

# Genetyczny polimorfizm białek krwi ras koni hodowanych w Polsce

Katedra Hodowli Koni Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Doktora Judyma 24, 71-460 Szczecin

Badania polimorfizmu białek krwi są źródłem genetycznych informacji wykorzystywanych w pracach teoretycznych i bezpośrednio w pracy hodowlanej (18).

Białka polimorficzne osocza krwi i erytrocytów zalicza się do tzw. markerów genetycznych. Charakterystyka wybranych markerów pozwala prześledzić, jak praca selekcyjna wpływa na strukturę genetyczną danej populacji, jakie geny podlegają likwidacji równoległe z eliminacją określonych, niekorzystnych z hodowlanego punktu widzenia cech (12). Wszystkie badania dotyczące polimorfizmu białek krwi koni są więc cennym materiałem charakteryzującym rasy koni na podstawie zróżnicowania ich genetycznego polimorfizmu.

Do tej pory udało się określić polimorficzne typy 13 białek i enzymów osocza oraz 7 enzymów erytrocytarnych. W sumie według Międzynarodowego Testu Porównawczego ISAG zidentyfikowano polimorfizm 20 enzymów i innych białek warunkowanych przez 97 alleli. Należy zaznaczyć, że w Polsce istnieją dwa laboratoria, które od ponad 30 lat uczestniczą we wszystkich Testach Porównawczych (Horse Comparison Test) organizowanych przez International Society for Animal Genetics. Są to: Zakład Immunogenetyki Zwierząt IGiHZ w Jastrzębcu oraz Zakład Hodowli Koni AR w Poznaniu. Oprócz ww. ośrodków badaniami nad markerami genetycznymi u koni zajmuje się zespół z ZZD – Chorzelów oraz z Katedry Hodowli Koni AR w Szczecinie.

Wśród ras koni obserwuje się duże zróżnicowanie polimorfizmu białek krwi a niektóre z alleli są charakterystyczne dla określonych ras (26).

W niniejszej pracy porównano częstości występowania alleli warunkujących polimorfizm wybranych białek krwi u ras koni hodowanych w Polsce. Do rozdziału albuminy, transferyny, esterazy zasadowej, białka wiążącego witaminę D oraz białka  $X_k$  zastosowano metodę PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) wg Juneja (10). Porównano między sobą 6 ras koni szlachejnych w tym dwie rasy tzw. czyste (czystą krew arabska, pełna krew angielska) i cztery półkrwi (wielkopolska, małopolska, szlachejna półkrew, śląska) oraz konie zimnokrwiste i

dwie rasy koni prymitywnych (konik polski, hucul) (tab. 1).

W układzie albuminy nie można zauważyć charakterystycznych różnic między rasami koni w zależności od ich typu użytkowego. Występujące zróżnicowanie wydaje się, że wynika z odrębności rasowych. I tak najwyższą częstością występowania allelu  $Al^F$  (0,602), a więc najniższą allelu  $Al^S$  (0,398) charakteryzowały się konie huculskie (13) oraz konie czystej krwi arabskiej, odpowiednio: 0,460 i 0,540 (23). Z kolei najniższą frekwencję  $Al^F$  (0,162), a najwyższą  $Al^S$  (0,838) stwierdzono u koni szlachejnej półkrwi (14). Należy zauważyć, że oprócz wyżej wymienionych alleli albuminy, u niektórych ras koni np.: kłusaków amerykańskich, koni morgan i koni selle francais stwierdzono występowanie, o bardzo niskiej frekwencji dodatkowego genu  $Al^I$  (15, 24).

Charakterystyczne zróżnicowanie występuje w układzie transferyny. Wydaje się, że wysokie frekwencje alleli  $Tf^D$  i  $Tf^F$ , a niskie  $Tf^R$  są charakterystyczne dla koni szlachejnych. U koni czystej krwi arabskiej wręcz stwierdza się brak allelu  $Tf^R$ , co jest uważane za wyróżnik rasowy (7, 11, 23). Polskie konie zimnokrwiste z kolei posiadają wysoką częstość występowania genu  $Tf^H$  (0,319) oraz niższą, ale znacznie wyższą niż konie szlachejne, allelu  $Tf^R$  (0,150). Według Janiszewskiej (9) frekwencje alleli  $Tf^H$  i  $Tf^R$  u polskich koni zimnokrwistych z hodowli państwowej upodabniają konie te do ardenów francuskich ( $Tf^H - q = 0,388$ ;  $Tf^R - q = 0,130$ ) i wnioskuje ona o nadanie polskim koniom zimnokrwistym nazwy polskich ardenów.

