



GENETICKÁ ANALÝZA VYBRANÝCH PLEMIEN KONÍ CHOVANÝCH NA SLOVENSKU

Genetic analyse of selected horse breeds reares in the Slovak Republic

A. TRAKOVICKÁ, J. ŽITNÝ, A. KÚBEK

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra; Slovak Agricultural University, Nitra, Slovak Republic

ABSTRACT

In the population of five breeds of horses (Arabian full-blooded horse, English half-blooded horse, Nonius, Slovak warm-blooded horse and Sports breed of warm-blooded horse), analysis was carried out using biochemical polymorphic markers in twelve genetic systems (eight from blood hemolysates and four from proteins in blood serum). Breeds of horses were characterised according to the frequency of alleles (two-allele systems of hemoglobin, X'-protein, malatedehydrogenase, posttransferrin, prealbumin-1, ceruloplasmin, amylase, esterase-1; three-allele polymorphic system for albumin, five-allele system for carbonic anhydrase and postalbumin-1 and six-allele system for transferrin) and genotypic structure polymorphic proteins were revealed. The tested breeds were in all the systems polymorphic as suggested by the results. The lowest value of genetic distance was calculated between Arabian full-blooded horse and Slovak warm-blooded horse ($D = 0,0821$). The highest genetic distance was found between the Nonius and the Slovak warm-blooded horse ($D = 0,1937$) which also correspond to the lowest index of genetic similarity ($IGS = 0,8239$).

Key words: horse breeds, genetic polymorphism of proteins in blood, genetic distance, index of genetic similarity

ÚVOD

Chov koní na Slovensku po roku 1990 zaznamenal kvalitatívny rast. Intenzívnejšie sa v ňom využívajú osvedčené zahraničné žrebce, importované športové kone sa viac zúčastňujú na jazdeckých súťažiach. Cieľená plemenárska práca v chove koní už prináša výsledky v produkcii i športových výsledkoch u nás narodených, odchovaných a testovaných koní. Kvalitatívny rozvoj chovu koní na Slovensku sa postupne zlepšuje, kvantitatívny rozvoj stagnuje a čaká na solventných chovateľov, ktorí sa chcú chovu výkonných koní venovať. Výrazne sa diferencujú a rozširujú plemená koní s jednostrannou úžitkovosťou (rýchlosť u dostihových plemien) a aj pri najpočetnejšej skupine teplokrvných koní sa hlavný dôraz kladie na jazditeľnosť, mechaniku pohybu, vytrvalosť, charakter a skokové schopnosti

(Halo a kol., 2000; Nozawa a kol., 1998; Oblap a kol., 1998; www.horses.sk).

Každý druh, plemeno i línia má v procese evolúcie svoju históriu vzniku. Vyznačuje sa určitým genofondom s typickým zastúpením polymorfných variantov proteínov (Bjornstad a kol., 2003; Žitný a kol., 2002), ktoré sumárne tvoria polymorfný systém. Význam využitia polymorfných znakov z praktického hľadiska je v poznaní vzniku, príbuznosti medzi krížencami a východiskovými plemenami, v odhade stupňa homozygotnosti a heterozygotnosti populácie (Bjornstad a kol., 2003; Cozzi a kol., 1989; Nozawa a kol., 1998; Oblap a kol., 1998).

Genetické polymorfné znaky tvoria súčasť biologických tekutín (krvné skupiny, sérové bielkoviny a izoenzýmy). Väčšinou sú detekovateľné ihneď po narodení a svoju štruktúru majú prakticky nemennú

Correspondence: E-mail: anna.trakovicka@uniag.sk

po celý život jedinca. Niektoré alely sa v jednotlivých systémoch vyskytujú pri väčšine plemien, iné sú charakteristické iba pre niektoré plemená.

Jednou z možností ako stanoviť genotypy jedinca a expresiu génov polymorfných bielkovín je elektroforetická separácia bielkovín (na škrobovom alebo polyakrylovom géle - PAGE, analýza PCR produktov elektroforézou na agarózovom géle). V literatúre (Cozzi a kol., 1989; Hamanová a kol., 1999; Jiskrová a kol., 2002; Trakovická a kol., 1999a; Trakovická a kol., 1999b) sa uvádza, že bol identifikovaný genetický polymorfizmus pri koňoch v hemolyzáte (pri štyroch polymorfných systémoch – hemoglobín, karbonická anhydráza, X'-proteín a maládehydrogenáza), i v krvnej plazme (transferín, albumín, amyláza) a krvnom sére (esteráza).

