

**VARIJABILNOST ALBUMINA U KRVNOM SERUMU KAO
ODRAZ MOGUĆEG EVOLUTIVNOG UTICAJA
DILUVIJALNIH KONJA NA POPULACIJU DOMAĆEG
BRDSKOG KONJA U SRBIJI***

***VARIABILITY OF ALBUMIN IN BLOOD SERUM AS A POSSIBLE
REFLECTION OF EVOLUTIONAL INFLUENCE OF DILUVIAL HORSES
ON POPULATION OF NATIVE MOUNTAIN HORSE IN SERBIA***

Trailović Ružica, Savić Mila, Dimitrijević V., Jovanović S.**

Domaći brdski konj je autohtoni kopitar čije se stanište proteže celim brdsko-planinskim područjem Srbije južno od Save i Dunava, a zajedno sa autohtonim rasama brdskih konja ostalih balkanskih zemalja se svrstava u grupu mediteranskih ponija. Za razliku od opisanih konja na Balkanu, poput Skirosa, Pinee, Pindosa, karakačanskog konja, bosansko-brdskog konja i drugih; brdski konji u Srbiji nisu morfološki opisani niti su bili predmet interesovanja naučne i stručne javnosti sve do kraja dvadesetog veka. Istraživanja polimorfizma albumina u krvnom serumu konja rase domaći brdski konj preduzeta su u sklopu ispitivanja morfološke, fiziološke i genetičke strukture ove autohtone rase kopitara.

Na osnovu rezultata dobijenih elektroforetskim razdvajanjem tipova albumina u krvnom serumu domaćeg brdskog konja ustanovljeno je prisustvo četiri fenotipa albumina: AA, AB, BB i BI koji se nasleđuju pod kontrolom tri autozomalna alela A^A , A^B i A^I . Pojava A^I alela u populaciji domaćeg brdskog konja ukazuje na uticaj diluvijalnog šumskog konja na proces mikroevolucije autohtonog domaćeg brdskog konja. Nalaz okcidentalno-specifične izoforme albumina ukazuje da postoji potreba da se detaljno prouči evolutivna pozicija i istorijski uticaj različitih predaka, a naročito okcidentalnih konja na populaciju domaćeg brdskog konja u Srbiji.

Ključne reči: domaći brdski konj, varijabilnost, polimorfizam albumina

* Rad primljen za štampu 23. 11. 2012. godine

** Dr sc. vet. med. Trailović Ružica, docent, dr sc. vet. med. Savić Mila, redovni profesor, dr sc. vet. med. Dimitrijević Vladimir, docent, dr sc. vet. med. Jovanović Slobodan, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Uvod / Introduction

Domaći brdski konj je autohtona rasa kopitara čije se prirodno stanište rasprostire u brdsko-planinskom regionu bivše Jugoslavije: od Stare planine na Istoku do Jadranskog mora na Zapadu i od Save i Dunava na severu do Solunske Makedonije na Jugu. Zajedno sa ostalim autohtonim konjima Balkanskog poluostrva svrstava se u grupu mediteranskih ponija. Na balkanskom poluostrvu je, do sada, planskom selekcijom obuhvaćeno više autohtonih rasa i tipova konja poput bosansko brdskog konja, karakačanskog konja, Skirosa, Pinea, Pindosa, i td. Brdski konji u Bosni i Hercegovini su, na osnovu morfoloških odlika, okarakterisani, a kao veoma značajni ekotipovi izdvajaju se podveleški i romanijski konj (Marković i sar., 2007; Druml i sar., 2009). Tokom dvadesetog veka različiti autori na osnovu kranimetrijskih parametara opisuju difiletsko poreklo malih konja Zapadnog Balkana (Ogrizek, 2003; Melecki, 2003) te se nadalje svi brdski konji sa teritorije bivše Jugoslavije opisuju kao potomci dva progenitora: tarpana (*Equus gmelini Antonius*) i prževalskog (*Equus Przewalskii*). „Primitivni“ brdski konji izvan planskog uzgoja bosansko-brdskog konja u Bosni i Hercegovini nisu detaljno opisani, te nedostaju detaljne informacije i egzaktne potvrde o evolutivnom statusu ovih autohtonih konja među domesticiranim kopitarima.

