 + 10
EP	39,5 + 2,0	35,0 + 1,8	177 + 13	152 + 9

x = p<0,05

xx = p<0,01

Voerniveau en eindgewicht hebben geen invloed op de twee leverenzymen bij de slacht; deze effecten hebben wel een significante invloed (p<0,02) op γ -GT 1. Omdat er bij het spenen nog geen behandelingen op de lammeren zijn toegepast, kunnen deze significante invloeden louter op toeval berusten.

Uitgaande van de hoogste door ons gevonden waarden van deze leverenzymen (γ -GT : 97; AF : 356) kan gesteld worden dat er geen leverbeschadiging bij deze lammeren is opgetreden; de betreffende enzymconcentraties zouden dan nog hoger moeten zijn (VINK, 1977).

In tabel 8 zijn de correlaties tussen γ -GT, alkalische fosfatase en het leverkopergehalte weergegeven.

Tabel 8: Correlaties tussen γ -GT, AF en het leverkopergehalte (LCu).

	γ -GT 1, AF 1	γ -GT 2, AF 2	γ -GT 2, LCu
IF	0,51 ^{xx}	0,18	-0,33
FF	0,31	0,07	0,22
TS	0,16	0,64 ^{xx}	0,25
TC	0,31	0,44 ^x	0,24
EP	0,37 ^x	0,09	0,40 ^x

x = p<0,05

xx = p<0,01

Tussen γ -GT en AF is soms een redelijke correlatie aanwezig; de correlatie tussen γ -GT en het leverkopergehalte is alleen bij de kruising significant. De correlaties tussen AF 2 en het leverkopergehalte zijn niet in de tabel opgenomen, omdat deze voor alle rassen ongeveer gelijk aan nul waren.

6.4. Leverkopergehalte

Het kopergehalte in de lever varieert sterk per individu met een minimum van 120 ppm tot een maximum van 1301 ppm.

Tabel 9: LS-gemiddelden van leverkopergehaltes, verdeeld over eindgewicht en voerniveau.

	$\mu \pm SE$	eindgewicht			voerniveau	
		38 kg	42 kg	46 kg	ad lib	bepert
IF	587 + 30	538	693	529	544	629
FF	292 + 34	249	297	328	310	273
TS	721 + 34	676	672	816	683	759
TC	727 + 32	628	757	797	706	748
EP	532 + 30	509	447	640	562	501
Gem	572 + 15	520	573	622	561	582

In tabel 9 staan de LS-gemiddelden van de leverkopergehaltes opgesplitst naar eindgewicht en voerniveau.

Het raseffekt is sterk significant ($p < 0,001$). Opvallend is het grote verschil tussen de Texelaar en het Finse Landras.

Het eindgewicht is significant ($p < 0,02$), binnen rassen is het eindgewicht alleen significant bij de kruising.

Het voerniveau is niet significant, wel de interactie ras x voerniveau.

IF, TC en TS hebben bij beperkte voeding een hoger leverkopergehalte, bij FF en EP is juist het omgekeerde het geval.

Behalve bij Ile de France stijgt het leverkopergehalte bij een hoger eindgewicht. Dit doet het vermoeden ontstaan dat het kopergehalte in de lever gecorreleerd is met de hoeveelheid opgenomen krachtvoer.

Tabel 10: Hoeveelheid opgenomen krachtvoer in kg per dier.

	μ	eindgewicht			voerniveau		$r(\text{voer, LCu})$
		38 kg	42 kg	46 kg	ad lib	bep.	
IF	82,0	59,6	85,8	100,4	81,2	82,7	0,02
FF	102,6	73,2	101,2	133,4	102,8	102,4	0,37 ^x
TS	73,5	52,3	73,4	94,8	76,3	70,7	0,54 ^{xx}
TC	76,7	60,6	76,9	92,6	80,5	72,9	0,43 ^x
EP	77,9	60,7	72,1	100,8	78,0	77,8	0,61 ^{xx}
Gem.	82,5	61,3	81,9	104,4	83,8	81,3	

x = $p < 0,05$

xx = $p < 0,01$

In tabel 10 is te zien dat behalve bij Ile de France de correlatie tussen de hoeveelheid opgenomen krachtvoer en het leverkopergehalte significant is.

Deze correlatie kan worden omgezet in een regressie van leverkopergehalte op de hoeveelheid opgenomen krachtvoer. Dit levert de volgende regressielijnen (zie ook fig. 2):