Zbliżoną do koni zimnokrwistych frekwencję występowania genu  $Tf^R$  posiadają konie śląskie (5) oraz huculskie (13). Te ostatnie charakteryzują się również wysoką częstością genu  $Tf^H$  o  $q = 0,246$  (13).

Wysoka częstość występowania allelu  $Tf^R$  (od 0,589 – u klaczy, do 0,643 – u ogierów) oraz  $Tf^F$  (0,309) jest charakterystyczną cechą koni rasy dôle oraz bulonów ( $Tf^R - 0,188$ ;  $Tf^F - 0,531$ ), bretonów (odpowiednio: 0,126; 0,532) i perszeronów (odpowiednio: 0,156; 0,457). Konie tych ras posiadają z kolei niską frekwencję allelu  $Tf^D$  (od 0,063 u dôle do 0,160 u bulonów) (2, 18). Wydaje się, że wyższe częstości występowania genów transferyny

Tab. 1. Częstość występowania alleli białek we krwi koni w zależności od ich rasy

Białko	Allele	Rasa								
		Czysta krew arabska	Pełna krew angielska	Wielkopolska	Małopolska	Szlachetna półkrew	Śląska	Polski koń zimnokrwisty	Konik polski	Hucul
Albumina (Al)	F	0,460	0,255	0,309	0,319	0,162	0,310	0,381	0,370	0,602
	S	0,540	0,745	0,691	0,681	0,838	0,690	0,619	0,630	0,398
Transferyna (Tf)	D	0,320	0,331	0,280	0,289	0,461	0,267	0,147	0,190	0,203
	F <sub>1</sub>	0,570	0,483	0,266	0,242	0,137	0,082	0,284	0,640	0,394
	F <sub>2</sub>			0,169	0,351	0,147	0,478			
	H	0,090	0,093	0,094	0,044	0,083	0,011	0,319	0,060	0,246
	O	0,020	0,060	0,106	0,050	0,137	0,017	0,100	0,100	0,033
	R	–	0,033	0,086	0,017	0,034	0,145	0,150	0,010	0,124
Esteraza pH 8,5 (EspH 8,5)	F	0,123	0,039	0,131	0,080	0,132		0,292	0,460	0,280
	I	0,875	0,950	0,826	0,889	0,838		0,708	0,540	0,590
	S	0,002	0,011	0,043	0,030	0,029		–	–	0,130
Białko wiążące wit. D (Gc)	F	0,970	0,939	0,937	0,997	0,971	0,824	0,579	0,689	1,0
	S	0,030	0,061	0,063	0,003	0,029	0,176	0,421	0,311	–
Białko X <sub>k</sub> (X <sub>k</sub> )	F	–	0,020	0,026	0,007	0,108	0,090	–	0,017	–
	K	0,940	0,980	0,949	0,969	0,868	0,831	0,917	0,983	0,976
	S	0,059	–	0,026	0,023	0,024	0,079	0,083	–	0,024
Anhydraza węglanowa (CA)	F	0,043	0,070	0,039	0,042	0,041		0,035	0,280	
	I	0,957	0,930	0,960	0,958	0,959		0,965	0,640	
	L	–	–	–	–	–		–	0,080	

są typowe dla koni zimnokrwistych i odróżniają je od koni szlachetnych.

Podobnymi częstościami charakteryzują się również niektóre konie prymitywne, np.: u fiordingów stwierdzono wysoką frekwencję  $Tf^F$  o  $q = 0,620$  oraz  $Tf^R$  o  $q = 0,192$  (2). Wysoką częstość genu  $Tf^R$  (od 0,283 do 0,302) oraz wystąpienie allelu  $Tf^M$  (od 0,180 do 0,241) stwierdzono w populacji kucy szetlandzkich (3). Gen  $Tf^M$  został również odkryty u kucy eksmurskich (2) i islandzkich (6) oraz koni lipicańskich (16) i morgan (24).

