

POLIMORFIZM GENETYCZNY NIEKTÓRYCH BIAŁEK I ENZYMÓW KRWI KONI CZYSTEJ
KRWI ARABSKIEJ HODOWANYCH W POLSCE

Jolanta Janiszewska

Katedra Hodowli Trzody Chlewnej i Koni AR, Szczecin

Koń arabski dzięki swej urodzie oraz dużym zaletom użytkowym i hodowlanym zdobył już dawno uznanie w Europie i na świecie. Hodowla polskich arabów, uważana za najlepszą, wywarła silny wpływ na kształtowanie się typu konia arabskiego na obu kontynentach.

Wykorzystując szerokie zastosowanie genetycznego polimorfizmu białek i enzymów krwi zwierząt oraz na podstawie częstotliwości genów i genotypów niektórych białek postanowiono w opracowaniu tym scharakteryzować rasę koni czystej krwi arabskiej hodowanych w Polsce. Podjęto także próbę określenia struktury genetycznej całej populacji, jak i poszczególnych linii.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 932 konie czystej krwi arabskiej pochodzące ze stadnin państwowych w Janowie Podlaskim, Kurozwałkach i Michałowie.

Materiał doświadczalny stanowiły ogiery hodowlane i ogierki (339 sztuk) zgrupowane w ośmiu liniach oraz klacze stadne i klaczki (593 sztuki) reprezentujące piętnaście linii żeńskich. Krew pobierano od zwierząt w różnym wieku, poczynając od trzeciego miesiąca życia.

W surowicy oznaczano typy albuminy, transferyny, esterazy kwaśnej (pH 4,5) i esterazy zasadowej (pH 8,6).

W hemolizatach oznaczano typy dehydrogenazy 6-fosfoglukonowej, fosfoglukomutazy, izomerazy fosfoheksozonowej, anhidrazy węglanowej i katalazy.

Częstotliwość występowania oraz liczbę oczekiwanych fenotypów badanych białek obliczono zgodnie z prawem Hardy-Weinberga. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem testu χ^2 i przedstawiono w postaci tabel i wykresów.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Badania przeprowadzone nad polimorfizmem albuminy, transferyny, esterazy kwaśnej i zasadowej, 6-PGD; PGM, PHI, CA i CaT pozwalają stwierdzić, że populacja znajduje się w równowadze genetycznej pod względem ośmiu z omawianych białek, jedynie rozkład fenotypów PGM odbiega w sposób wysokoistotny od spodziewanego ($\chi^2 = 32,97$).

Wysoka częstotliwość genów Tf^F i Tf^D u koni arabskich jest zbliżona do częstotliwości tych dwóch genów stwierdzonej przez Tomaszewską-Guszkiewicz i Kamińską [9] u koników polskich. Inaczej kształtują się frekwencje fenotypów transferyny u innych ras koni. Braend i wsp. [1] u fiordingów zaobserwowali najwyższą frekwencję Tf^F i Tf^R . U koni dôle [7] zdecydowanie największą częstotliwość wykazują allele Tf^R i Tf^D . Kamińska i Urbańska-Nicolas [4] stwierdzają występowanie genu Tf^R u wszystkich ras kuców, fiordingów, haflingerów; ponadto u kuców Pottok otrzymano gen Tf^M . Badając surowicę koni islandzkich Hesselholt [3] zidentyfikował allele Tf^R i Tf^M zarówno w układach homo-, jak i heterozygotycznych.

Występowanie allelu Tf^M u koni lipicańskich stwierdzają Schleger i wsp. [6].

W omawianej populacji koni arabskich nie zaobserwowano obecności genu Tf^R i genu Tf^M .

O pewnej odrębności polskiej populacji koni arabskich świadczy również obecność w niektórych liniach allelu esterazy G . Po raz pierwszy obecność tego allelu u polskich arabów stwierdziły Kamińska i Tomaszewska-Guszkiewicz w 1978 r. [5]. Allel Es^G został stwierdzony jedynie u koników polskich [9] oraz u kilku ras kuców we Francji [4]. Przeprowadzono analizę genealogiczną osobników z tym allelem w polskiej populacji, aby prześledzić przekazywanie go potomstwu. Analiza kilkunastu pokoleń koni czystej krwi arabskiej hodowanych w Polsce pozwala postawić hipotezę, iż gen Es^G został przyniesiony do Polski przez oryginalne araby pustynne importowane w XIX wieku, a jego obecność jest typowa dla niektórych analizowanych linii żeńskich i męskich.