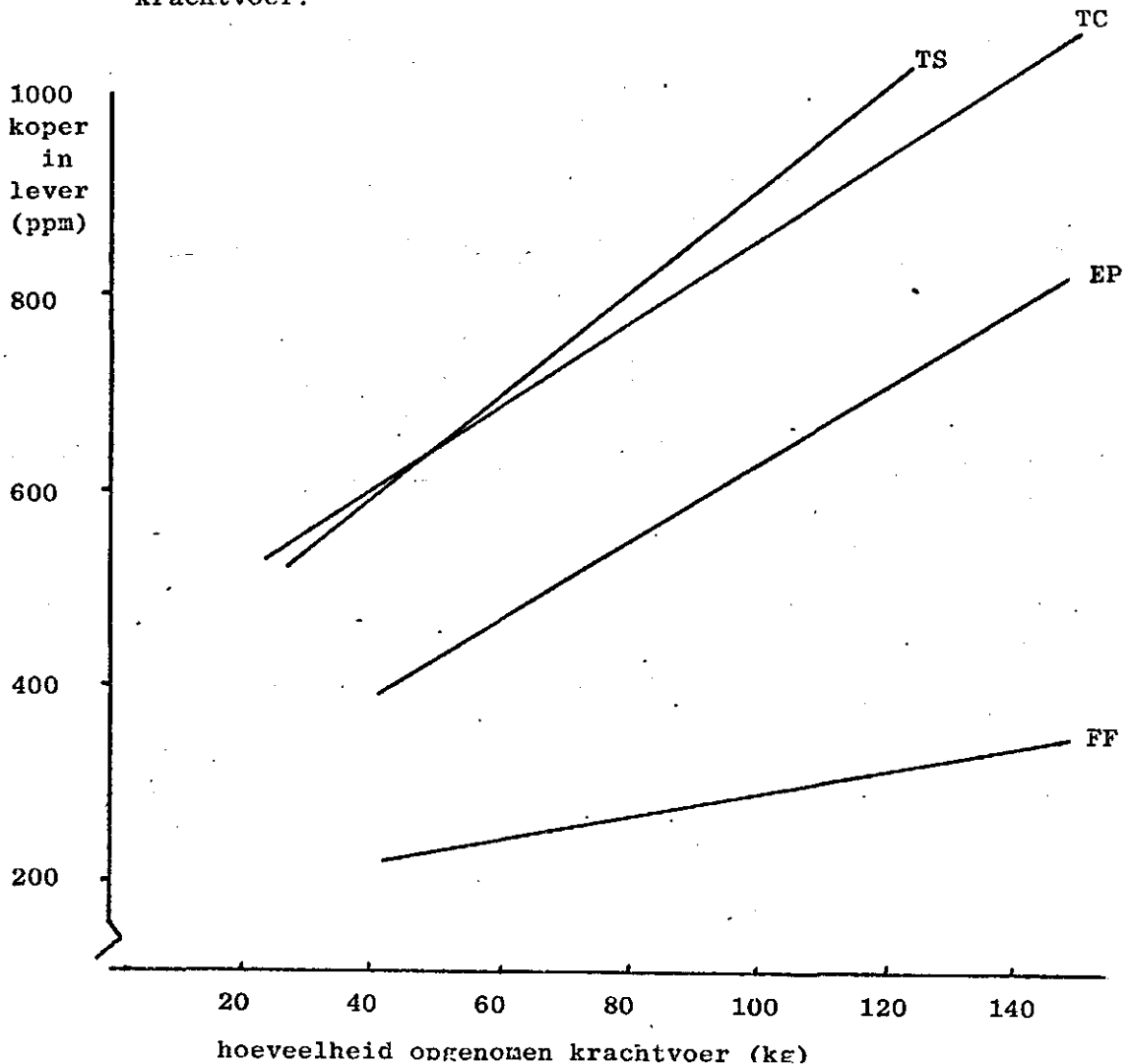
$$\text{FF} : \text{LCu} = 177 + 1,13 \times \text{voerhoeveelheid (kg)}$$

$$\text{TS} : \text{LCu} = 377 + 5,25 \quad " \quad "$$

$$\text{TC} : \text{LCu} = 416 + 4,53 \quad " \quad "$$

$$\text{EP} : \text{LCu} = 216 + 4,05 \quad " \quad "$$

Figuur 2: Regressie van kopergehalte in de lever op de hoeveelheid opgenomen krachtvoer.



Deze regressielijnen zijn, evenals voor ceruloplasmine, getoetst met behulp van het BMD X82 programma (DIXON, 1973). De uitkomst van deze toets is dat de regressiecoëfficiënten significant van elkaar verschillen ($p < 0,025$).

De belangrijkste conclusie die we hieruit kunnen trekken is dat de Texelaar veel meer koper uit dezelfde hoeveelheid krachtvoer in de lever opslaat dan de kruising en het Finse Landras. De Ile de France lijkt ongevoelig voor de hoeveelheid opgenomen koper via het krachtvoer.

6.5. Hemoglobine-type

De resultaten van de hemoglobine-typering staan in tabel 11.

Tabel 11: Frequenties der hemoglobine-typen en verdeling van het lever- en plasmakopergehalte over deze Hb-typen.

	<u>aantal</u>			$q_a^{1)}$	<u>leverkoper</u>			<u>plasmakoper</u>		
	<u>AA</u>	<u>AB</u>	<u>BB</u>		<u>AA</u>	<u>AB</u>	<u>BB</u>	<u>AA</u>	<u>AB</u>	<u>BB</u>
IF	3	10	16	0,28	545	507	659	1,17	1,25	1,18
FF	13	14	2	0,70	254	271	222	1,15	1,21	1,16
TS	0	3	23	0,06	-	554	720	-	0,97	1,30
TC	0	6	21	0,14	-	646	727	-	1,17	1,34
EP	1	14	14	0,28	484	533	456	1,07	1,10	1,13

1) q_a = frequentie van het gen A.