Odnosnie do esterazy zasadowej stwierdzono, że konie szlachetne posiadają trzy allele, z których najwyższą częstością występowania charakteryzował się gen  $Es^I$  ( $q = 0,826 - 0,950$ ), a najniższą  $Es^S$  (7, 14, 23). U koni zimnokrwistych (9) i koników polskich (25) stwierdzono brak allelu  $Es^S$  oraz inne proporcje występowania między allelami  $Es^I$  i  $Es^F$ . Konie huculskie charakteryzowały się podobną do koni zimnokrwistych częstością występowania allelu  $Es^F$  oraz do koników polskich allelu  $Es^I$ , jak również najwyższą frekwencją genu  $Es^S$  o  $q = 0,130$  (13).

Wyraźne różnice między rasami koni wystąpiły w układzie białka wiążącego witaminę D – Gc. Konie huculskie charakteryzowały się homozygotycznością allelu  $Gc^F$  (13), u pozostałych ras koni wystąpiły dwa allele, ale o różnym stosunku częstości. Konie szlachetne (oprócz rasy śląskiej) były prawie homozygotyczne pod względem allelu  $Gc^F$  (5, 14, 23), a koniki polskie i konie zimnokrwiste charakteryzowały się dużo niższą częstością występowania tego genu – odpowiednio: 0,689 i 0,579 a wyższą  $Gc^S$  (9, 19). U koni rasy śląskiej stwierdzono pośrednie wartości frekwencji powyższych genów (5).

Wysoka frekwencja allelu  $Gc^F$  jest charakterystyczną cechą koni szlachetnych, zwłaszcza koni czystej krwi arabskiej i pełnej krwi angielskiej (wyjątkiem są kłusaki amerykańskie o  $q = 0,760$ ) (24), a najniższa koni zimnokrwistych i prymitywnych np.: koni północnoszwedzkich ( $q = 0,722$ ) i kucy gotlandzkich ( $q = 0,777$ ) (10).

Układ białka  $X_k$  jest determinowany przez trzy allele, ale różnie się on kształtuje w zależności od

rasy koni. Konie czystej krwi arabskiej (23) i polskie konie zimnokrwiste (9) charakteryzowały się brakiem genu  $X_kF$ , a konie pełnej krwi angielskiej (25) i koniki polskie brakiem genu  $X_kS$  (19). U wszystkich koni badanych ras stwierdzono wysoką częstość występowania allelu  $X_kK$  – od 0,831 u koni śląskich (5) do 0,983 u koników polskich (19).

Wydaje się, że układ białka  $X_k$  może być uważany za wyróżnik rasowy. Podobnie do polskiej populacji koni, brakiem allelu  $X_kF$  charakteryzowały się konie czystej krwi arabskiej w USA, jak również stwierdzono tam brak allelu  $X_kS$  u koni pełnej krwi angielskiej (24). Z kolei brak genu  $X_kS$  u prymitywnych kucy gotlandzkich (10) upodabnia je do prymitywnych koników polskich.

Charakterystycznie wysoka frekwencja allelu  $X_kF$  występuje u koni lipicańskich –  $q = 0,355$  (10).

Równie interesująco kształtuje się układ anhidrazy węglanowej, który jest warunkowany przez trzy allele. Powyższy układ stwierdzono jedynie u koników polskich i charakteryzował się on występowaniem genu  $CA^L$  o  $q = 0,080$  oraz stosunkowo wysoką częstością występowania genu  $CA^F$  ( $q = 0,280$ ), a niższą genu  $CA^I$  ( $q = 0,640$ ) w porównaniu do innych ras koni (20). U wszystkich pozostałych ras koni stwierdzono występowanie tylko dwóch genów, z wyraźną przewagą allelu  $CA^I$  – od 0,930 u koni pełnej krwi angielskiej (25) do 0,965 u koni zimnokrwistych (9).

Reasumując powyższą charakterystykę ras koni, można skonstatować, że frekwencje poszczególnych białek należy uznać za wyróżniki rasowe. Wydaje się, że występujące między nimi różnice zależą nie tylko od odmiennego pochodzenia ras koni ale również od celów hodowlanych adekwatnych dla danego typu użytkowego koni.