Opierając się na uzyskanych wynikach badań przeanalizowano częstotliwość występowania fenotypów omawianych białek w 15 liniach żeńskich. Stwierdzono istotne różnice pomiędzy liniami w częstotliwości występowania fenotypów albuminy i transferyny; wysokoistotne dla esterazy kwaśnej i zasadowej oraz PHI, natomiast w rozkładzie fenotypów 6-PGD, PGM, CA i CaT różnice między liniami żeńskimi nie wystąpiły. Nieco inaczej przebiegał rozkład fenotypów analizowanych białek w liniach męskich. W sześciu na dziewięć omawianych układów białek wystąpiły różnice wysokoistotne, a mianowicie w albuminie, transferynie, esterazie kwaśnej, PGM, CA, CaT. Różnice istotne stwierdzono w rozkładzie 6-PGD i PHI. Nie zaobserwowano żadnych różnic w częstotliwości występowania w ośmiu liniach męskich fenotypów esterazy zasadowej.

T a b e l a 1

Obserwowany i spodziewany rozkład fenotypów 9 układów białek
 Observed and expected frequency of phenotypes in 9 protein systems

Białko Protein	Ogółem, szt. Total number	Fenotyp Phenotype	Rozkład fenotypów (szt.) Frequency of phenotypes		χ^2
			obserwowany observed	spodziewany expected	
Albumina (Alb) Albumin	913	FF	173	178,37	0,51
		FS	463	450,36	
		SS	279	284,27	
Transferyna (Tf) Transferin	913	DD	72	87,74	13,83
		DF	370	340,20	
		DH	38	31,70	
		DO	14	18,68	
		FF	313	329,79	
		FH	57	61,46	
		FO	45	36,21	
		HH	3	2,86	
		HO	1	3,37	
OO	-	0,99			
Esteraza zasadowa (pH 8,6 Es zas.) Es-alkaline	932	FF	11	10,30	3,32
		FI	174	172,40	
		II	711	717,40	
		IS	36	31,56	
SS	-	0,34			
Esteraza kwaśna (pH 4,5 Es kw.) Es-acid	932	GG	14	7,89	6,40
		GI	140	151,08	
		FG	4	4,63	
		FI	46	44,34	
		II	728	723,38	
FF	-	0,68			
Dehydrogenaza 6-fosfoglukonowa (6-PGD) 6-phosphogluconian- dehydrogenase	913	FF	82	79,99	0,12
		FS	376	380,51	
		SS	455	452,50	
Fosfoglukomutaza (PGM) Phosphoglukomutase	913	FF	113	77,31	32,97 **
		FS	305	376,74	
		SS	495	458,95	
Izomeraza fosfohek- sozonowa (PHI) Phosphohexoson isomerase		FF	-	0,15	0,16
		FI	23	23,43	
		II	890	889,42	
Anhydraza węglanowa (CA) Carbon anhydrase	913	FF	2	1,39	0,27
		FI	68	68,44	
		II	843	843,17	
Katalaza (CaT) Catalase	701	FF	2	1,07	0,94
		FS	50	52,54	
		SS	649	647,39	

T a b e l a 2

Częstości fenotypowe i alleliczne 9 układów białek
Phenotype and allelic frequencies in 9 protein systems