Cieľom predloženej práce bolo stanoviť genetický polymorfizmus proteínov v krvi rôznych plemien koní a z polymorfných markérov krvi určiť genetické vzdialenosti medzi testovanými plemenami.

MATERIÁL A METÓDA

Genetický polymorfizmus bielkovín krvi sme analyzovali u piatich plemien koní – arabský plnokrvník (Or 1/1), anglický polokrvník (A 1/2), nónius (N), slovenský teplokrvník (SW) a športové teplokrvné kone (SWH).

Krvbolaodobratádoskú mavieks antikoagulačným roztokom z veny jugularis a dopravená na Katedru genetiky a plemenárskej biológie SPU Nitra na ďalšie laboratórne spracovanie.

Na delenie polymorfných bielkovín krvi sme použili metódu chladenej horizontálnej elektroforézy v škrobovom géli a zdroja jednosmerného elektrického prúdu Multidrive-XL (výrobca Pharmacia LKB Švédsko). Koncentrácia škrobu v géli bola 12 %, pH tris-citrát-borátového pufru v elektródových nádobách malo hodnotu $8,7 \pm 0,1$.

Polymorfné varianty hemoglobínu (Hb), karbonickej anhydrázy (Ca), X'-proteínu (X'-protein), transferínu (Tf), posttransferínu (PtTf), prealbumínu-1 (PeAl-1), albumínu (Al) a postalbumínu (PtAl) sme identifikovali farbiacim roztokom amidočern 10B. Pri detekcii maládehydrogenázy (Mdh) sme gél hodinu inkubovali v 0,5%-nom roztoku kyseliny jablčnej a potom farbili amidočernou 10B. Na sfarbenie frakcií sérovej esterázy-1 (Es-1) sme použili 1%-ný roztok b-naftylacetátu s 45-minútovou inkubáciou gélu v termostate pri 38°C. Na farbenie ceruloplazmínu (Cp) sme použili parafenylendiamíndichlorid a amylázu (Am) sme vizualizovali inkubáciou v 40 % etanole.

Z bielkovinových frakcií na škrobových géloch sme identifikovali genotypovú štruktúru polymorfných bielkovín krvi a vypočítali génové frekvencie alel podľa Hardy-Weinbergovho zákona (Bežová a kol., 2003). Zo

zistených alelových frekvencií na vybraných kódujúcich lokusoch sme štatistickým programom PHYLIP verzia 3.63, (Nei a Roychoudhury, 1974; Gendist, 2005) vypočítali medzi analyzovanými plemenami genetické vzdialenosti (D) a index genetickej podobnosti (IGS).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Frekvencia alel a genotypová štruktúra celkovo 12-tich polymorfných systémov hemolyzáta, krvnej plazmy a krvného séra testovaných piatich plemien koní je v tabuľkách 1 a 2.

Hemoglobín

Polymorfný systém hemoglobínu sa na elektroforegramoch realizoval ako dvojalelový (alely A a B) s frekvenciou alely A v rozpätí od 0,492 (anglický polokrvník) do 0,515 (nónius). V súlade s našimi predchádzajúcimi výsledkami (Trakovická a kol., 1999b) sme zistili vyššiu frekvenciu alely A u nónia, slovenského teplokrvníka a športových teplokrvných koňov, alely B u anglického polokrvníka a vyrovnanú frekvenciu alel A a B u ababského plnokrvníka. U troch plemien (Or 1/1, SW, ŠWH) sme zistili všetky tri genotypové kombinácie alel (AA, AB a BB). Anglický polokrvník nemal vo vzorkách hemolyzáta prítomný genotyp AA a nónius genotyp BB.

Karbonická anhydráza

Polymorfný systém karbonickej anhydrázy sa javil ako päť alelový (alely I, F, S, L a O). Jiskrová a kol. (2002) popisuje pri plemenách moravský teplokrvník, trakénsky kôň a český teplokrvník genetický polymorfizmus karbonickej anhydrázy ako štvoralelový (s alelami F, I, L, M), pričom neuvádza nami zistené alely S a O. V predchádzajúcej práci (Trakovická a kol., 1999b) sme pri plemene nónius zistili len tri alely (s vysokou frekvenciou alely F). V predloženej práci sme elektroforetické rozdiely zaznamenali iba pri plemenách nónius, slovenský teplokrvník a športové teplokrvné kone, pri ktorých sme nezistili alelu O. Karbonická anhydráza sa vyznačuje veľkou rôznorodosťou bielkovinových frakcií. Alely tvoria až 15 genotypových kombinácií (II, FF, SS, LL, FI, SI, LI, LS, IO, IS, FS, FL, FO, SL, LO genotypy), medzi ktorými dominuje genotyp FS (u arabského plnokrvníka 30,5 %, slovenského teplokrvníka 41,7 % a športových teplokrvných koní 35,7 %).