Badania nad polimorfizmem białek krwi u koni sprowadzają się nie tylko do badań teoretycznych, charakteryzujących pod względem immunogenetycznym określoną rasę, lecz mają również aspekt czysto praktyczny.

Poważnym osiągnięciem w badaniach grupowych układów krwi i białek jest zastosowanie ich do identyfikacji osobników, a szczególnie do kontroli pochodzenia. Genetyczny polimorfizm białek krwi u koni jest jednym z większych wśród znanych u zwierząt domowych, co pozwala na skuteczniejszą kontrolę pochodzenia (22). Stwierdzono, że prawdopodobieństwo wykluczenia ojcostwa zależy również od częstości alleli warunkujących genetyczny polimorfizm w poszczególnych układach białek krwi. Tomaszewska-Guszkiewicz i Żurkowski (22), na podstawie określenia 10 układów białek krwi z 27 allelami u koników polskich, 7 układów z 18 allelami u koni czystej krwi arabskiej oraz 7 układów z 17 allelami u koni pełnej krwi angielskiej, stwierdzili dla ras następujące prawdopodobieństwa wykluczenia – odpowiednio: 85,3; 67,9 i 56,1%. Ja-

niszewska (7), wykorzystując polimorfizm 9 układów białek, obliczyła dla koni czystej krwi arabskiej 71,6% prawdopodobieństwa wykluczenia ojcostwa. Prawdopodobieństwo to dla ardenów ze SK Bielin wyniosło 82,6% (8), a dla ardenów z hodowli państwowej, na podstawie polimorfizmu 8 układów białek, aż 90,5% (9).

W 1988 r. podczas Kongresu Światowej Organizacji Koni Arabskich (WAHO) podjęto decyzję o ochronie czystości rasy poprzez prawidłowe prowadzenie ksiąg stadnych i wynikający z tego obowiązek kontroli pochodzenia na podstawie badań grup krwi źrebaków przed ich wpisem do księgi stadnej. Należy zaznaczyć, że przez pojęcie badań grup krwi określa się antygeny krwinkowe i polimorfizm białek krwi (26).

Z kolei Międzynarodowy Komitet Ksiąg Stadnych (ISBC) koni pełnej krwi angielskiej opracował program działania w zakresie kontroli pochodzenia na podstawie badań grup krwi, obowiązujący w 17 krajach zrzeszonych w ramach ISBC (26).

Również w Polsce są prowadzone powyższe badania. Począwszy od 1991 r., zgodnie z zaleceniami WAHO, badaniami jest objęta cała populacja koni czystej krwi arabskiej i wszystkie źrebaki przed ich wpisem do księgi stadnej – ustala się grupę ich krwi i polimorfizm białek krwi. Prowadzone są też badania koni pełnej krwi angielskiej, którymi objęto wszystkie kłaczki i ogiery stadne oraz przyszłe ogiery stadne z Toru Wyścigów Konnych (26).

Nie podlega już dyskusji przydatność badań nad grupami krwi i genetycznym polimorfizmem białek krwi u koni, umożliwiających kontrolę pochodzenia, identyfikację osobników, rozstrzygających sporne przypadki ojcostwa lub macierzyństwa oraz umożliwiających podejmowanie decyzji w przypadku transfuzji krwi (4).

Bardziej dyskusyjne jest jednoznaczne określenie przydatności badań nad polimorfizmem białek krwi koni do poszukiwań ewentualnych związków między markerami genetycznymi krwi a wartością użytkową koni. Cechy, w kierunku których jest prowadzona selekcja koni, a więc predyspozycje do pracy, zdolność do wyczynu sportowego czy dzielność wyścigowa, są cechami trudno wymiernymi i ich ocena jest często obciążona obiektywnymi i subiektywnymi błędami.

