

Az egyes lószínek genetikai diverzitása

Tóth Zsuzsanna

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,
Mezőgazdaságtudományi Kar,
Állattenyésztés- és Takarmányozástani Tanszék, Debrecen
tothzs@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A jelen tanulmány fő célja a lovaknál előforduló szőrszínek mennyiségi tulajdonságkénti változékonyságának vizsgálata, illetve a színeket befolyásoló nem genetikai eredetű hatások becslése volt. A kutatásban főleg tradicionális magyar lófajták: lipicai, gidrán, nóniusz, Shagya arab és arab telivér színváltozatainak vizsgálatára került sor. A kutatómunka eredményeket közül objektív módszerrel történő színmérésről, illetve a szőrszál melanin tartalmának spektrofotométeres meghatározásáról. A korreláció analízis azt mutatja, hogy a szőr teljes melanintartalmával az L^* érték áll szoros kapcsolatban ($r=-0,858$, $p<0,0001$). A szubjektív módon kialakított színosztályok és az L^* , a^* értékek szintén szoros összefüggést mutattak ($R^2=0,88$ és $0,46$, $p<0,001$), míg a b^* érték már kevésbé volt befolyásoló tényező ($R^2=0,22$, $p<0,001$).

Kulcsszavak: szín diverzitás, Minolta Chromameter, spektrofotometria

SUMMARY

The main aim of this study was to analyze sources of variability for coat colour expressed as a quantitative trait as well as to determine non genetic factors influencing horse colour variation and shades. Traditional Hungarian horse breeds such as Lipizzan (grey), Gidran (chestnut), Shagya Arabian and Arabian Pure Bred (grey) and Nonius (bay and black) horses were involved in the current study. We report results using direct measurements of horse coat colour using objective colorimetric dimensions and a spectrophotometer for determining hair melanin. Correlation analysis indicated that the single biological component that correlated best with the total melanin content of horse hair is the L^* value ($r=-0,858$, $p<0,0001$). Subjective colour classes and coat colour variables L^* and a^* were obviously related, with R^2 values of 0.88 and 0.46 respectively, with a lower R^2 for b^* of 0.22 (all $p<0,001$).

Keywords: colour diversity, Minolta Chromameter, spectrophotometry

BEVEZETÉS

A kültakaró színe, mint egyedi fenotípusos tulajdonság – ritkábban egyértelmű fajtajelleg – jelentős szereppel bír az egyes háziállatfajok szelekciós folyamatában. Az utóbbi évek genetikai kutatásai csaknem teljességgel feltárták a pigment szintézis molekuláris alapjait, így a lovaknál előforduló színek (pigmenttípusok) allelikusan is ismertek (Zöldág és mtsai, 2003). Mégis, mind a mai napig nem létezik olyan pontos színosztályozó rendszer, mely a gyakorlatban hasznos eszközt jelentene az egyes jellegzetes színváltozatok

elkülönítésében. Lauvergne és mtsai (1991) átfogó tanulmányt jelentetett meg az egyes színek jellemzésére, mely négy részterületet (pigmentációs mintázat, eumelanin típusok, pigment alakulás, fehér foltok) foglal magába. A szín méréstechnika eszköze a Minolta Chromameter (Curik és mtsai, 2002). Az optikai műszer széles körben elterjedt, humán vonalon a bőr pigmentáltóságának meghatározásánál Alaluf és mtsai (2002), Naysmith és mtsai (2004), illetve állati termékek esetében húsmínősítésénél Ito és Wakamatsu (2003) is eredményesen használják. A kutatómunka elsődleges célja a lovaknál előforduló szőrszínek változékonyságának vizsgálata volt, és az objektív eredmények szubjektív szín csoportosítással való statisztikai elemzésére is sor került.

Saját vizsgálatok

ANYAG ÉS MÓDSZER

Lovak

A vizsgálatban a következő, többnyire tradicionális magyar lófajták esetében történt az adatfelvételezés: lipicai (Szilvásvárad; $n=65$), nóniusz (Hortobágy; $n=44$), arab telivér, Shagya arab (Bábolna; $n=71$, Toponár; $n=34$) és gidrán (Marócpuszta; $n=31$). A homogén populációk kiválóan képviselik az egyes főszíneket (szürke, pej, fekete, sárga).