X'-proteín

Pre túto polymorfnú bielkovinu je charakteristická vysoká pohyblivosť v elektrickom poli. Možno ju pozorovať vo vzdialenosti 6 cm od štartu (od miesta, kde pomocou filtračných papierikov sa nanášajú vzorky hemolyzáta do rezného otvoru v škrobovom géli). Pri

Tabuľka 1: Frekvencia alel polymorfných bielkovín u testovaných plemien koní
The allelic frequency of polymorphic proteins in the observed breeds of horses

Polymorfná bielkovina ¹	Alela ²	Frekvencie podľa plemien ³				
		Or 1/1	A 1/2	N	SW	ŠWH
Hb	A	0,500	0,492	0,515	0,506	0,504
	B	0,500	0,508	0,485	0,494	0,496
Ca	I	0,237	0,186	0,125	0,208	0,207
	F	0,305	0,364	0,589	0,342	0,383
	S	0,280	0,102	0,071	0,417	0,347
	L	0,153	0,314	0,215	0,033	0,063
	O	0,025	0,034	-	-	-
X'-proteín	X+	0,320	0,390	0,500	0,450	0,400
	X-	0,680	0,610	0,500	0,550	0,600
Mdh	A	0,540	0,350	-	0,620	0,588
	B	0,460	0,650	-	0,380	0,412
Tf	D	0,212	0,354	0,206	0,310	0,236
	F	0,482	0,385	0,441	0,390	0,416
	H	0,183	0,147	0,280	0,150	0,205
	M	0,094	0,077	0,044	0,080	0,081
	O	0,029	0,030	0,029	0,060	0,040
	R	-	0,007	-	0,010	0,022
PtTf	A	0,792	0,569	0,646	0,670	0,500
	B	0,208	0,431	0,354	0,330	0,500
PeAl-1	A	0,483	0,550	0,563	0,250	0,692
	B	0,517	0,450	0,437	0,750	0,308
Al	A	0,520	0,292	0,162	0,360	0,450
	B	0,454	0,708	0,838	0,640	0,530
	C	0,026	-	-	-	0,020
PtAl-1	A	0,402	0,604	0,550	0,430	0,301
	B	0,544	0,387	0,383	0,490	0,527
	C	0,043	-	0,050	0,070	0,134
	D	0,011	-	0,017	-	0,016
	E	-	0,009	-	0,010	0,022
Cp	A	-	-	-	0,960	0,984
	B	-	-	-	0,040	0,016
Am	A	0,934	-	0,839	-	-
	B	0,066	-	0,161	-	-
Es-1	F	0,724	0,719	0,800	-	-
	I	0,276	0,281	0,200	-	-

¹polymorphic protein, ²allele, ³frequency according to breeds,

Hb	hemoglobín - hemoglobin
Ca	karbonická anhydráza - carbonic anhydrase
X'-protein	X'-protein - X'-protein
Mdh	malátdehydrogenáza - malatedehydrogenase
Tf	transferín - transferrin
PtTf	posttransferín - posttransferrin
PeAl-1	prealbumín-1 - prealbumin-1
Al	albumín - albumin
PtAl-1	postalbumín-1 - postalbumin-1
Cp	ceruloplazmín - ceruloplasmin
Am	amyláza - amylase
Es-1	esteráza-1 - esterase-1
Or 1/1	Arabský plnokrvník - Arabian full-blooded horse
A 1/2	Anglický polokrvník - English half-blooded horse
N	Nónius - Nonius
SW	Slovenský teplokrvník - Slovak warm-blooded horse
SWH	Športové teplokrvné kone - Sports warm-blooded horse

Tabuľka 2: Genotypová štruktúra polymorfných bielkovín testovaných plemien koní
Genotypic structure of polymorphic proteins in observed breeds of horses