De gevonden Hb-frequenties komen overeen met welke die in de literatuur gevonden zijn (HANRAHAN et al., 1977; AGAR, EVANS & ROBERTS, 1972). Een hemoglobine-type effect is niet significant aan te tonen in plasma- en leverkopergehaltenes. Wel lijkt het er bij TS, TC en EP op dat het Hb-type BB een hoger plasma kopergehalte te zien geeft, maar de aantallen waarop deze getallen gebaseerd zijn, zijn zo gering dat er geen conclusies uit getrokken kunnen worden.

7. GENETISCHE PARAMETERS

We hebben geprobeerd uit het verkregen materiaal een schatting te maken van erfelijkheidsgraden en maternale effecten voor de betreffende parameters. In tabel 12 staan de uitkomsten voor de parameters welke bij het spenen bepaald zijn. Deze uitkomsten zijn verkregen met het volgende model:

$$y_{ijk} = \mu + R_i + M_{ij} + bX_{ijk} + e_{ijk}$$

waarbij y = afhankelijke variabele

μ = algemeen gemiddelde

M = moeder of vader effect binnen rassen

X = begingewicht

e = restterm

Tabel 12: F-toetsen, h^2 -schattingen en variantiecomponenten uit vader- en moedereffekten.

	moederanalyse		vaderanalyse		in % van σ_p^2		
	F	$h^2 + SE$	F	$h^2 + SE$	$\frac{\sigma_m^2}{\sigma_p^2}$	$\frac{\sigma_a^2}{\sigma_p^2}$	$\frac{\sigma_e^2}{\sigma_p^2}$
Cp 1	1,7 ^x	0,23 + 0,32	0,7	-	11	0	89
ToCu 1	2,1 ^{xx}	0,73 + 0,27	1,2	0,26 + 0,36	21	32	47
VrCu 1	0,9	-	1,1	0,14 + 0,35	--	--	--
γ -GT 1	1,8 ^x	0,60 + 0,28	1,4	0,49 + 0,38	6	48	46
AF 1	2,7 ^{xx}	0,96 + 0,24	1,9	0,94 + 0,39	3	89	8

x = p < 0,05

xx = p < 0,01

Voor de berekening van de erfelijkheidsgraden is het materiaal enigszins aangepast. Bij de vader-effekten zijn alleen die vaders genomen, van wie twee of meer lammeren in het proefmateriaal aanwezig waren. Voor de berekening van de moedereffekten zijn alleen full sibs in het materiaal betrokken.

De erfelijkheidsgraden worden als volgt berekend (BECKER, 1975):

- half sib (HS) analyse : $h^2 = 4cov(HS)/\sigma_p^2 = \sigma_A^2/\sigma_p^2$

- full sib (FS) analyse : $h^2 = 2cov(FS)/\sigma_p^2 = (\sigma_A^2 + \frac{1}{2}\sigma_{Do}^2 + \sigma_M^2)/\sigma_p^2$

Bij afwezigheid van dominantie-effekten (σ_{Do}^2) kan dus uit de verschillend berekende erfelijkheidsgraden het maternale effect berekend worden. De additieve (σ_A^2), maternale (σ_M^2) en milieu variantie (σ_e^2) staan, in procenten uitgedrukt van de fenotypische variantie (σ_p^2), vermeld in tabel 12. Daaruit blijkt dat voor Cp 1 en ToCu 1 in belangrijke mate maternale effecten aanwezig zijn. Opvallend zijn de hoge erfelijkheidsgraden voor γ -GT 1 en AF 1, waarbij weinig maternale effecten aanwezig zijn. Voor de andere speenparameters is geen significant vader- of moedereffect aanwezig. Opgemerkt moet worden dat het hier "gepoolde" erfelijkheidsgraden betreft over alle rassen heen; een schatting van h^2 binnen rassen is niet mogelijk vanwege de geringe aantallen per ras.

Een zelfde toets is ook uitgevoerd voor de slachtparameters met behulp van het model:

$$Y_{ijklm} = \mu + R_i + VN_j + EM_k + \frac{V}{-11} + bX_{ijklm} + e_{ijklm}$$

waarbij y = afhankelijke variabele

μ = algemeen gemiddelde

R_i = raseffect

VN_j = voerniveaueffect

EM_k = eindgewichteffect

$\frac{V}{-11}$ = vadereffect

X = begingewicht

e = restterm

Een toets op moeder-effect is niet mogelijk binnen dit model, omdat het moeder-effect verstrengeld is met het voerniveau-effect.

Tabel 13: F-toets en h^2 -schattingen uit vadereffekten voor enkele slachtparameters.