Enzymy i inne białka Enzymes and other proteins	Feno- typy Pheno- types	Cała populacja Whole population			Klaczce (15 linii) Mares (15 lines)			Ogiery (8 linii) Stallions (8 lines)		
		n	%	frekf. alleli. frequency	n	%	frekf. alleli frequency	n	%	frekf. alleli frequency
Alb	FF	173	18,85	0,442	113	19,69	0,449	60	17,70	0,431
	FS	461	50,49		289	50,35		172	50,74	
	SS	279	30,56	0,558	172	29,96	0,551	107	31,56	0,569
Tf	OO	72	7,80	0,310	42	7,32	0,295	30	8,85	0,336
	DF	370	40,53		225	39,20		145	42,77	
	DH	38	4,16		18	3,13		20	5,90	
	DO	14	1,53		11	1,92		3	0,89	
	FF	313	34,28	0,601	208	36,25	0,616	105	30,98	0,577
	FH	57	6,24		34	5,92		23	6,78	
	FO	45	4,93		32	5,57		13	3,83	
	HH	3	0,33	0,056	3	0,52	0,051	-	-	0,063
	HO	1	0,11		1	0,17		-	-	
OO	-	-	0,033	-	-	0,038	-	-	0,024	
Es pH 8,6	FF	11	1,18	0,105	10	1,69	0,116	1	0,29	0,089
	FI	174	18,67		117	19,73		57	16,82	
	II	711	76,29	0,876	442	74,54	0,864	269	79,35	0,895
	IS	36	3,86		24	4,04		12	3,54	
	SS	-	-	0,019	-	-	0,020	-	-	0,018
Es pH 4,5	FF	-	-	0,027	-	-	0,028	-	-	0,025
	FG	4	0,43		3	0,50		1	0,29	
	FI	46	4,94		30	5,06		16	4,72	
	GG	14	1,50	0,092	12	2,02	0,094	2	0,59	0,090
	GI	140	15,02		84	14,17		56	16,52	
	II	728	78,11	0,881	464	78,25	0,878	264	77,88	0,885
6-PGD	FF	82	8,98	0,296	73	12,72	0,319	9	2,69	0,257
	FS	376	41,18		220	38,33		156	46,02	
	SS	455	49,84	0,704	281	48,95	0,681	174	51,33	0,743
PGM	FF	113	12,38	0,291	71	12,37	0,293	42	12,39	0,288
	FS	305	33,41		194	33,80		111	32,74	
	SS	495	54,21	0,709	309	53,83	0,707	186	54,87	0,712
PHI	FF	-	-	0,013	-	-	0,015	-	-	0,009
	FI	23	2,52		17	2,96		6	1,77	
	II	890	97,48	0,987	557	97,04	0,985	333	98,23	0,991
CA	FF	2	0,22	0,040	1	0,17	0,036	1	0,29	0,044
	FI	68	7,45		40	6,97		28	8,26	
	II	843	92,33	0,960	533	92,86	0,964	310	91,45	0,956
CaT	FF	2	0,29	0,039	2	0,55	0,048	-	-	0,028
	FS	50	7,13		31	8,56		19	5,60	
	SS	649	92,58	0,961	329	90,89	0,952	320	94,40	0,972

T a b e l a 3

Różnice w częstotliwości występowania określanych fenotypów
9 układów białek pomiędzy liniami żeńskimi
Differences in frequency of occurrence of certain phenotypes in
9 protein systems between damlines

Białko - enzym Protein - enzyme	Liczba porówny- wanych linii żeńskich Number of compared damlines	Liczba fenotypów Number of phenotypes	Liczba stopni swobody Number of degrees of freedom	χ^2
Albuminy Albumins	15	3	28	43,40*
Transferyny Transferrins	14	9	104	147,06*
Esteraza zasadowa Es-alkaline	14	4	39	148,00**
Esteraza kwaśna Es-acid	14	5	52	123,66**
6-PGD	14	3	26	34,83
PGM	14	3	26	26,02
PHI	14	2	13	32,15**
CA	14	3	26	17,91
CaT	13	3	24	21,94

T a b e l a 4

Różnice w częstotliwości występowania określanych fenotypów
9 układów białek pomiędzy liniami męskimi
Differences in frequency of occurrence of certain phenotypes in
9 protein systems between sire lines

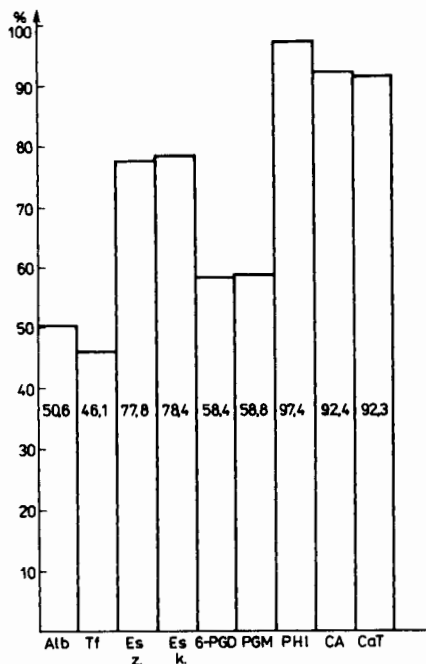
Białko - enzym Protein - enzyme	Liczba porówny- walnych linii męskich Number of compared sire lines	Liczba fenotypów Number of phenotypes	Liczba stopni swobody Numbers of degrees of freedom	χ^2
Albuminy Albumins	8	3	14	67,37**
Transferyna Transferrin	8	7	42	120,75**
Esteraza zasadowa Es-alkaline	8	4	21	22,59
Esteraza kwaśna Es-acid	8	5	28	93,26**
6-PGD	8	3	14	23,69**
PGM	8	3	14	70,25**
PHI	8	2	7	17,43*
CA	8	3	14	30,52**
CaT	8	2	7	33,12**