Polymorfná bielkovina ¹	Genotyp ²	Výskyt genotypu podľa plemien ³									
		Or 1/1		A 1/2		N		SW		SWH	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Hb	AA	1	1,4	-	-	1	2,9	2	2,5	5	2,2
	AB	67	97,1	64	98,5	33	97,1	1	1,3	3	1,3
	BB	1	1,5	1	1,5	-	-	77	96,2	220	96,5
Ca	II	4	6,7	1	1,7	-	-	2	3,3	8	4,7
	FF	3	5,0	10	17,0	12	42,9	3	5,0	23	13,7
	SS	5	8,5	2	3,4	1	3,6	8	13,3	16	9,5
	LL	2	3,4	5	8,5	3	10,7	1	1,7	2	1,2
	FI	9	15,3	5	8,5	4	14,3	10	16,7	25	14,9
	SI	4	6,8	1	1,7	-	-	-	-	-	-
	LI	7	11,9	12	20,3	3	10,7	2	3,3	6	3,6
	LS	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,6
	IO	-	-	2	3,4	-	-	-	-	-	-
	IS	-	-	-	-	-	-	9	15,0	25	14,9
	FS	18	30,5	5	8,4	2	7,2	25	41,7	60	35,7
	FL	3	5,1	12	20,3	3	10,6	-	-	2	1,2
	FO	-	-	1	1,7	-	-	-	-	-	-
	SL	1	1,7	5	8,4	-	-	-	-	-	-
	LO	3	5,1	1	1,7	-	-	-	-	-	-
X'-protein	X+	13	54,2	6	50,0	3	75,0	39	69,6	83	63,8
	X-	11	45,8	6	50,0	7	25,0	17	30,4	47	36,2
Mdh	AA	7	25,9	-	-	-	-	11	32,4	28	30,8
	AB	5	18,5	3	30,0	-	-	3	8,8	12	13,2
	BB	15	55,6	7	70,0	-	-	20	58,8	51	56,0
Tf		3	3,5	5	7,7	1	2,9	6	7,5	11	
	DD	16	18,8	5	7,7	7	20,6	11	13,9	36	4,9
	FF	6	7,1	-	-	2	5,9	1	1,2	10	15,9
	HH	-	-	-	-	-	-	1	1,3	1	4,4
	MM	22	25,8	24	36,9	7	20,7	21	26,5	47	0,4
	DF	3	3,5	4	6,2	4	11,8	9	11,3	17	20,7
	DH	-	-	-	-	-	-	-	-	2	7,5
	DR	4	4,7	6	9,3	1	2,9	4	6,0	12	0,9
	DM	1	1,2	2	3,1	-	-	3	3,8	7	5,3
	DO	16	18,8	13	20,0	8	23,5	10	12,3	47	3,1
	FH	10	11,8	2	3,1	-	-	4	5,0	14	20,7
	FM	-	-	-	-	-	-	-	-	2	6,2
	FR	2	2,4	1	1,5	1	2,9	5	6,3	7	0,9
	FO	-	-	1	1,5	2	5,9	1	1,2	4	3,1
	HM	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1,8
	HR	-	-	1	1,5	1	2,9	1	1,2	2	1,3
	HO	-	-	1	1,5	-	-	2	2,5	3	0,8
MR	2	2,4	-	-	-	-	-	-	2	1,30	
MO										0,8	
PtTf	AA	15	62,5	12	24,0	7	29,2	1	33,3	2	28,5
	AB	8	33,3	33	66,0	14	70,8	2	66,7	3	42,9
	BB	1	4,2	5	10,0	-	-	-	-	2	28,6
PeAl-1	AA	5	16,7	13	26,0	7	29,2	-	-	7	53,9
	AB	19	63,3	29	58,0	13	54,2	1	50,0	4	30,7
	BB	6	20,0	8	16,0	4	16,6	1	50,0	2	15,4