Színmérés

A színek szubjektív módon történő osztályba sorolása 12 csoport alapján történt: 1 (szürke); 2 (világos szürke); 3-4-5 (gyengén, közepesen, erősen szeplős szürke); 6 (almázott szürke); 7 (sötét szürke); 8 (sárga); 9 (világos pej); 10 (sötét pej); 11 (nyári fekete); 12 (fekete). A szőrzet színének kvantitatív megközelítése, objektív mérése Minolta Chromameter CR 210-es típusú készülékkel történt. Az L^* (lightness) érték 0-100-ig terjedő skálán a szín világságát fejezi ki, ahol a 100 a fehéret, míg a 0 a fekete színt jelöli. Az a^* a szín kék-sárga, míg a b^* érték a piros-zöld összetevőinek telítettségére utal, +60-tól -60-ig terjedő skálán. Minden egyed esetében 4 testtájon (nyak, lapocka, has, far) történt a színfelvételezés. A négy testtájék értékeiből képzett főátlag összehasonlításra került a kémiai vizsgálatok eredményeivel, illetve a szubjektív szín csoportokkal.

A szőr melanin tartalmának meghatározása

A szőrszálban található melanin mennyiségének becslése – színosztályonként történő véletlenszerű kiválasztás során – 60 minta alapján történt. A szőrmintákat Soluene-350:víz=9:1 arányú elegyben

oldottuk fel, majd forró vízfürdőben tartottuk 45 percig. Ozeki és mtsai (1996) kutatási eredményei bebizonyították, hogy 1 mg szőrminta 500 nm-en mért abszorbancia értéke (A₅₀₀ érték) megfelel a szőr teljes eu- és pheomelanin tartalmának, míg a A₅₀₀/A₆₅₀ hányados az eumelanin/összmelanin hányados értékét adja meg.

Statisztikai elemzés

A következő statisztikai modellek az egyes színosztályok és más egyéb fontos tényezők (L*, a*, b* értékeket befolyásoló hatások) közötti interakciók tesztelésére alkalmasak.

- Y_{ijklm} = L* átlagérték az egyes testtájakra vetítve
- μ = főátlag
- ÉLETKOR_m = életkor, mint kovariáns
- IVAR_i = ivar (i=hímivar, nőivar)
- GENOTÍPUS_j = a szürke lokuszra nézve, az egyes egyedek csoportosítása genotípus szerint (Sölkner és Curik, személyes közlés) (j=feltehetően homozigóta, vagy heterozigóta), mint fix hatás
 - feltehetően heterozigóta (Gg) az állat, ha egy szülője, vagy ivadéka szürkétől eltérő színű (fekete, pej, sárga)
 - feltehetően homozigóta (GG), ha ivadécai szürkék, és mindkét szülője homozigóta szürke
- FAJTA_k = fajta hatása (k=5)
- SZÍNOSZTÁLY_l = szubjektív rendszerezés hatása
- e_{ijklm} = véletlen hiba

Minden egyéb kölcsönhatás nem mutatott számottevő szignifikáns különbséget, így a modell felépítésében nem szerepelnek.

Az L*, a* és b* értékeknek a szőr melanintartalmával való összefüggéseit korreláció analízissel elemeztük. Diszkriminancia analízissel a szubjektív színosztályok lehetséges hibáinak kimutatása volt a cél. A statisztikai értékelés és grafikus ábrázolás PROC GLM, STEPDISC, DISCRIM, CLUSTER és TREE modulal

Modell 1. A szürke populációkban felmerülő interakciók tesztelése

$$Y_{ijklm} = \mu + b_1 \text{ÉLETKOR}_m + b_2 \text{ÉLETKOR}_m^2 + b_3 \text{ÉLETKOR}_m^3 + \text{IVAR}_i + \text{GENOTÍPUS}_j + \text{FAJTA}_k + \text{SZÍNOSZTÁLY}_l + (\text{FAJTA} \times \text{SZÍNOSZTÁLY})_{kl} + (\text{IVAR} \times \text{SZÍNOSZTÁLY})_{il} + e_{ijklm}$$