T a b e l a 5

Częstotliwość występowania homo- i heterozygot w poszczególnych układach białek krwi koni czystej krwi arabskiej

Frequency of occurrence of homo- and heterozygotes in separate blood protein systems in purebred Arabian horses

Układ System	Cała populacja		Ogiery		Klaczce		χ^2
	Whole population		Stallions		Mares		
	n	%	n	%	n	%	
Transferyny - Transferrins							
9 fenotypów - 9 phenotypes	913	100	339	100	574	100	1,58
homozygoty - homozygotes	338	42,50	135	39,82	253	44,08	
heterozygoty - heterozygotes	525	57,50	204	60,18	321	55,92	
Albuminy - Albumins							
3 układy - 3 systems	913	100	339	100	574	100	0,012
homozygoty - homozygotes	452	49,50	167	49,26	285	49,65	
heterozygoty - heterozygotes	461	50,50	172	50,74	289	50,35	
Esteraza zasadowa							
Es - alkaline							
4 fenotypy - 4 phenotypes	932	100	339	100	593	100	1,34
homozygoty - homozygotes	722	77,47	270	79,65	452	76,26	
heterozygoty - heterozygotes	210	22,53	69	20,35	141	23,78	
Esteraza kwaśna - Es-acid							
5 fenotypów 5 phenotypes	932	100	339	100	593	100	0,043
homozygoty - homozygotes	742	79,61	266	78,46	476	80,27	
heterozygoty - heterozygotes	190	20,39	73	21,54	117	19,73	
6 - PGD							
3 fenotypy - 3 phenotypes	913	100	339	100	574	100	5,20*
homozygoty - homozygotes	537	58,82	183	53,98	354	61,67	
heterozygoty - heterozygotes	376	41,18	156	46,02	220	38,33	
PGM							
3 fenotypy - 3 phenotypes	913	100	339	100	574	100	0,106
homozygoty - homozygotes	608	66,59	228	67,25	380	66,20	
heterozygoty - heterozygotes	305	33,41	111	32,75	194	33,80	
PHI							
3 fenotypy - 3 phenotypes	913	100	339	100	574	100	1,23
homozygoty - homozygotes	890	97,48	333	98,23	557	97,04	
heterozygoty - heterozygotes	23	2,52	6	1,77	17	2,96	
CA							
3 fenotypy - 3 phenotypes	913	100	339	100	574	100	0,52
homozygoty - homozygotes	845	92,55	311	91,74	534	93,03	
heterozygoty - heterozygotes	68	7,45	28	8,26	40	6,97	
CaT							
3 fenotypy - 3 phenotypes	701	100	339	100	362	100	2,31
homozygoty - homozygotes	651	92,87	320	94,40	331	91,44	
heterozygoty - heterozygotes	50	7,13	19	5,60	31	8,56	

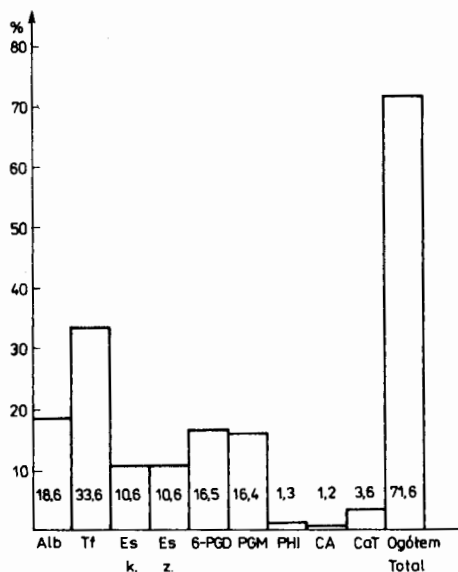


Rys. 1. Stopień homozygotyczności poszczególnych układów białek krwi w badanej populacji koni arabskich
 Fig. 1. Degree of homozygousness of separate blood protein systems in the tested population of Arabian horses

W tabeli 5 przedstawiono częstotliwość występowania homo- i heterozygot dziesięciu układów białek w całej populacji oraz różnice występujące pomiędzy płciami. Z wyjątkiem 6-PGD, gdzie stwierdzono statystycznie istotne ($\chi^2 = 5,20$) różnice między płciami w pozostałych układach częstotliwość homo- i heterozygot jest zbliżona. Niemniej ich stosunek względem siebie w różnych białkach jest różny. Udział homozygot waha się od 42,5% u transferyn do 97,48% u PHI.