Pokračovanie tabuľky 2

Al	AA	22	28,9	5	7,7	1	2,9	7	10,6	43	21,1
	AB	34	44,8	28	43,1	9	26,5	33	50,0	95	46,5
	BB	16	21,1	32	49,2	24	70,6	26	39,4	59	28,9
	CC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AC	1	1,3	-	-	-	-	-	-	2	1,0
	BC	3	3,9	-	-	-	-	-	-	5	2,5
PtAl-1	AA	11	23,9	16	30,2	9	30,0	10	23,8	13	14,0
	BB	17	36,9	5	9,4	2	6,7	12	28,6	26	27,9
	CC	1	2,2	-	-	-	-	1	2,4	4	4,3
	DD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AB	14	30,4	31	58,5	15	50,0	14	33,3	26	27,9
	AC	-	-	-	-	-	-	2	4,8	2	2,2
	AD	1	2,2	-	-	-	-	-	-	1	1,1
	AE	-	-	1	1,9	-	-	-	-	1	1,1
	BC	2	4,4	-	-	3	10,0	2	4,7	15	16,1
	BD	-	-	-	-	1	3,3	-	-	2	2,2
	BE	-	-	-	-	-	-	1	2,4	3	3,2
	CD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cp	AA	-	-	-	-	-	-	154	98,1	59	95,2
	AB	-	-	-	-	-	-	1	0,6	1	1,6
	BB	-	-	-	-	-	-	2	1,3	2	3,2
Am	AA	63	92,6	-	-	23	82,1	-	-	-	-
	AB	1	1,5	-	-	1	3,6	-	-	-	-
	BB	4	5,9	-	-	4	14,3	-	-	-	-
Es-1	FF	27	55,1	12	48,0	6	60,0	-	-	-	-
	FI	17	34,6	12	48,0	4	40,0	-	-	-	-
	II	5	10,3	1	4,0	-	-	-	-	-	-

¹polymorphic protein, ²genotypes, ³occurrence of genotype according to breeds

n - počet hodnotených zvierat n - number of evaluated animals

pozitívnych jedincoch sa prítomnosť X'-proteínu prejavila jedným modrosfarbeným pruhom. (nálež je negatívny vtedy pri genotypy X-/X-, kedy nie je možné rozlíšiť farebné frakcie na škrobových géloch). V lokuse X'-proteín sme pozorovali polymorfizmus s fenotypom X+ (genotyp X+X+ alebo X+X-) pri všetkých plemenách koní s nasledovnými genotypovými frekvenciami u arabského plnokrvníka 54,2 %, u anglického polokrvníka 50,0 %, u nónia 75,0 %, u slovenského teplokrvníka 69,6 % a športových teplokrvných koní 63,8 %.

Malátdehydrogenáza

Ide o najpomalšiu frakciu hemolyzáta, ktorá sa na géle nachádza len 0,5 cm od štartu. V rámci všetkých plemien koní sme identifikovali rýchlejšiu frakciu A a pomalšiu frakciu B. Na základe vzájomného posúdenia oboch alel v súlade s výsledkami Nozawu a kol. (1998) sme vyššiu

frekvenciu výskytu zistili pri alele A (arabský plnokrvník 0,540, slovenský teplokrvník 0,620 a športové teplokrvné kone 0,588). Iba anglický polokrvník mal frekvenciu alely A nižšiu (frekvencia alely B mala hodnotu 0,650). V lokuse malátdehydrogenázy sme zistili tri genotypy - AA, BB a AB. Jednoznačne nízku početnosť jedincov s genotypom AB sme zaznamenali pri všetkých testovaných plemenách koní. Kolísala od 8,8 % pri slovenskom teplokrvníkovi po 18,5 % pri arabskom plnokrvníkovi koní.

Transferín

Za najpolymorfnejší lokus považujeme transferínový lokus s alelami D, F, H, M, O, R. Najvyššiu frekvenciu mala alela F - 0,482 pri arabskom plnokrvníkovi koní. Alely D a H mali u testovaných plemien koní vyrovnanú frekvenciu (alela D medzi 0,206 až 0,354, alela H od 0,147 do 0,280). Alely M, O, R sa v populácii

koní vyskytovali len veľmi zriedka s frekvenciami od 0,022 (alela R) do 0,094 (alela M). Tieto výsledky sú porovnateľné s našimi skoršími výsledkami (Trakovická a kol., 1999b), keď sme v lokuse transferínu rovnako detegovali šesť alel s vysokou frekvenciou aliel D (0,380) a F (0,390) a veľmi nízkou frekvenciou alely R (0,010).

Najviac, až päť genotypových kombinácií sme zistili pri alele D (DF, DH, DR, DM, DO). Po nej nasledovala alela F so štyrmi genotypovými kombináciami (FH, FM, FR, FO), alela H s tromi genotypmi (HM, HR, HO) a len dva genotypy sme zistili pri alele M (MR, MO).

V populácii športové teplokrvné kone sme zistili najviac osemnásť genotypových kombinácií. Z nich dominantné zastúpenie mali genotypy DF (20,7 %), FH (20,7 %) a FF (15,9 %). Naopak genotypy DR, FR a HR boli rozlíšené iba pri tejto skupine koní.