U drugoj polovini dvadesetog veka došlo je do značajne promene u stavovima o ulozi divljeg konja prževalskog u procesu domestikacije kopitara uopšte. Naime, neki autori (Bowling i sar., 2003) su analizirajući polimorfizam mikrosatelita situiranih na autozomima i X hromozomu, zaključili da Prževalski formira zasebnu evolutivnu granu u odnosu na domaćeg konja. U isto vreme Walner i sar. (2003) su na osnovu polimorfizma Y hromozoma, utvrdili da su pržeovski i domaći konj sestrinske vrste. Na osnovu proučavanja funkcionalne i genetičke varijabilnosti utvrđeno je da su mutacije bile retka pojava u toku evolucije domesticiranih konja, te da se pojedini genomi i funkcionalni markeri mogu geografski diferencirati i ukazivati na značaj pojedinih izvornih populacija u toku nastanka određene rase domaćeg konja (Ellengren, 2002; Dias i sar., 2002). ukazuje da se pojedine rase konja mogu razlikovati na osnovu frekvence i pojave alela u istom sistemu polimorfnih proteina, te da pojedini rasno specifični aleli odražavaju pretke koji su učestvovali u nastanku savremenih populacija konja. Tako se na primer, u okviru albuminske frakcije u serumu konja može utvrditi funkcionalni alel Al^I koji je prisutan samo kod nordijskih ponija, polukrvnih konja sa severa Evrope i kod nekih italijanskih rasa. Smatra se da je ovaj alel albumina istorijsko nasleđe od diluvijalnog šumskog konja, odnosno da odslkava selekcijski uticaj hladnokrvnih konja na savremene populacije (Sandberg 1972).

Monitoring različitih geografski razdvojenih krda domaćeg brdskog konja u Srbiji i Crnoj Gori je ukazao na eksterijernu intrapopulacijsku varijabilnost i odličnu prilagođenost strmim terenima i pojedinim mikroklimatskim lokalitetima u planinskom području Srbije (Trailović, 2009). Istorijski podaci o uzgoju konja na teritoriji brdsko-planinskog područja Srbije i zapadnog Balkana su veoma os-

kudni. Postoje arheološki dokazi da je konj korišćen kao domaća životinja na teritoriji Balkana i donjeg toka Dunava već krajem trećeg milenijuma pre nove ere, a zbog predanosti u radu, velike okretnosti i blage naravi, konji sa ovog područja su bili cenjeni i u Kapadokiji. Poznato je da su konji na Balkanskom poluostrvu bili pod odgajivačkim uticajem asirskih, maloazijskih i konja iz centralne Azije još u Mikenskom periodu. U rimskoj imperiji, konji su na Balkan stizali kako iz Sredozemlja tako i iz Centralne Evrope i iz Skandinavije, da bi prodor Slovenskih plemena značio dolazak konja iz Pribaltika, a Huni, dolazeći na leđima konja mongolskog tipa, su takođe imali uticaja i na konje u našim krajevima. Period Osmanskog carstva je period velikog uticaja orijentalnih konja i arabera na brdske konje Zapadnog Balkana (Trailović, 2009).

U želji da rasvetlimo uticaj različitih populacija na proces domestikacije i nastanak domaćeg brdskog konja otpočeli smo proučavanja biohemijskog polimorfizma u ove, nedovoljno opisane rase. Naime, albumin je polimorfni biohemijski genetički marker koji je veoma informativan deo hemotipskog i kombinovanog hemo-genotipskog panela koji se koristi u kontroli roditeljstva i pri potvrđivanju identiteta konja. U populacijama domaćeg konja su do sada utvrđeni fenotipovi A, B, I, AB, AI i BI ovog proteina krvne plazme, koji su pod kontrolom tri autozomalna kodominantna alela: Al^A , Al^B i Al^I . Alel Al^I se javlja samo kod skandinavskih ponija, u populaciji švedskog, a retko u populaciji italijanskog kasača, te se može smatrati indikatorom selekcionog uticaja diluvijalnih predaka - okcidentalnih konja na pojedine rase (Sandberg i Juneja, 1978; Jiskrova i sar., 2002; Nunes i sar., 2005).