Modell 2. Az ivar és a szín osztályok közötti interakciók tesztelése az összes fajta esetében

$$Y_{ijklm} = \mu + b_1 \text{ÉLETKOR}_m + b_2 \text{ÉLETKOR}_m^2 + b_3 \text{ÉLETKOR}_m^3 + \text{IVAR}_i + \text{SZÍNOSZTÁLY}_l + (\text{IVAR} \times \text{SZÍNOSZTÁLY})_{il} + e_{ijklm}$$

történt (SAS Institute Inc., 1999-2001).

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Az egyes fajták esetében mért L*, a* és b* értékeket az 1. táblázat tartalmazza. A szürke populációk tekintetében a legmagasabb L* értéket a lipicai lovaknál lehetett megfigyelni (L*=67,37±8,49).

1. táblázat

Leíró statisztika az egyes ménesekben mért L*, a*, b* színértékekre vonatkozóan

Ménés(1)	Fajta(2)	Szín(3)	N	L*	a*	b*
				Átlag±SD(4)		
SZ	lipicai(5)	szürke(10)	65	67,37±8,49	0,77±0,58	7,92±3,06
B	Shagya arab(6)	szürke(10)	48	60,83±13,73	1,76±1,24	6,85±2,45
	arab telivér(7)	szürke(10)	31	63,11±7,42	1,56±0,87	7,57±2,52
T	Shagya arab(6)	szürke(10)	34	63,80±14,23	0,79±1,31	5,96±2,11
M	gidrán(8)	sárga(11)	31	32,77±5,00	7,98±1,47	12,88±3,64
H	nónius(9)	pej(12)	21	28,37±5,36	6,41±2,59	9,54±4,55
		fekete(13)	23	23,27±3,51	2,45±1,50	3,00±1,43

Rövidítések: SZ: Szilvásvárad; B: Bábólna; T: Toponár; M: Marócpusztá; H: Hortobágy(14)

Table 1: Descriptive statistic for L*, a*, b* colour measurements in each stud

Stud(1), Breed(2), Colour(3), Mean±SD(4), Lipizzan(5), Shagya Arabian(6), Arabian Pure Bred(7), Gidran(8), Nonius(9), Grey(10), Chestnut(11), Bay(12), Black(13), Abbreviations: SZ: Szilvásvárad; B: Bábólna; T: Toponár; M: Marócpusztá; H: Hortobágy(14)

A kültakaró színét befolyásoló, nem genetikai eredetű tényezők kölcsönhatásait a 2. táblázat szemlélteti. A szürke lovaknál az életkor előrehaladtával egyenes arányban egy ún. öszülési folyamat figyelhető meg, így az életkor az egyik legfontosabb komponens a modellben. Az egyes fajták esetében, az életkor hatását lineáris, másod- és harmadfokú regressziós együtthatóként teszteltük. A

két tényező közötti kapcsolatot az 1. ábra mutatja. Az életkor*életkor*életkor interakció P értéke=0,0223 indokolta a harmadfokú regressziós együttható helyét a modellben. Hasonló következtetés vonható le a színosztály; fajta*ivar interakció vizsgálatánál is, amely mind a szürke, mind az egyéb színű lovak esetében szignifikáns eltérést mutatott.

Az ANOVA táblázat eredményei

	Modell 1(1)			Modell 2(2)		
	DF	F érték(3)	P	DF	F érték(3)	P
Életkor(4)	1	7,78	0,006	1	6,21	0,013
Életkor*Életkor(5)	1	5,87	0,016	1	4,57	0,034
Életkor*Életkor*Életkor(6)	1	5,35	0,022	1	3,60	0,059
Ivar(7)	1	17,27	0,000	1	7,52	0,006
Fajta(8)	2	4,66	0,011	-	-	-
Színsztály(9)	5	27,61	0,000	10	33,90	0,000
Fajta*Színsztály(10)	10	2,11	0,028	-	-	-
Ivar*Színsztály(11)	5	2,40	0,040	8	2,30	0,023