Pierwszą próbę znalezienia zależności między markerem genetycznym, tj. grupami krwi, a dzielnością wyścigową koni rasy pełnej krwi angielskiej i czystej krwi arabskiej przeprowadził Siudziński (17). Autor ten na podstawie uzyskanych wyników stwierdził istnienie współzależności między dzielnością wyścigową a niektórymi antygenami krwinkowymi i ich kombinacjami. Wykazał istnienie zależności między grupą krwi C a dzielnością wyścigową koni pełnej krwi angielskiej oraz między kom-

binacją antygenów AFCE i AFC a dzielnością koni czystej krwi arabskiej.

Ścisłą zależność między polimorfizmem białek krwi a selekcją koni pełnej krwi angielskiej stwierdziła Urbańska-Nicolas (25). Wykazała ona korelację między wynikami wyścigowymi koni pełnej krwi angielskiej a zespołem wzajemnie uzupełniających się białek krwi: albuminy, transferyny, esterazy i 6-PGD.

Badania nad związkami między biochemicznym polimorfizmem a zmiennością cech ilościowych przeprowadzili Andersson i wsp. (1). Wykorzystując dane, dotyczące sześciu grup krwi i polimorfizmu dziewięciu białek krwi u ponad 25 000 kłusaków szwedzkich oraz informacje o ich dzielności wyścigowej, wykazano wysoką istotność związku między zmiennością w loci esterazy a liczbą koni startujących w wyścigach.

Pikuła (14) podjął próbę wykorzystania polimorfizmu białek krwi jako markerów szacowania wartości użytkowej ogierów z zakładów treningowych. Po przebadaniu 426 ogierów autor zaobserwował statystycznie istotne zależności między określonym fenotypem niektórych białek we krwi ogierów (szczególnie w układzie transferyny i esterazy zasadowej) a ich dzielnością użytkową.

Cholewiński (4), badając genetyczne markery krwi koni pełnej krwi angielskiej w powiązaniu z cechami płodności i odchowem źrebiąt, wysnuł wniosek, że w przyszłości można będzie wykorzystać markery immunogenetyczne krwi w pracy selekcyjnej. Największą rolę przypisuje on układowi grupowym krwi A, K i P oraz białkom Al, Tf i 6-PGD.

Kończąc powyższy artykuł, mimo nasuwającego się pytania: w jakim stopniu obserwowane różnicowanie markerów genetycznych odzwierciedla się w różnicowaniu całej puli genów oraz cechach użytkowych istotnych z hodowlanego punktu widzenia, należy wysnuć wniosek o przydatności badań nad genetycznym polimorfizmem białek krwi różnych ras koni i konieczności wykorzystywania ich w praktyce hodowlanej.

#### Piśmiennictwo

1. Andersson L., Arnason Th., Sandberg K.: Theor. Appl. Genet. 73, 427, 1987.
2. Braend M.: Nord. Vet. Med. 16, 363, 1964.
3. Buis R. C.: Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen 1976, s. 4.
4. Cholewiński G.: Genetyczne markery krwi w polskiej populacji koni pełnej krwi angielskiej w powiązaniu z cechami płodności i odchowem zwierząt. Praca dokt., AR, Poznań 1988 (maszynopis).
5. Eckert A., Cholewiński G., Erhardt G.: Mat. konf.: Perspektywy hodowli regionalnych ras koni. Konie rasy śląskiej. Wrocław 18-20.09.1995, s. 25.
6. Hesselholt M.: Proc. X<sup>th</sup> European Conf. of Anim. Grps. and Biochem. Polymorphism, Paris 1966, (b.w.), Paris 1967.
7. Janiszewska J.: Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. z. 345, 15, 1988.
8. Janiszewska J., Tomaszewska-Guszkiewicz K.: Genet. Pol. 31, 144, 1989.
9. Janiszewska J.: Analiza cech fenotypowych hodowlanych i immunogenetycznych określających współczesny model koni zimnokrwistych ze stadnin państwowych. Praca hab., Rozpr. AR Szczecin nr 149, 1992.