Materijal i metode / *Material and methods*

Biohemijski polimorfizam u sistemu albumina je ispitan elektroforetskim tipovanjem krvne plazme 77 grla rase domaći brdski konj. Kako populacija ove autohtone rase nije obuhvaćena selekcijskim procedurama, u nedostatku geneaoloških podataka uzorak je formiran geografskom diseminacijom sa 5 biogeografski razdvojenih lokaliteta: Pivska planina, Kom, Sinjajevina, Katunska Nahija i Sjenica-Pešter.

Uzorci krvi sa heparinom su sakupljeni punkcijom *venae jugularis*. Uzorci plazme su, nakon izdvajanja centrifugovanjem razdvojeni standardnom elektroforezom na skrobnom gelu. Fenotipovi albumina kod konja rase domaći brdski konj su identifikovani na osnovu elektroforetske pokretljivosti, frekvencija alela je utvrđena direktnim brojanjem, a evolutivno-genetička ravnoteža je analizirana prema *Hardy-Weinberg*-ovom zakonu.

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

Elektroforetskim ispitivanjem polimorfizma albumina u krvnom serumu konja rase domaći brdski konj utvrđeno prisustvo četiri fenotipa ovog prote-

ina i to: AA, AB, BB i IB. Autozomni aleli Al^A i Al^B sa frekvencom 0,390 i 0,597 po redosledu, dominiraju u populaciji domaćeg brdskog konja, pri čemu je alel Al^I veoma redak (frekvencija 0,013) i utvrđen kod konja u izolovanom lokalitetu Katunska Nahija. Rezultati ispitivanja polimorfizma albumina u populaciji domaćeg brdskog konja su prikazani u tabeli 1.

Poznato je da A i B aleli opisani u svih do danas ispitanih rasa konja, a utvrđeni su i kod prževalskog (Bowling i Clark, 1985; Patterson i sar., 1991). Nalaz intermedijarno pokretljivog albuminskog alela (I) u domaćeg brdskog konja je veoma interesantan pošto se ovaj alel distribuira samo u populaciji kasača u Severnoj Švedskoj, kod nordijskih ponija i kod nekih italijanskih rasa konja (Sandberg, 1972) i ne distribuira se u konja orijentalnog porekla, odnosno kod konja sa dalekog istoka niti u populaciji prževalskog.

Tabela 1. Frekvencija alela i genotipova u okviru funkcionalnog polimorfnog lokusa albumina kod domaćeg brdskog konja /

Table 1. Allelic frequencies and distribution of genotypes within Al locus in Yugoslav mountain pony

	Genotipovi Al / Al genotypes						Frekvencija alela / Allelic frequency		
	AA	AB	BB	BI	II	AI	Al^A	Al^B	Al^I
Nađeno / Established	17	26	32	2	/	/	0,390	0,597	0,013
Očekivano / Expected	11,71	35,86	27,44	1,2	0,01	0,78			
Broj konja / Number of horses	77								
χ^2	7,182						$p = 0,2075$ ($p < 0,5$)		

Smatra se da pojava Al^I predstavlja pokazatelj uticaja diluvijalnih predača – okcidentalnog šumskog konja na savremenu populaciju. Identifikovanje ove, diluvijalno specifične forme albumina u populaciji domaćeg brdskog konja ukazuje na istorijski značaj okcidentalnih konja u procesu mikroevolutivnog razvoja populacije koja nije bila podvrgavana planskom selekcijskom radu. Kako je kroz istoriju, tokom glacijalizacije, odnosno za vreme Rimske Imperije i kasnije tokom krstaških pohoda, bio moguć uticaj okcidentalnih konja na lokalne populacije na području Balkanskog poluostrva nalaz diluvijalno specifičnog alela nam ukazuje na nedovoljno poznavanje istorijskog razvoja autohtonog konja u našem području.