Posttransferín

Polymorfizmus posttransferínu sa realizoval ako dvojjalelový systém (alely A, B). Alela A prevládala u arabského plnokrvníka (0,792), anglického polokrvníka (0,569), nónia (0,646) a slovenského teplokrvníka (0,670). Vyrovnaná frekvencia alel bola u športových teplokrvných koní. Následne z tejto skutočnosti vyplýva, že výskyt homozygotného genotypu AA (maximum u arabského plnokrvníka - 62,50 %) a heterozygotného genotypu AB (maximum u nónia - 70,83 %) dosiahol spolu vyššie hodnoty ako frekvencia genotypu BB, ktorý sa v populácii testovaných koní vyskytoval len zriedka.

Albumín

Polymorfizmus albumínu sa u arabského plnokrvníka a športových teplokrvných koní realizoval ako trojjalelový (alely A, B, C), u ďalších dvoch plemien (anglický polokrvník a nónius) alela C absentovala. Ani Jiskrová a kol. (2002) nezistila u koní v albumínovom lokuse alelu C. V súlade s našimi predchádzajúcimi výsledkami (Trakovická a kol., 1999b) sme zistili prevládajúci výskyt alely B.

V albumínovom polymorfnom systéme bielkovín sme potvrdili genotypy AA, AB, BB, AC a BC. Heterogénna genotypová kombinácia AB bola najrozšírenejšia pri troch plemenách (arabský plnokrvník 44,8 %, slovenský teplokrvník 50 %, športové teplokrvné kone 46,5 %), homozygotný genotyp BB bol najfrekventovanejší u anglického polokrvníka (49,2 %) a nónia (70,6 %).

Prealbumín-1 a postalbumín-1

Proteínové frakcie, ktoré v nosnom médiu škrobového gélu nachádzali nad albumínmi, predstavujú prealbumín-1. Pozostávali z dvoch alel A a B. Druhá časť frakcií, ktoré sa vyznačovali pomalšou migráciou v elektrickom poli jednosmerného elektrického prúdu

a boli pod úrovňou albumínovej zóny, predstavujú postalbumín-1. Tvoria ho alely A a B, ktoré sme stanovili u všetkých piatich plemien koní, alely C (absentovala u anglického polokrvníka), alela D (absentovala u anglického polokrvníka a slovenského teplokrvníka) a alela E (absentovala u arabského plnokrvníka a nónia). Popritom alely C, D a E boli zistené iba u niekoľkých jedincoch, čomu zodpovedali i nízke alelové frekvencie.

Pri elektroforetickej separácii prealbumínu-1 sme získali tri genotypové kombinácie (AA, AB, BB). Genotyp AB prevládala u arabského plnokrvníka (63,33 %), nónia (54,17 %) a anglického polokrvníka (58,0 %). Genotyp AA dominoval u športových teplokrvných koní (53,85 %). Slovenský teplokrvník mal genotypovú štruktúru medzi genotypmi AB (50,0 %) a BB (50,0 %).

Podstatne vyššiu heterogenitu vykazoval systém postalbumín-1, pri ktorom sme celkovo zistili jedenásť polymorfnych variantov (AA, BB, CC, AB, AC, AD, AE, BC, BD, BE, CD). Z nich u štyroch plemien mal najvyšší podiel genotyp AB (nónius 50,0 %, arabský plnokrvník 58,49 %, športové teplokrvné kone 27,97 %, slovenský teplokrvník 33,34 %). Iba u arabského plnokrvníka mal homozygotný genotyp BB najväčšie zastúpenie (36,96 %) spomedzi 6-tich možných genotypov.

Ceruloplazmín, amyláza, esteráza-1

V rámci polymorfnych bielkovín boli zistené dvojjalelové systémy pre ceruloplazmín a amylázu (genotyp A, B) a sérovú esterázu Es-1 (genotyp F, I). Najväčšie frekvencie sme zistili pri ceruloplazmínovej alele A (slovenský teplokrvník 0960, športové teplokrvné kone 0,984), pri amylázovej alele A (arabský plnokrvník 0,934, nónius 0,839), pri esterázovej alele F (arabský plnokrvník 0,724, nónius 0,800). Celkovo sme pri všetkých troch bielkovinách zistili tri genotypy – AA, BB, AB pre ceruloplazmín a amylázu, FF, FI a II genotypy pre esterázu-1. Zistili sme tiež vysoké hodnoty a dominantné zastúpenie homozygotného genotypu AA pre ceruloplazmín (slovenský teplokrvník 98,1 %, športové teplokrvné kone 95,2 %), genotypu AA pre amylázu (arabský plnokrvník 92,6 %, nónius 82,1 %) a genotyp FF pre esterázu-1 (arabský plnokrvník 55,1 %, anglický polokrvník 48,0 % a nónius 60,0 %).