	<u>F</u>	h^2	<u>+ SE</u>
Cp 2	1,1	0,18	$\pm 0,36$
ToCu 2	0,9	-	
VrCu 2	1,0	-	
γ -GT 2	1,8 ^x	0,85	$\pm 0,39$
AF 2	1,3	0,31	$\pm 0,37$
LCu	1,2	0,20	$\pm 0,36$

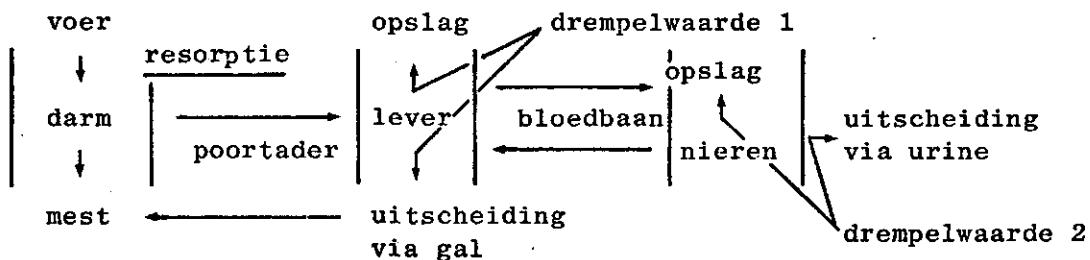
x : $p < 0,05$

De uitkomsten van de toets staan in tabel 12. Ook hier heeft γ -GT een hoge erfelijkheidsgraad, nl. 0,85. De berekende h^2 (0,20) voor het kopergehalte in de lever is niet significant, en lijkt wat aan de lage kant vergeleken met wat in het buitenland gevonden is (SCHMITTEN, LÜKE & TRAPPMANN, 1978).

8. DISCUSSIE

8.1. Algemeen

Men zou zich de routes van het koper in het lichaam als volgt kunnen voorstellen. Het koper dat met het voer wordt opgenomen wordt of door het darmkanaal geresorbeerd of verlaat zonder meer met de mest het lichaam. Het geresorbeerde koper wordt vervolgens aangeboden aan de lever. In de lever wordt een gedeelte van dit koper ingebouwd in ceruloplasmine (d.i. een eiwit dat in de lever wordt gemaakt en wordt afgestaan aan het bloed), een deel wordt opgeslagen en het resterende deel wordt uitgescheiden met de gal. Dit laatste komt op deze manier in de mest terecht. Voordat de lever koper opslaat moet er een bepaalde concentratie in het plasma aanwezig zijn (drempelwaarde 1). Beneden deze waarde wordt geen koper opgeslagen in de lever of uitgescheiden met de gal, maar gaat via de bloedbaan naar de nieren. In de nieren zijn er drie mogelijkheden voor het koper: opslag van koper, uitscheiding van koper via de urine of terug via de bloedbaan. Ook voor de nieren geldt een drempelwaarde (drempelwaarde 2) waar beneden geen koper in de nieren wordt opgeslagen of uitgescheiden. Het model ziet er schematisch als volgt uit:



De rasverschillen in leverkopergehalte en plasmakopergehalte kunnen met behulp van dit model op verschillende manieren verklaard worden:

- het ene ras neemt meer koper op uit de darm (hogere resorptiecoëfficiënt) dan het andere, waardoor er meer koper in de bloedbaan komt
- de drempelwaarden 1 en 2 kunnen verschillen waardoor er verschillen tussen de rassen in opslag en uitscheiding ontstaan
- combinatie van (a) en (b)

8.2. Relatie plasma koper, ceruloplasmine en leverkoper

Het is nog niet duidelijk waardoor de hoeveelheden circulerend plasma koper en ceruloplasmine bepaald worden. Een relatie met het leverkopergehalte kan door ons niet worden aangetoond. V.d. GRIFT (1955) vond bij runderen een positieve correlatie tussen plasmakoperconcentratie en het kopergehalte in de lever beneden een bepaalde drempelwaarde. In onze proef kan een dergelijke drempelwaarde niet worden aangetoond. Het plasma kopergehalte blijkt te worden bepaald door:

- a. het ras (significant)
- b. het voerniveau of te wel de hoeveelheid opgenomen koper per dag.

Het ceruloplasmine speelt de rol van transporteiwit van koper naar de enzymen waarin het koper wordt ingebouwd. In lever en nieren wordt het overtollige koper uit het bloed weggehaald.

Dat de nieren een vrij belangrijke rol spelen bij het wegvangen van koper uit de bloedbaan blijkt uit het feit dat een lam dat nierstenen had, een sterk verhoogd ceruloplasmine en plasma kopergehalte te zien gaf (eigen waarneming).

Met behulp van voorgenoemd model (8.1) kunnen verschillende plasmakoper en leverkopergehaltes verklaard worden.

Het is mogelijk dat de Texelaar en het Finse Landras evenveel koper resorberen, maar dat drempelwaarde 1 bij de Texelaar erg laag is, terwijl bij het Finse Landras drempelwaarde 2 erg laag is. De hoeveelheid circulerend ceruloplasmine zou deze drempelwaarde mogelijk kunnen beïnvloeden.