Ispitivanjem značajnosti razlike između utvrđene i očekivane distribucije fenotipova albumina u uzorku populacije ustanovljeno je da domaći brdski konj nije u evolutivno-genetičkoj ravnoteži. Disekvilibrijum koji je ustanovljen u odnosu na funkcionalni lokus albumina kod domaćeg brdskog konja može biti posledica akceleracije drifta usled nejednake reproduktivne efikasnosti kobila i pastuva, bilo da uzorci potiču iz krda – harema koji se slobodno gaje, bilo da je u

pitanju kontrolisana reprodukcija kada se većina kobila opasuje pod licenciranim pastuvom.

Zaključak / Conclusion

Proučavanjem funkcionalnog polimorfizma albumina u populaciji domaćeg brdskog konja utvrđeno je prisustvo intermedijarnog tipa albumina koji je indikator uticaja diluvijalnog genoma na nastanak ove rase konja. Prodor okcidentalnih konja na Balkan odigravao se tokom ledenih doba, kao i tokom perioda Rimske imperije, i kasnije u Krstaškim pohodima.

Kako dosadašnje teorije ističu tarpana i Prževalskog kao pretke domaćeg brdskog konja, prisustvo diluvijalno-specifičnog genetskog markera u populaciji domaćeg brdskog konja ukazuje da postoji potreba za detaljnim evolutivno-genetičkim istraživanjima porekla autohtonog brdskog konja u cilju rasvetljavanja procesa domestikacije i mikroevolucije kopitara u Srbiji i na Balkanu.

Literatura / References

1. Bowling AT, Zimmermann W, Ryder O, Penado C, Peto S, Chemnick L, Yasinetskaya N, Zharkikh T. Genetic variation in Przewalski's horses, with special focus on the last wild caught mare, 231 Orlitza III. *Cytogenetic and Genome Research* 2003; 101(1-4): 226-34.
2. Bowling AT, Clark RS. Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 1985; 16(2): 93-108.
3. Dias S, Dulout FN and Peral-Garcia P. Greater genetic variability in Argentine Creole than in Thoroughbred horses based on serum protein polymorphism. *Genetic and Molecular Research* 2002; 1: 261-5.
4. Druml T, Telalbasic R, Curik I. Body shape analysis of Bosnian mountain horses using Procrustes statistics. *Italian Journal of Animal Science* 2009; 8(Suppl. 3): 131-3.
5. Ellengren H. It took many mares to form domestic horse. *Trends in Genetics* 2002; 18(10): 501-2.
6. Jiskrova I, Glasnak V, Misari D, The use of blood protein polymorphism for determining the genetic distance between the Moravian warm-blooded and the Czech warm-blooded and Trakehner horses. *Czech Journal of Animal. Science* 2002; 47(3): 98-105.
7. Marković B, Marković M, Adžić N. The farm animal genetic resources of Montenegro. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2007; 23(3-4): 1-9.
8. Melecki E.V. Das bosnische Pferd. U: Telalbašić R i Žiga E. 2003: Bosanski Brdski konj. Svjetlost, Sarajevo, 2003: 33-51.
9. Nunes RL, Oliveira DAA, Coelho EGA. Polymorphism of serum proteins in Campolina horses. *Animal Reproduction* 2005; 2(1): 60-2.
10. Ogrizek A, O porjetlu i osobinama bosanskog konja U: Telalbašić R i Žiga E. Bosanski Brdski konj. Svjetlost, Sarajevo, 2003: 53-62.