Table 2: Results of the ANOVA table

Model 1(1), Model 2(2), F value(3), Age(4), Age*Age(5), Age*Age*Age(6), Sex(7), Breed(8), Colour class(9), Breed*Colour class(10), Sex*Colour class(11)

1. ábra: Az egyedek életkora és az L* érték közötti összefüggés

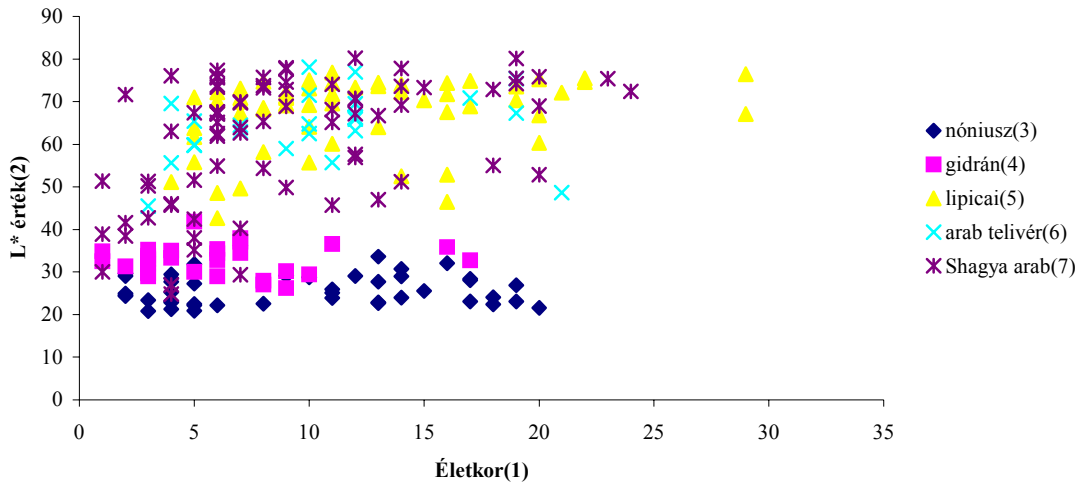


Figure 1: Scatter plot for age of horses and average L* value

Age at measurements(1), L* value(2), Nonius(3), Gidrán(4), Lipizzan(5), Arabian Pure Bred(6), Shagya Arabian(7)

A különböző színsztályok és az L*, a*, b* változók kapcsolatának grafikus ábrázolását a 2-4. ábra szemlélteti. Az eredmény megfelel az előzetes becsléseknek, így az osztályok és az L* a*

színértékek között szoros ($R^2=0,88$ és $0,46$), míg a b* érték esetében gyengébb $R^2=0,22$ ($p<0,001$) összefüggés áll fent.

2. ábra: A szubjektív színcsoportosítás és az L* érték összefüggése

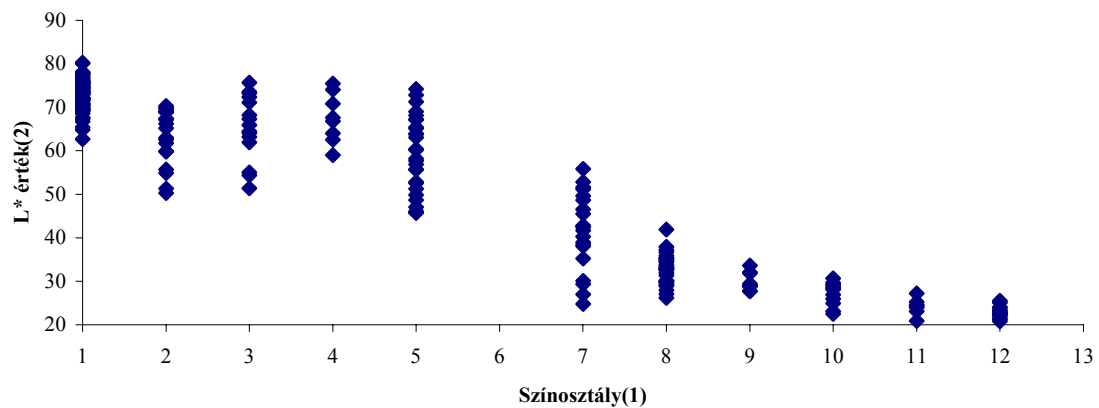


Figure 2: Relationship between subjective colour classes and L*

Colour class(1), L* value(2)