Ile de France en de kruising (EP) hebben verhoudingsgewijs minder ceruloplasmine nodig om koper te transporteren dan de andere rassen. Vreemd is de significante negatieve correlatie tussen Cp 2 en het leverkopergehalte bij het Finse Landras ($r = -0,40$) en de positieve correlatie bij de Ile de France ($r = 0,48$). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat IF dieren met hoog ceruloplasmine niveau een hoge drempelwaarde 2 hebben, met als gevolg een grotere opslag van koper in de lever; FF dieren met hoog ceruloplasmine niveau kunnen een hogere drempelwaarde 1 hebben, waardoor meer koper aan de nieren wordt afgegeven. Het lijkt in dit verband gewenst om meer onderzoek te doen naar de resorptie van koper en de verdeling van het koper over de verschillende organen, zodat een uitspraak gedaan kan worden over het feit of de in dit onderzoek gevonden rasverschillen worden veroorzaakt door verschillen in resorptie of door verschillen in re-

tentie of door verschillen in beide. Het is ook nog mogelijk dat er verschillen in uitscheiding zijn. In dit verband is de Cu-Molybdeen en Cu-Zink interactie van belang.

Het feit dat de correlaties tussen gebonden koper en ceruloplasmine bij het spenen niet zo hoog zijn als bij het slachtmoment kan misschien verklaard worden doordat het pas gespeende lam nog niet goed in staat is de hoeveelheid ceruloplasmine af te stemmen op de hoeveelheid circulerend koper.

Dat maternale effecten voor ceruloplasmine en plasma koper aanwezig zijn is ook reeds aangetoond door WIENER (1978) en NORHEIM & SOLI (1977).

Beide hebben bewezen dat transport van koper via de placenta mogelijk is.

8.3. Relatie hoeveelheid opgenomen krachtvoer-leverkoper-gehalte

De correlatie tussen de hoeveelheid opgenomen krachtvoer en het leverkopergehalte is, behalve bij de Ile de France, voor alle rassen significant positief. Uit de berekende regressielijnen blijkt dat de Texelaar de grootste hoeveelheid koper in de lever opslaat uit een bepaalde hoeveelheid voer, dan volgt de kruising en vervolgens het Finse Landras. De Ile de France trekt zich wat betreft koper van de hoeveelheid opgenomen krachtvoer niets aan, zelfs is er bij dit ras een significant negatieve correlatie tussen de hoeveelheid opgenomen krachtvoer per dag en het kopergehalte in de lever ($r = -0,42$).

Mogelijk resorbeert de Ile de France een vaste hoeveelheid koper, onafhankelijk van de hoeveelheid opgenomen voer. Hoe meer krachtvoer het dier opneemt per dag, hoe harder het dier zal groeien en hoe sneller het slachtgewicht zal zijn bereikt. Het snelgroeiend dier zal dan een lager leverkopergehalte hebben dan een langzamer groeiend dier.

De uitzonderlijke positie van de Ile de France is mogelijk te verklaren doordat de lammeren van dit ras gedurende een lange reeds jaren met behulp van krachtvoer zijn opgefokt, waardoor er een selectie is opgetreden op het leverkopergehalte ($h^2 = 0,20 \pm 0,36$) en/of op ceruloplasminegehalte ($h^2 = 0,18 \pm 0,36$; $r(\text{Cp } 2, \text{LCu}) = 0,48$). Indien bij de andere rassen een redelijke correlatie zou bestaan tussen het ceruloplasminegehalte en het kopergehalte in de lever, zouden er praktische gezien mogelijkheden liggen om op ceruloplasminegehalte te gaan selecteren om zodoende het leverkopergehalte te gaan verlagen.

LUKE & MARQUERING (1972) hebben voor Texelaar, Duitse Melkschaap en Schwarzkopf één regressielijn berekend van hoeveelheid opgenomen koper op het leverkopergehalte, nl. $y = 476 + 287X$,

waarbij y = leverkopergehalte in ppm

X = hoeveelheid opgenomen koper in 9 weken.

Omgerekend in hoeveelheid krachtvoer met 11 ppm wordt deze regressie-coëfficiënt 3.16.

Deze coëfficiënt is laag ten opzichte van de in ons onderzoek gevonden coëfficiënten, maar is over verschillende rassen berekend waarbij het Duitse Melkschaap en Schwarzkopf deze coëfficiënt verlaagd kunnen hebben. De in ons onderzoek gevonden coëfficiënten 4,53 - 5,25 voor de Texelaar zijn in overeenstemming met het Duitse onderzoek.

Evenals in 8.2 blijft het probleem dat geen uitspraak gedaan kan worden over het feit of de in dit onderzoek gevonden rasverschillen veroorzaakt worden door verschillen in resorptie of door verschillen in retentie of door verschillen in beide.

8.4. Het levermonster

Als levermonster is de Spiegelse kwab, een caudale kwab, genomen, omdat deze gemakkelijk te identificeren en af te snijden is, zodat er van elk lam een zelfde levermonster genomen kan worden. Het is echter de vraag of deze Spiegelse kwab representatief mag worden genoemd voor de totale lever.