11. Paterson SD, Bell K, Manton VJA. Equus przewalskii plasma protease inhibitor (Pi) system. *Animal Genetics* 1991; 21(2): 129-39.
12. Sandberg KA. Third allele in the horse albumin system. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 1972; 3(4): 207-10.
13. Sandberg K, Juneja RK. Close linkage between the albumin and Gc loci in the horse. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 1978; 9(3): 169-74.
14. Trailović R. Filogenetska proučavanja domaćeg brdskog konja na osnovu genetskih markera. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Beograd, 2009.
15. Wallner B, Brem G, Müller M, Achmann R. Fixed nucleotide differences on the Y chromosome indicate clear divergence between *Equus przewalskii* and *Equus caballus*. *Animal Genetics* 2003; 34(6): 453-6.

ENGLISH

VARIABILITY OF ALBUMIN IN BLOOD SERUM AS A POSSIBLE REFLECTION OF EVOLUTIONAL INFLUENCE OF DILUVIAL HORSES ON POPULATION OF NATIVE MOUNTAIN HORSE IN SERBIA

Trailović Ružica, Savić Mila, Dimitrijević V., Jovanović S.

Native mountain horse is an autochthonous ungulate with a domicile extending to the whole mountainous region of Serbia, south of the Sava and Danube rivers. Along with native horses of other Balkan countries it is classified as Mediterranean pony, but unlike Balkan horses such as Skiros, Pinea, Pindos, Karakachan, Bosnian mountainous horse etc., mountainous horses in Serbia neither have been morphologically described nor were of concern to the scientific community till the end of the twentieth century. Investigations of albumin polymorphism in blood serum of native mountain horse were taken within a comprehensive research on morphologic, physiologic and genetic structure of this autochthonous ungulate breed.

On the basis of the results obtained by electrophoretic separation of albumine types in native mountainous horse blood serum, there were determined four albumine phenotypes: AA, AB, BB and BI which are inherited by three autosomal alleles Al^A , Al^B , Al^I . The appearance of Al^I allele in native mountainous horse population points out to diluvial forest horse impact on process of microevolution of autochthonous native mountainous horse. Occidental-specific albumin isoforms presence indicate the necessity of thorough study of evolution position and historic influence of different ancestors, and especially occidental horses on native mountain horse population in Serbia.

Key words: Native mountain horse, variability, albumine polymorphism

ИЗМЕНЧИВОСТЬ АЛЬБУМИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК ОТРАЖЕНИЕ ВОЗМОЖНОГО ЭВОЛЮЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЛЮВИАЛЬНОГО НАСЕЛЕНИЯ ЛОШАДЕЙ НА ГОРНЫЕ ЛОШАДИ В СЕРБИИ

Траилович Ружица, Савич Мила, Дмитриевич В., Йованович С.

Домашние горные лошади являются местными породами и живут в горном регионе Сербии южно от Савы и Дуная, они с местными породами горных лошадей из остальных стран Балканах принадлежат к породе средиземноморских пони. В отличие от описанных пород лошадей на Балканах, например Скирос, Пиндос, Каракачанская лошадь, босанско-горная лошадь, горные лошади в Сербии морфологически не описаны и не были интересными научной и профессиональной общественности до конца двадцатого века. Исследование полиморфизма альбумина в сыворотке крови горных лошадей проведены в рамках исследования морфологической, физиологической и генетической структуры этой местной породы копытных.

На основании результатов, полученных электрофоретическим разделением разных типов альбумина из сыворотки крови домашней горной лошади, мы получили 4 фенотипа альбумина: AA, AB, BB, BI, которые наследуются под контролем трех аутозомных аллелей: A^I^A, A^I^B и A^I^I. Возникновение аллелей в популяции домашней горной лошади указывает на влияние делювиальных лесных лошадей в процессе микроэволюции домашней горной лошади. Наличие изоформ альбумина, характерных для тяжеловозных пород указывает, что есть необходимость тщательно изучить эволюционную позицию и историческое влияние различных предков, особенно тяжеловозных пород лошадей на домашнюю горную лошадь в Сербии.

Ключевые слова: домашняя горная лошадь, изменчивость, полиморфизм альбумина