3. ábra: A szubjektív színsoportosítás és az a* érték összefüggése

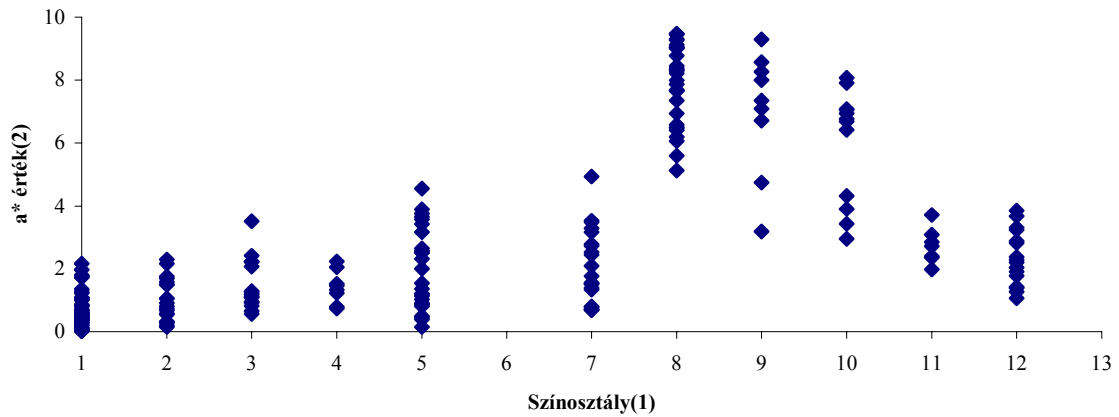


Figure 3: Relationship between subjective colour classes and a*
Colour class(1), a* value(2)

4. ábra: A szubjektív színosztályozás és a b* érték összefüggése

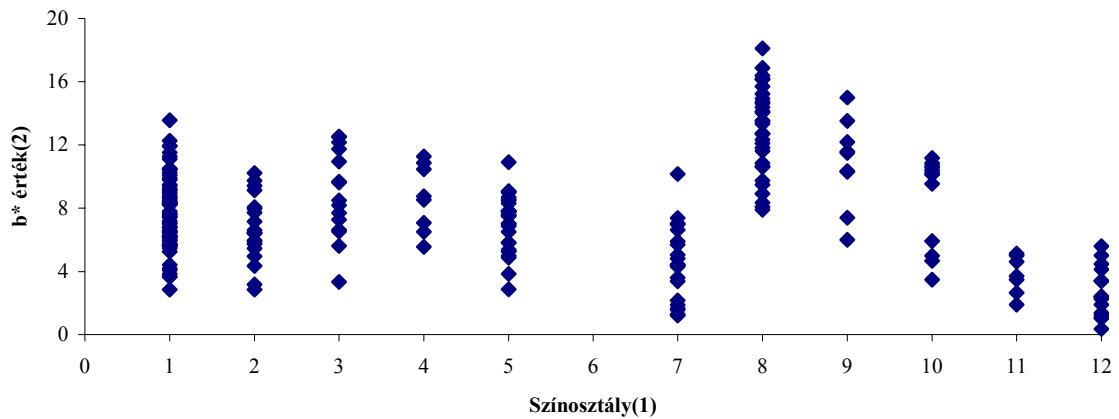


Figure 4: Relationship between subjective colour classes and b*
Colour class(1), b* value(2)

A korreláció analízis során kiderült, hogy az L* érték az egyedüli biológiai komponens, mely a teljes melanin tartalommal, és az eumelanin/teljes melanin

hányadossal legszorosabb kapcsolatot mutat. A két tulajdonság közötti Pearson korrelációs koefficiens értékei a 3. táblázatban szerepelnek.