HOGAN et al. (1971) vonden verschillende koperniveaus op verschillende plaatsen in de lever. VAN KOETSVELD (1954) geeft aan dat de rechter kwabben van de lever het eerst met koper bevoorrad worden en daarna de linker kwabben. De Spiegelse kwab neemt hierbij een tussenpositie in. Uit eigen bevindingen blijkt dat er verschillen kunnen optreden tussen de verschillende kwabben, maar dat dit niet altijd het geval hoeft te zijn.

In het artikel van HOGAN et al. komt naar voren dat het kopergehalte in de Spiegelse kwab toch een redelijke indruk geeft van het totale leverkopergehalte. Een betere, maar omslachtiger methode is de bepaling van het kopergehalte in de lever, waarbij dan ook het levergewicht bepaald moet worden, maar gezien de hoeveelheid werk is het de vraag of dit opweegt tegen de extra informatie welke dan verkregen wordt.

9. SAMENVATTING

Bij enkele schapenrassen is nagegaan of er bepaalde verbanden bestaan tussen het kopergehalte in de lever en enkele bloedparameters. Het materiaal bestond uit 150 ramlammeren van 5 paringstypen, nl. Ile de France (IF), Finse Landras (FF), geselecteerde Texelaar (TS), een kruisingsprodukt ($EP = TS \times (IF \times FF)$) en een controle Texelaar (TC), welke deel uitmaakten van een voeropnameproef. Deze lammeren bestonden uit paren gevormd door full sibs, half sibs en onverwante dieren, waarvan het ene dier ad lib en het andere dier 85 % van ad lib werd opgefokt met krachtvoer naast een hooigift van 150 g per dag. Deze paren zijn daarop verdeeld over 3 slachtgewichten, nl. 38, 42 en 46 kg.

Van deze lammeren werd bij spenen en bij slacht bloed afgenomen, waarin de volgende parameters werden bepaald: hemoglobinegehalte, hematocrietwaarde, ceruloplasmine, totaal en vrij plasma koper, γ -GT, alkalische fosfatase en het hemoglobine-type. Bij de slacht werd tevens een levermonster genomen, waarin het kopergehalte kon worden bepaald.

Het raseffekt was significant voor hemoglobinegehalte en hematocrietwaarde bij het spenen. Bij de slachtparameters was het raseffekt significant voor hemoglobine en hematocriet, ceruloplasmine, vrij koper, γ -GT, alkalische fosfatase en het leverkopergehalte. De Texelaars scoorden gemiddeld het hoogst met het leverkopergehalte, nl. 727 ppm, het Finse Landras het laagst met 292 ppm. De lever van de Ile de France bevatte gemiddeld 587 ppm koper; de kruising (532 ppm) lag op het niveau zoals verwacht kon worden op grond van intermediaire vererving.

Een "overall" verband tussen de bloedparameters en het leverkopergehalte kon in dit onderzoek niet worden aangetoond.

Bij vier van de vijf paringstypen is er een positieve significante correlatie tussen de hoeveelheid opgenomen krachtvoer en het leverkopergehalte. De berekende regressielijnen zijn als volgt:

IF		$r = 0,02$
FF	$y = 177 + 1,13 \times \text{voer}$	$r = 0,37$
TS	$y = 377 + 5,25 \times \text{voer}$	$r = 0,54$
TC	$y = 416 + 4,53 \times \text{voer}$	$r = 0,43$
EP	$y = 216 + 4,05 \times \text{voer}$	$r = 0,61$

waarbij $y =$ leverkopergehalte.

Deze regressiecoëfficiënten verschillen significant van elkaar. Dit betekent dat TS en TC meer koper uit dezelfde hoeveelheid voer opslaan dan EP en FF. De Ile de France is ongevoelig voor de hoeveelheid opgenomen krachtvoer.

Van de bepaalde parameters zijn ook erfelijkheidsgraden berekend. Een duidelijk maternaal effect werd aangetoond voor het plasma kopergehalte. Opvallend waren de hoge erfelijkheidsgraden voor γ -GT (0,49) en AF (0,94) bij spenen en bij de slacht (resp. 0,85 en 0,31). De berekende erfelijkheidsgraad voor leverkopergehalte ($h^2 = 0,20 \pm 0,36$) was niet significant.