Stopień homozygotyczności obliczony według Vachera [10] przedstawiono graficznie na wykresie 1. Uzyskane wysokie wartości stopnia homozygotyczności dla wszystkich układów badanych białek pozwalają stwierdzić, iż populacja koni czystej krwi arabskiej hodowanych w Polsce jest grupą skonsolidowaną genetycznie.

Z punktu widzenia hodowlanego istnieje możliwość wykorzystania homozygotyczności osobników do prognozowania procesu zażrebień. Durawska i wsp. [2] w pracy prowadzonej na koniach pełnej krwi angielskiej uzyskali bardzo duży procent zażrebień (90) kojarząc osobniki o różnych typach homozygotycznych transferyn.



Rys. 2. Prawdopodobieństwo wykluczenia ojcostwa u koni arabskich przy zastosowaniu badanych układów białek krwi

Fig. 2. Probability of fatherhood exclusion in arabian horses by using the tested blood protein systems

Duże zróżnicowanie genetyczne białek krwi koni stwarza możliwość wykorzystania tych wyników w praktyce hodowlanej, a przede wszystkim w kontroli pochodzenia osobników. Na wykresie 2 przedstawiono graficznie procentowy udział poszczególnych, analizowanych białek w kontroli pochodzenia. Prawdopodobieństwo wykluczenia ojcostwa u koni arabskich przy zastosowaniu polimorfizmu albuminy wynosi 18,6%, transferyny - 33,6%, esterazy kwaśnej - 10,6%, esterazy zasadowej - 10,6%, 6-PGD - 16,5%, PGM - 16,4%, PHI - 1,3%, CA - 1,2% i CaT - 3,6%. Wykorzystując polimorfizm wszystkich dziewięciu omawianych białek uzyskano prawdopodobieństwo wykluczenia rodziców w 71,6%. Wyższy procent prawdopodobieństwa wykluczenia ojcostwa (83,0) uzyskali Tomaszewska-Guszkiewicz i Żurkowski [8] u koników polskich analizując polimorfizm transferyny, prealbuminy i esterazy. Przypuszczalnie w dużym stopniu procent ten jest uzależniony od różnorodności fenotypowej prealbuminy uwarunkowanej aż dziewięcioma allelami.

WNIOSKI

1. Populacja koni arabskich hodowanych w Polsce znajduje się w równowadze genetycznej pod względem ośmiu z dziewięciu badanych białek. Brak równowagi stwierdzono jedynie dla PGM.

2. Duże zróżnicowanie fenotypowe otrzymano w układach: albuminy, transferyny, esterazy kwaśnej i zasadowej, 6-PGD i PGM, natomiast układy PHI, CA i CaT można uznać za prawie monomorficzne.

3. Ustalono istotne różnice w częstotliwości fenotypów w obrębie linii żeńskich i pomiędzy liniami męskimi.

4. W badanej populacji koni arabskich nie zaobserwowano genu Tf^R i Tf^M . Gen Tf^0 wystąpił tylko w niektórych liniach.

5. Zaobserwowany jedynie w polskiej populacji koni arabskich gen Es^G stwierdzono tylko w niektórych liniach żeńskich i męskich.

6. Wysoki stopień homozygotyczności wszystkich układów badanych białek pozwala stwierdzić, iż badana populacja jest skonsolidowana genetycznie.

7. Prawdopodobieństwo wykluczenia rodziców u koni czystej krwi arabskiej przy zastosowaniu dziewięciu omawianych układów białek jest wysokie - 71,6%.