Rovnako aj Hamanová a kol. (1999) zistili u sliezskeho norika vyššiu frekvenciu esterázovej F alely. Na rozdiel od našich výsledkov Jiskrová a kol. (2002) u českého teplokrvníka zistila v polymorfizme sérovej esterázy aj tretiu alelu (s označením S a frekvenciou 0,021).

Súčasťou našej práce bolo zistiť štatistickým programom PHYLIP version 3.63 genetické vzdialenosti v populáciách piatich plemien koní už zo známych frekvencií alel polymorfnych bielkovín krvi (tab. 3).

Tabuľka 3: Genetická vzdialenosť medzi testovanými plemenami koní
Genetic distances among observed breeds of horses

Index genetickej podobnosti (IGS) ¹	Genetická vzdialenosť (D) ²				
	Or 1/1	A 1/2	N	SW	SWH
Or 1/1	-	0,1205	0,1854	0,0821	0,0968
A1/2	0,8864	-	0,0846	0,1858	0,1423
N	0,8307	0,9189	-	0,1937	0,1817
SW	0,9211	0,8304	0,8239	-	0,1475
SWH	0,9077	0,8674	0,8339	0,8629	-

¹index of genetic similarity, ²genetic distance

Najväčšiu genetickú vzdialenosť sme odhadli medzi nóniom a slovenským teplokrvníkom (D = 0,1937), čomu zodpovedá aj najnižší index genetickej podobnosti (IGS = 0,8239). Najviac príbuzné boli plemená arabský plnokrvník a slovenský teplokrvník (D = 0,0821). Takmer identické hodnoty boli v genetickej vzdialenosti (D) a indexu genetickej podobnosti (IGS) sme stanovili medzi arabským plnokrvníkom a nóniom (D = 0,1854, IGS = 0,8307) a anglickým polokrvníkom a slovenským teplokrvníkom (D = 0,1858, IGS = 0,8304). Tieto hodnoty poukazujú na minimálne rozdiely v génovej a genotypovej štruktúre porovnávaných populácií koní.

Hamanová a kol. (1999) medzi populáciou génovej rezervy českého chladnokrvného koňa slezský norik a veľmi podobnou skupinou zvierat (plemeno lánsky norik) stanovila štandardnú genetickú vzdialenosť D = 0,266. Podobne Jiskrová a kol. (2002) určila rozdiely v genofonde moravského teplokrvníka, českého teplokrvníka a trakénskeho koňa podľa výsledkov biochemických polymorfných znakov na sedemnástich genetických polymorfných systémoch. Najmenšia hodnota genetickej vzdialenosti bola medzi českým teplokrvníkom a trakénskym koňom (D = 0,027), väčšia českým a moravským teplokrvníkom (D = 0,076) a najväčšia medzi trakénskym koňom a moravským teplokrvníkom (D = 0,102).

ZÁVER

Z výsledkov elektroforetického rozboru polymorfných bielkovín hemolyzátu, krvnej plazmy a krvného séra testovaných plemien koní vyplýva:

1. Väčšina polymorfných systémov sa realizovala ako dvojalélová (Hb, X'-protein, Mdh, PtTf, PeAl-1, Cp, Am, Es-1). Plymorfný systém Al bol trojalélový, systémy Ca a PtAl-1 boli päťalélové a najväčší šiest'alélový systém bol zistený v transferínovom lokuse (Tf).

2. Populácie koní boli polymorfné vo všetkých systémoch pre hemoglobín sa zistili tri genotypy, pre karbonickú anhydrázu pätnásť, pre X'-protein dva, pre malatdehydrogenázu tri, pre transferín osemnásť genotypov, pre posttransferín tri genotypy, pre prealbumín-1 tri, pre albumín päť, pre postalbumín-1 pätnásť, pre ceruloplazmín tri, pre amylázu tri genotypy a pre esterázu-1 tri genotypy.
3. Na základe genetickej analýzy alel biochemických polymorfných systémov sme zistili, že najväčšia genetická vzdialenosť je medzi nóniom a slovenským teplokrvníkom (D = 0,1937), naopak najpríbuznejší k slovenskému teplokrvníkovi je arabský plnokrvník (D = 0,0821).

Výsledky boli v rámci Agentúry pre podporu vedy a techniky získané z výskumného projektu APVT 20-006102 Využitie biotechnologických metód pre šľachtenie, výživu a ochranu biodiverzity v špeciálnych odvetviach živočíšnej výroby.