3. táblázat

Korreláció a szürkeség szintje (L* főátlag) és a szőr pigmentáltsága között szürke és egyéb színű lovak esetében

L* érték(3)	Összmelanin tartalom(1)		Eumelanin/összmelanin hányados(2)	
	r	P érték(6)	r	P érték(6)
Szürke egyedek(4)	-0,714	0,000	-0,821	0,000
Szürkétől eltérő színű egyedek(5)	-0,863	0,000	0,370	0,046

Table 3: Correlations between grey level (mean L* value) and pigmentation for grey and non-grey horses
Total melanin content(1), Eumelanin/total melanin ratio(2), L* value(3), Grey horses(4), Non grey horses(5), P value(6)

Lépcsőzetes diszkriminancia analízis segítségével meghatározhatóvá vált az egyes színérték változók (L*, a*, b* értékek a 4 testtájra vonatkozóan) fontossági sorrendje. Az F értékek és a kapcsolódó P értékek a 4. táblázatban láthatóak. Az eredmények azt mutatják, hogy a színosztályok elkülönítésében

10 változónak van szerepe. A szubjektív – vizuális úton helyes osztályba sorolt egyedek arányát az 5. táblázat mutatja.

A mátrix kedvezőbb vizuális megjelenítése érdekében az egyes színsoportok elkülönülését dendrogram segítségével ábrázoltuk (5. ábra).

Lépcsőzetes diszkriminancia analízis az egyes testtájakon mért L*, a*, b* értékekre vonatkozóan

Színérték(1)	F érték(2)	P érték(3)
L* 1 (nyak)(4)	248,47	0,0000
a* 1 (nyak)(5)	65,63	0,0000
a* 3 (has)(6)	19,48	0,0000
L* 4 (far)(7)	11,79	0,0000
a* 2 (lapocka)(8)	3,71	0,0001
L* 2 (lapocka)(9)	3,08	0,0011
a* 4 (has)(10)	3,02	0,0014
b* 2 (lapocka)(11)	2,13	0,0235
b* 3 (has)(12)	2,65	0,0046
b* 4 (far)(13)	2,47	0,0081

Table 4: Step-wise discriminant analysis for L*, a*, b* with corresponding body parts
Entered variable(1), F value(2), P value(3), L*_1 (neck)(4), a*_1 (neck)(5), a*_3 (belly)(6), L*_4 (croup)(7), a*_2 (shoulder)(8), L*_2 (shoulder)(9), a*_4 (belly)(10), b*_2 (shoulder)(11), b*_3 (belly)(12), b*_4 (croup)(13)

Helyesen osztályozott megfigyelések aránya

	Szubjektív színcsoportok(1)										
	1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12
Arány(2)	0,92	0,55	0,33	0,12	0,57	0,71	1,00	0,44	0,58	0,57	0,93

Table 5: Proportion of correctly classified observations
Subjective colour classes(1), Proportion(2)