LITERATURA

1. Braend M., Storset A.: Blood polymorphism of trotter horses in Norway. XVIth Inter. Conf. Anim. Blood Groups Bioch. Polym., Leningrad 124-130, 1978.
2. Dubrawskaja R., Starolubow N.: Prognozirowaniye zaeriebiatelnosti po transferrinam. Koniewodstvo i Konnyj Sport, 5, 1977.
3. Hesselholt M.: A study of blood groups and types of the Icelandic horse. Proc. 10th Europ. Conf. Anim. Blood Groups Bioch. Polym., Paris, 325-331, 1967.
4. Kamiński M. Urbańska-Nicolas H.: Electrophoretic polymorphism of proteins in the blood of horses: studies of eleven pony breeds or populations. Biochem. System. and Ecol. Vol. 7, 229-237, 1979.
5. Kamińska M., Tomaszewska-Guszkiewicz K.: Blood elektrophoretic polymorphism in Arab Horses Bred in Poland. Genet. Pol., Vol. 19, 2, 213-222, 1978.
6. Schleger W., Mayerhofer G.: Genetic relationships between Lipizzan horses. Haflinger, Noriker and Austrian Trotters. Anim. Blood Groups Bioch. Genet., 4, 3-10, 1973.
7. Tomaszewska-Guszkiewicz K.: Badania nad jakościowym zróżnicowaniem niektórych enzymów i białek surowicy krwi koni rasy dółe, Rozpr. hab. PAN, Jastrzębiec, 1971.
8. Tomaszewska-Guszkiewicz K., Żurkowski M.: Polymorphism of blood serum proteins in Polish Primitive Horses (descended from the Tarpan), I. Transferrin, Albumin, Prealbumin and Esterase Polymorphism. Genet. Pol., 12, 4, 459-464, 1971.
9. Tomaszewska-Guszkiewicz K., Kamiński M.: Genetic blood polymorphism of Polish Primitive Horse (*Equus caballus* Gmelini Ant.), I. Population 1975-1977. Genet. Pol., Vol. 21, 2, 203-210, 1980.
10. Vacher L.: Rezultaty izuczennia u estońskogo czernopestrego skota grup krowi i ich ispolzowanie v plemiennoj robote. Issledov. Immunogenet. Biochim. Polimorf. Se-ch Živ, Dubrovicy 1972.

Йоланта Янишевска

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ КРОВИ У ЛОШАДЕЙ
ЧИСТОКРОВНОЙ АРАБСКОЙ ПОРОДЫ ПОЛЬСКОГО РАЗВЕДЕНИЯ

Резюме

На основании генетического полиморфизма 9 систем белков крови охарактеризовано польскую совокупность лошадей чистокровной арабской породы. У 932 лошадей исследовали изменчивость в наличии некоторых типов белков крови (трансферин - Tf альбумин - Alb, кислая эстераза, pH = 4,5 - Es kw., щелочная эстераза, pH = 8,6 - Es zas. 6-PGD, PGM, PHI, Ca, CaT). Определяли генетическое строение линий, а также пытались применить полиморфную систему для идентификации и контроля происхождения лошадей.

Установлено, что совокупность арабских лошадей польского разведения находится в генетическом равновесии по отношению к всем исследованным белкам за исключением системы PGM

Установлено также существенные различия в частоте присутствия фенотипов в рамках женских линий и между мужскими линиями. У польских арабских лошадей характерно отсутствие Tf^R и Tf^M а также наличие аллеля Es^G , отсутствующего по другим совокупностям арабских лошадей.

Полученные большие величины степени гомозиготности для всех систем исследованных белков свидетельствуют о том, что рассуждаемая совокупность представляет собой генетически консолидированную группировку.

Вычисленная теоретическим методом вероятность исключения родителей для исследованной популяции составляет 71,6%.

Jolanta Janiszewska

GENETIC POLYMORPHISM OF BLOOD PROTEINS IN PURE
ARABIAN HORSES BRED IN POLAND

Summary

The Polish population of pure Arabian horses was characterized using genetic polymorphism of 9 blood protein systems. In 932 horses variability in occurrence of some blood proteins (Tf, Alb, Es-acid, Es-alkaline, 6-PGD, PGM, PHI Ca, CaT) was estimated. Genetic structure of the line was determined and an attempt was made to use the polymorphic system for identification and control of the origin of particular individuals.

It has been proved that the population of Arabian horses bred in Poland maintains at genetic equilibrium in relation to all examined proteins, except the PGM system.

Significant differences in frequency of phenotypes within female lines and between male lines have been found. It appeared that Polish Arabs failed Tf^R and Tf^M , but Es^G allele, absent in other populations of Arabian horses, was found.

The obtained high homozygousness for all protein systems investigated allows to state that the mentioned population constitutes a genetically consolidated group.

The theoretically calculated probability for exclusion of parents in the population examined amounts to 71.6%.