10. Juneja R. K., Gahne B., Sandberg K.: Anim. Blood Grps. 9, 29, 1978.
11. Kamiński M., Tomaszewska-Guszkiewicz K.: Genet. Pol. 19, 213, 1978.
12. Kurył J.: Zesz. Nauk. PTZ. Najnowsze osiągnięcia genetyki w programach hodowlanych. 6, 48, 1992.
13. Nogaj A.: Roczn. Nauk. Zoot. 22, 13, 1995.
14. Pikuła R.: Wykorzystanie polimorfizmu białek krwi do charakterystyki immunogenetycznej oraz jako markerów szacowania wartości użytkowej ogierów z zakładów treningowych. Praca hab., Rozpr. AR Szczecin nr 170, 1995.
15. Romagnoli A., Lubas G., Mengozzi G., Guidi G.: Anim. Blood Grps., 15, 137, 1984.
16. Schleger W., Mayerhofer G.: Anim. Blood Grps. 4, 3, 1973.
17. Siudziński S.: Próba znalezienia współzależności między antygenami krwinkowymi a dzielnością wyścigową koni rasy pełnej krwi angielskiej i czystej krwi arabskiej. Praca dokt., WSR, Poznań 1970 (maszynopis).
18. Tomaszewska-Guszkiewicz K.: Badania nad jakościowym zróżnicowaniem niektórych typów białek i enzymów surowicy krwi koni rasy Döle. Praca hab., Rozpr. Nauk. Inst. Genet. i Hod. Zw. PAN nr 1, 1971.
19. Tomaszewska-Guszkiewicz K., Kamiński M.: Genet. Pol. 21, 203, 1980.
20. Tomaszewska-Guszkiewicz K., Żurkowski M.: Genet. Pol. 24, 253, 1983.
21. Tomaszewska-Guszkiewicz K., Didkowski S., Kamiński M.: Genet. Pol. 25, 87, 1984.
22. Tomaszewska-Guszkiewicz K., Żurkowski M.: Pr. Mater. Zoot. 31, 81, 1984.
23. Tomaszewska-Guszkiewicz K.: Advanc. Agric. Sci. 3, 37, 1994.
24. Trommershausen-Bowling A., Clark R. S.: Anim. Blood Grps. 16, 93, 1985.
25. Urbańska-Nicolas H.: Polimorfizm biochemiczny białek krwi a selekcja koni pełnej krwi angielskiej. Praca dokt., Inst. Genet. i Hod. Zw. PAN, Jastrzębiec 1982 (maszynopis).
26. Żurkowski M.: Prz. hod. 12, 11, 1992.

Adres autora: dr hab. Ryszard Pikuła, ul. M. Konopnickiej 24/3, 71-151 Szczecin

#### GRILLO M. J., BARBERAN M., BLASCO J. M.: Transmisja *Brucella melitensis* z owiec na jagnięta. (Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs). Vet. Rec. 140, 602-605, 1997 (23)

Celem wyjaśnienia możliwości przenoszenia pionowego oraz istnienia zakażeń latentnych wywołanych przez *Brucella melitensis* u owiec przeprowadzono badania na 41 ciężarnych owcach reagujących dodatnio w odczynie z czerwienią bengalską i w odczynie wiązania dopełniacza, względnie w teście alergicznym na *Brucella melitensis*. Owce pochodziły ze stad zakażonych na drodze naturalnej tym zarazkiem. Ciężarne samice trzymano w izolatorze do czasu porodu. Urodzone jagnięta w liczbie 62 utrzymywano wraz z matkami do odsadzenia, zaś matki po uboju badano bakteriologicznie w kierunku *B. melitensis*. Czternaście owiec wydalalo *B. melitensis* w okresie laktacji, od 17 sztuk wyizolowano *B. melitensis* po uboju. *B. melitensis* nie izolowano od 7 jagniąt padłych po urodzeniu pochodzących od zakażonych matek oraz od 8 seronegatywnych jagniąt z których 4 pochodziły od zakażonych matek, poddanych ubojowi pomiędzy 2 i 7 miesiącem po odsadzeniu. Od jednego seropozytywnego jagnięcia pochodzącego od matki od której nie izolowano *B. melitensis* poddanego ubojowi po 5 miesiącach po odsadzeniu izolowano *B. melitensis*. Pozostałe jagnięta badano okresowo serologicznie w kierunku zakażenia *B. melitensis*. Od 2 maciorek pochodzących od matek wolnych od zakażenia i od 2 pochodzących od zakażonych matek wyosobniono po uboju ten zarazek. Wszystkie maciorki były serologicznie negatywne.