10. LITERATUUR

- Abdellatif, A.M.M. Conditioned hypocuprosis: some effects of diet on copper storage in ruminants. Thesis, Utrecht (1968).
- Adrichem, P.W.M. van. Wijzigingen in de activiteit van serumenzymen en in het LDH iso-enzym patroon bij chronische koperintoxicatie van schapen. Tijdschrift voor Diergeneeskunde (1965), 90, 1371-1381.
- Agar, N.S., J.V. Evans & J. Roberts. Red blood cell potassium and haemoglobin Polymorphism in sheep. A review. Animal Breeding Abstracts (1972), 40, 3, 407-437.
- Becker, W.A. Manual of quantitative genetics. Washington State University Press (1975).
- Bekedam, M., C.H. Herweyer. Schapenteelt en Schapenziekten. Zutphen. Uitg. Terra (1973).
- Blomfield, J. & R.A. Macmahon. Micro determination of plasma and erythrocyte copper by atomic absorption spectrophotometry. Journal of Clinical Pathology (1969), 22, 136-143.
- Dixon, W.J. Biomedical Computer Programs. University of California Press, Los Angeles (1973), 705-719.
- Grift, J. van der. Het kopergehalte van lever en bloedserum van het Fries-Hollandse rund. Thesis, Utrecht (1955).
- Hanrahan, J.P. et al. Haemoglobin genotype, reproductive performance and response to PMSG in sheep. Journal of Reproduction and Fertility (1977), 51, 499-501.
- Harvey, W.R. Instructions for use of LSMLMM. Ohio State University (1976).
- Hayter, S., G. Wiener en A.C. Field. Variation in the concentration of copper in the blood plasma of Finnish Landrace and Merinosheep and their crosses with reference to reproductive performance and age. Animal Production (1973), 16, 261-269.
- Herbert, J.G., G. Wiener & A.C. Field. The effect of breed and of dried seaweed meal in the diet on the levels of copper in liver, kidney and plasma of sheep fed on a high copper diet. Animal Production (1978), 26, 193-2-1.
- Hill, R. Copper Toxicity. British Veterinary Journal (1977), 133, 219-224.

- Hogan, K.G., D.F.L. Money & R.S. Walker. The distribution of copper in the liver of pigs and sheep and its effect on the value of chemical analysis made on biopsy samples. New Zealand Journal of Agricultural Research (1971), 14, 132-141.
- Kampen, E.J. van & W.G. Zijlstra.
Clin.Chim.Acta (1971), 6, 538.
- Koetsveld, E.F. van. Enkele aspecten van de koperstofwisseling. Tijdschrift voor Diergeneeskunde (1954), 79, 495-504.
- Leenstra, F.R. Bloedpolymorphismen en hun relatie tot vruchtbaarheid bij schapen. Doctoraalscriptie Gezondheids- en Ziekteleer der Huisdieren, Landbouwhogeschool, Wageningen (1978).
- Lüke, F. & B. Marquering. Untersuchungen über den Mineralstoffgehalt in der Schafleber. 1. Fütterungsbedingte und genetische Einflüsse auf den Cu-gehalt. Züchtungskunde (1972), 44, 56-65.
- Lüke, F. & B. Marquering. Untersuchungen über den Mineralstoffgehalt in der Schafleber. 3. Weitere Ergebnisse über den Kupfer-, Zink-, Kalium-, Natrium-, Magnesium- und Trockenmassegehalt der Lebern von Schafen verschiedener Rasse bei constanten Cu-gehalt im Futter. Züchtungskunde (1974), 46, 43-49.
- Marquering, B., F. Lüke & M. Marquardt. Untersuchungen über den Mineralstoffgehalt in der Schafleber. 2. Einfluss von Kupfer auf den Wasser-, Natrium-, Kalium- und Zinkgehalt. Züchtungskunde (1972), 44, 66-71.
- Menden, E.E., D. Brochman, H. Cloudburly & H.G. Petering. Dry ashing of Animal Tissues for Atomic Absorbtion. Spectrometric determination of zinc, copper, cadmium, lead, iron, manganese, magnesium and calcium. Analytical Chemistry (1977), 49, 1644-1645.
- Merck Veterinary Manual, 1973.
- Meret, S. & R.I. Henkin. Simultaneous Direct estimation by Atomic Absorbtion Spectrophotometry of copper and zinc in serum, urine and cerebrospinal fluid. Clinical Chemistry (1971), 17, 369-373.
- Norheim, G. & E. Soli. Chronic copper poisoning in sheep. II. The distribution of soluble copper molybdenum and zinc-binding proteins from liver and kidney. Acta Pharmacologica et Toxicologica (1977), 40, 178-187.

- Richterich, R. Klinische Chemie, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt (1965), 242-244.
- Schmitt, F., F. Lüke & W. Trapmann. Untersuchungen über den Mineralstoffgehalt in der Schafleber. 4. Ermittlung phänotypischer und genetischer Parameters. Züchtungskunde (1978), 50, 234-241.
- Sol, J. Chronische kopervergiftiging bij het schaap en de preventie ervan. Referaat Diergeneeskunde, Utrecht (1970).
- Soli, E. et al. The distribution of soluble copper- and zinc-binding liverproteins of lambs compared with adult sheep. Acta Pharmacologica et Toxicologica (1977), 40, 570-574.
- Sunderman, F.W. & Shozo Nomoto. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-Phenylenediamine Oxidase activity. Clinical Chemistry (1970), 16, 903-910.
- Thompson, R.H. & W.J. Blanchflower. Wet ashing apparatus to prepare biological materials for atomic absorption spectrophotometry. Lab. Pract. (1971), 20, 859-861.
- Todd, J.R. Chronic copper poisoning in farm animals. The veterinary Bulletin (1962), 32, 573-580.
- Ulsen, F.W. van. Schapen, varkens en koper. Tijdschrift voor Diergeneeskunde (1972), 97, 735-738.
- Vink, J.H. Enkele aspecten van de kopervergiftiging van het schaap in Gelderland. Referaat Diergeneeskunde, Utrecht (1977).
- Visscher, A.H. A crossbreeding experiment with Finnish Landrace, Ile de France and Texel. Some preliminary results. Sheep breeding: proceedings of the 1976 International Congress. Muresk and Perth, W. Australia, August 1976, 129-138.
- Wensvoort, P., C.H. Herweyer & Th. Wensing. Het optreden, de diagnostiek en het verloop van chronische hepatitis bij gespeende lammeren in een koppel Texelse schapen. Tijdschrift voor Diergeneeskunde (1975), 100, 865-874.
- Wiener, G., A.C. Field & J. Wood. The concentration of minerals in the blood of genetically diverse groups of sheep. 1. Copper concentration at different seasons in Blackface, Cheviot, Welsh Mountain and Crossbred sheep at the pasture. Journal of Agricultural Science (1969), 72, 93-101.