5. ábra: Az egyes színcsoportok elkülönülését ábrázoló dendrogram

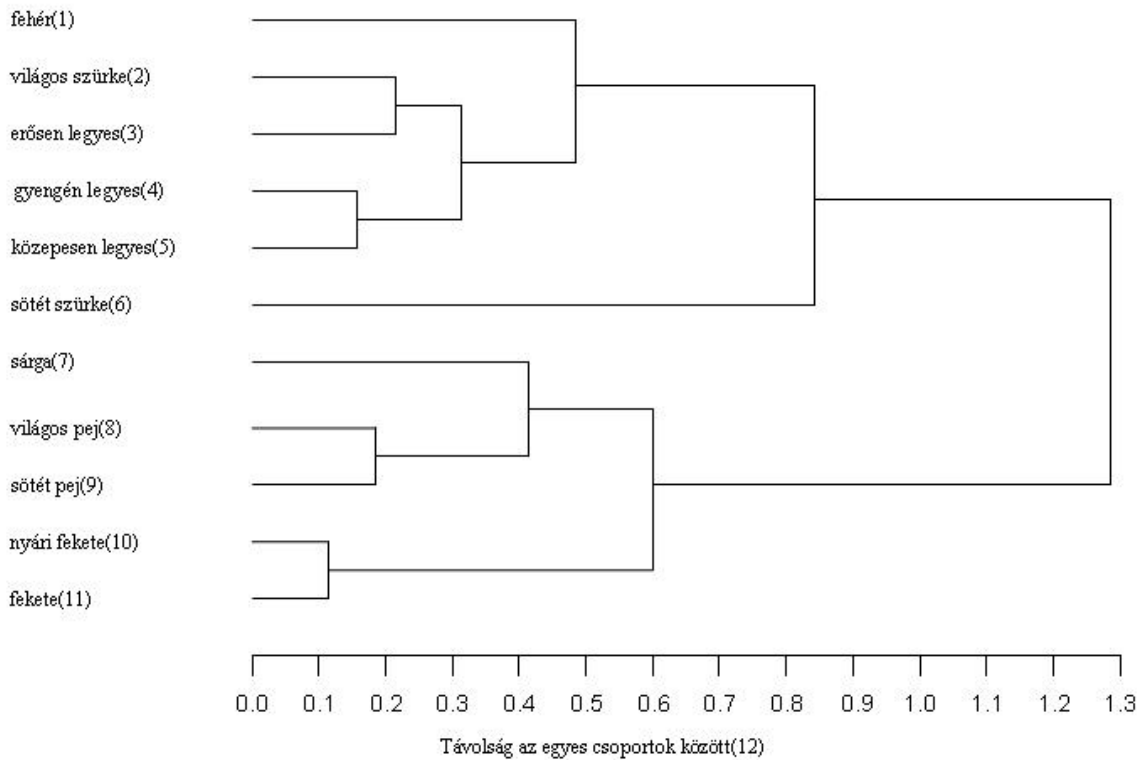


Figure 5: Dendrogram describing the relationship between color classes
White(1), Light grey(2), Heavily flea bitten(3), Light flea bitten(4), Middle flea bitten(5), Dark grey(6), Chestnut(7), Bay(8), Brown(9), Dark brown(10), Black(11), Distances between clusters(12)

IRODALOM

- Alaluf, S.-Atkins, D.-Barrett, K.-Blount, M.-Carter, N.-Heath, A. (2002): The Impact of Epidermal Melanin on Objective Measurements of Human Skin Colour. *Pigm. Cell Res.* 15. 119-126.
- Bowling, A. T. (2000): The genetics of the Horse. (Editors: Bowling, A. T.-Ruvinsky, A.) CAB International, Oxon, UK, 53-70.
- Cecchi, T.-Cozzali, C.-Passamonti, P.-Ceccarelli, P.-Pucciarelli, F.-Gargiulo, A. M.-Frank, E. N.-Renieri, C. (2004): Melanins and Melanosomes from Lama (*Lama glama* L). *Pigm. Cell. Res.* 17. 1-5.
- Curik, I.-Seltenhammer, M.-Sölkner, J. (2002): Quantitative genetic analysis of melanoma and grey level in Lipizzan horses. Seventh World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Le Corum, Montpellier-France, August 19-23, 2002
- Ito, S.-Wakamatsu, K. (2003): Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: A comparative review. *Pigm. Cell. Res.* 16. 5. 523-531.
- Lauvergne, J. J.-Silvestrelli, M.-Langlois, B.-Renieri, C.-Poirel, D.-Antaldi, G. G. V. (1991): A new scheme for describing horse coat colour. *Livestock Production Science*, 27. 219-229.
- Naysmith, L.-Waterston, K.-Ha, T.-Flanagan, N.-Bisset, Y.-Ray, A.-Kazumasa, W.-Ito, S.-Rees, J. (2004): Quantitative Measures of the Effect of the Melanocortin 1 Receptor on Human Pigmentary Status. *Journal Invest. Dermatology*, 122. 423-428.
- Ozeki, H.-Ito, S.-Wakamatsu, K.-Thody, A. J. (1996): Spectrophotometric Characterization of Eumelanin and Pheomelanin in Hair. *Pigm. Cell. Res.* 9. 265-270.
- Zöldág L.-Gáspárdy A.-Eszes F. (2003): A lószínekről az újabb genetikai ismeretek tükrében. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 12. 707-720.
- SAS Institute Inc. (1999-2001) SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 8.02. Cary NC, USA