LITERATÚRA

- BEŽOVÁ, K. – TRAKOVICKÁ, A. – RAFAY, J. – HALADOVÁ, D. 2003. Genetická analýza polymorfizmu bielkovín krvi brojlerových králikov. In: *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, roč. 49, 2003, č. 4, s. 157–163.
- BJORNSTAD, G. – NILSEN, N.O. – ROED, K.H. 2003. Genetic relationship between Mongolian and Norwegian horses? In: *Anim. Genet.*, Vol. 34, 2003, No. 1, p. 55–58.
- COZZI, M.C. – CRISTAFALO, C. – COLOMBO, P. 1989. Hemoglobin polymorphism detected by IEF-PAG for seven Italian horse breeds. In: *Anim. Genet.*, Vol. 20, 1989, No. 1, p. 9–17.
- HALO, M. – KOVALČÍK, E. – STRAPÁKOVÁ, E. – POLYAKOVÁ, L. 2000. Podiel jednotlivých plemien koní pri tvorbe slovenského športového pony. In: *Acta fytotechn. et zootechn.*, roč. 3, 2000, (supl.), s. 79.
- HAMANOVÁ, K. – GLASNÁK, V. – SCHRÖFFELOVÁ, D. – MAJZLÍK, I. 1999. Characterisation of the Czech cold-

- blood horse and Silesian Noriker by microsatellites, protein polymorphisms and blood groups. In: *Živoč. Vjár.*, Vol. 44, 1999, No. 10, p. 457–461.
- JISKROVÁ, I. – GLASNÁK, V. – MISAŘ, D. 2002. The use of blood protein polymorphism for determining the genetic distance between the Moravian warm-blooded horse and the Czech warm-blooded and Trakehner horses. In: *Czech J. Anim. Sci.*, Vol. 47, 2002, No. 3, p. 98–105.
- NEI, M. – ROYCHOUDHURY, A. K. 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. In: *Genetic*, Vol. 76, 1974, p. 379–390.
- NOZAWA, K. – SHOTAKE, T. – ITO, S. 1998. Phylogenetic relationship among Japanese native and alien horses estimated by protein polymorphisms. In: *J. Equine Sci.*, Vol. 9, 1998, No. 2, p. 53–69.
- OBLAP, R.V. – GLAZKO, V.I. – VERESENKO, O.N. – KUSHNIR, A.V. 1998. The comparison of the genetic structure of Przewalski horse and some domestic horse breeds (Orlov's trotter, Guzul, Acutian horse). In: *Czech J. Anim. Sci.* Vol. 43, 1998, (supl.), No. 9, 421 p.
- TRAKOVICKÁ, A. – KÚBEK, A. – BEŽOVÁ, K. 1999a. The genetic polymorphism of horse blood proteins in Slovakia. In: *Acta fytotechn. et zootechn.*, roč. 2, 1999, (mimoriadne číslo), s. 120–121.
- TRAKOVICKÁ, A. – KÚBEK, A. – ŽITNÝ, J. – BEŽOVÁ, K. 1999b. Genetický polymorfizmus bielkovín krvi koní. In: *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe*, zbor. z medzinár. ved. seminára. Nitra: SPU, 1999, s. 160–162, ISBN 80-7137-665-5
- UZUN, M. – KARKHAN, A. – KOPAR, A. 2001. Study of eight blood protein polymorphic systems in Arabian horses from Turkey. In: *Russ J. Genet.*, Vol. 37, 2001, No. 12, pp.1403–1408.
- ŽITNÝ, J. – KÚBEK, A. – ZIMMERMAN, V. – TRAKOVICKÁ, A. – TOHOVÁ, K. 2002. Genetická analýza mliečnych proteínov z hľadiska úžitkového veku dojníc. In: *Agriculture*, (Poľnohospodárstvo), roč. 48, 2002, č. 8, s. 389–393.
- GENDIST (Compute genetic distances from gene frequencies), [www1: http://www.phylip.com](http://www.phylip.com)
- Zväz chovateľov koní na Slovensku, [www2: http://www.horses.sk/s-kone.htm](http://www.horses.sk/s-kone.htm)

Adresa autorov: Doc. Ing. Anna Trakovická, CSc., Ing. Július Žitný, CSc., Prof. Ing. Alojz Kúbek, CSc., Katedra genetiky a plemenárskej biológie, FAPZ SPU, 949 76 Nitra, Trieda A. Hlinku 2