- Wiener, G. & A.C. Field. The concentration of minerals in the blood of genetically diverse groups of sheep. 3. Correlations among calcium, phosphorus, magnesium, potassium, sodium, chlorine and copper concentrations. *Journal of Agricultural Science* (1969), 73, 275-278.
- Wiener, G., A.C. Field & G.M. Jolly. The concentration of minerals in the blood of genetically diverse groups of sheep. 4. Factors influencing seasonal changes in copper concentration. *Journal of Agricultural Science* (1970), 75, 489-495.
- Wiener, G. & N.S.M. Macleod. Breed, bodyweight and age as factors in the mortality rate of sheep following copper injection. *The Veterinary Record* (1970), 86, 740-743.
- Wiener, G. Relationships between incidental swayback incidence and concentration of copper in the blood of sheep of different breeds. *Journ.Comp.Path.* (1971), 81, 515-520.
- Wiener, G., J.G. Hall & S. Hayter. An association between the concentrations of copper in whole blood and haemoglobine type in sheep. *Animal Production* (1973), 17, 1-7.
- Wiener, G. et al. Relationships between haemoglobine type and copper concentrations in whole blood and its components in sheep of different breeds. *Animal Production* (1974), 19, 291-299.
- Wiener, G. & S. Hayter. Selection for plasma copper concentrations within haemoglobine types in sheep. *Animal Production* (1976), 22, 385-393.
- Wiener, G. Deaths from copper toxicity of sheep at pasture and the use of fresh seaweed. *The Veterinary Record* (1977), 101, 425.
- Wiener, G. Genetic variation in mineral metabolism in relation to disorders. E.A.A.P., 29th Meeting 1978.

SUMMARY

The relationship between some blood constituents, the quantity of concentrate fed and the copper content in the liver of five different genotypes of sheep was investigated.

The material consisted of 150 ram lambs from the following genotype: Ile de France (IF), Finnish Landrace (FF), a Selected Texel (TS), three-way crossbred (EP = TS x (IF x FF) and a Control Texel (TC). There were pairs of full sibs, half sibs and unrelated pairs, from which one lamb was fed ad libitum and the other lamb 85 percent of ad lib on a weight basis. The feeding regime consisted of concentrates, supplied with 150 grams of hay. The lambs were single housed. These pairs were divided at random over the following three slaughterweights: 38 kg, 42 kg and 46 kg live weight.

The lambs were bled at weaning (age 60 + 5 days) and at slaughter. In the collected blood the following constituents were analysed: haemoglobin, haematocrit, ceruloplasmin, total plasma and free plasma copper, γ -GT and alkaline phosphatase. At slaughter a sample of the liver was taken in which the copper content was determined.

Haemoglobine and haematocrit at weaning were significantly effected by the mating type. At slaghter the mating type had a significant effect on haemoglobine, haematocrit, ceruloplasmin, free plasma copper, γ -GT, alacaline phosphatase and the liver copper content.

The Texel breed had the highest copper content in the liver (727 ppm), the Finnish Landrace the lowest (292 ppm). Ile de France had an average of 587 ppm, the three way crossbred had a copper level (532) which could have been expected from intermediate inheritance.

An overall relation between the blood constituents and the copper content in the liver could not be proven. There was a positive significant correlation between the quantity of concentrate and the liver copper content for four mating types.

The regression equations are:

$$\text{FF } y = 177 + 1.13 X$$

$$\text{TS } y = 377 + 5.25 X$$

$$\text{TC } y = 416 + 4.53 X$$

$$\text{EP } y = 216 + 4.05 X$$

in which y is livercopper content and X is the quantity of concentrate. These regression-coefficients differ significantly from each other. This means that TS and TC accumulate more copper than EP and FF from the same quantity of concentrate. IF seems to be unaffected by the quantity of concentrate.

For some traits genetic parameters have been calculated. There was a maternal effect on the plasma copper content at weaning. The heritabilities of γ -GT (0.49) and AP (0.94) at weaning and at slaughter (0.85 and 0.31) were high. The calculated heritability of the liver copper content (0.20 + 0.36) was not significant.