

DEBRECENI EGYETEM
AGRÁRTUDOMÁNYI CENTRUM
MEZŐGAZDASÁGTUDOMÁNYI KAR
ÁLLATTENYÉSZTÉSTUDOMÁNYI TANSZÉK

ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola Vezető: Dr. Kovács András MTA doktora

Témavezető:

Dr. Bodó Imre
egyetemi tanár, DSc

„DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI”

**A LOVAK SZÍNÉNEK VIZSGÁLATA KVANTITATÍV GENETIKAI
MÓDSZEREKKEL**

Készítette:

Tóth Zsuzsanna
doktorjelölt

Debrecen
2006

I. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI

A fenotípusos megjelenést tekintve, a kültakaró színeződése jelentős szereppel bír az egyes állatfajok evolúciós folyamatában. A vadállatok kültakarójának színe adott fajon belül általában megegyezik, míg a háziállatok esetében számos különféle színváltozat fordul elő. A természetes szelekciónak, illetve az emberi elvárásoknak megfelelően az egyes színváltozatok száma nagymértékben megnövekedett, így a háziállatok megfelelő kutatási alapnak bizonyulnak egyes – a pigmentációért felelős - gének működési, illetve szabályozási folyamatának tanulmányozásában.

A szín, mint egyedi küllemi bélyeg, egyes esetekben egyértelmű fajtajelleg, fontos szerepet játszik a lótenyésztésben és a lovassportok területén. Napjainkban a színöröklődés mechanizmusának kutatása nagy jelentőséggel bír. Az esztétikai szempontok előtérbe kerülésével bizonyos lószínek magas forgalmi értéket képviselnek. Továbbá a színöröklődés ismerete egyaránt alkalmazható az egyedazonosítás és a származás-ellenőrzés területén is.

A lovak kültakarójának színét 6-8 génhelyen található génpár határozza meg, amelyek öröklésmenetét, intra- és interlokális (episztatikus) kölcsönhatásait molekuláris genetikai módszerekkel gyakorlatilag feltárták. Az egyes alapszíneken belül számos színváltozat, árnyalat és állapot figyelhető meg, amelyek kifejeződése több gén együttes hatására, vagy az egyedekben eltérő mértékben jelentkező génexpresszióra utal. Az allélek közötti kölcsönhatások miatt egyes színek háttérben maradnak, mások erősen megmutatkoznak, vagy valamilyen formában módosulnak, fölhígulnak, kivilágosodnak, fakóvá válnak. Adott esetben a környezet is hatással lehet a színekre, illetve színárnyalatokra (ZÖLDÁG et al., 2003).

A szín kategoriális tulajdonságként való kezelése, a szubjektív megítélésből eredően számos félreértésre ad lehetőséget, amelyek a kromaméter használatával kiküszöbölhetőek. A szín méréséhez jelen esetben használt, három koordinátát megjelenítő kromaméter CIE L^* a^* b^* (Commission International d'Eclairage) rendszerének segítségével a szín intenzitása és telítettsége egyaránt mérhető. CURIK et al. (2002) eredményei elsőként bizonyítják, hogy a módszer lehetővé teszi a lovak színének számszerűsítését, ezáltal számos biológiai folyamat (pl. öröklődés, pigmentáció) kvantitatív szempontból történő vizsgálatát.

Kvalitatív és kvantitatív szempontokat egyaránt figyelembe véve elmondható, hogy a fenotípusos variabilitást kialakító pigmentációs folyamatok biokémiai és genetikai háttere rendkívül összetett.

Ellentétben az általános felfogással, amely szerint a szőrzet színének kialakításában kizárólag a nagyhatású géneknek van szerepe, a poligénes komponens és a környezeti faktorok hatása egyaránt számottevő. Az emlősállatok evolúciós folyamata erre kitűnő példa, hiszen a környezeti feltételekhez való adaptálódás során a kültakaró színét elsősorban a nagyhatású gének alakították ki. Ez a folyamat hosszú idősíkon értelmezhető. A ma tapasztalható nagymérvű fenotípusos variabilitás viszont egyértelműen a poligénes hatások jelentőségét igazolja.

Napjainkban a kültakaró színéhez kapcsolódó kutatások javarészt a molekuláris genetika tudományterületén elért fejlesztéseket igyekeznek felhasználni, viszont egyre több a kvantitatív genetikai háttérrel foglalkozó ismeretanyag is. Az objektív méréseken alapuló vizsgálatok lehetővé teszi olyan új ismeretek közlését, amelyek a faktoriális genetika tárgykörében bővelkedő szakirodalom szerves kiegészítésül szolgálnak.

A jelen dolgozat célkitűzései között olyan kutatások kivitelezése szerepel, amelyek eredményeihez a fejlett molekuláris genetika információit, illetve a statisztika tudományterületén alkalmazott módszereket illesztve, olyan új perspektívák nyílnak meg, amelyek hozzájárulnak a kültakaró színöröklődésének pontos és világos értelmezéséhez.

II. A KUTATÁS CÉLKITŰZÉSEI

Három évig tartó (2003-2005) kutatómunkánkban a lovak színének kvantitatív genetikai módszerekkel történő elemzését végeztük el. Kivételt képez ezalól a lovak ősülési folyamára irányuló kutatás, amely négyéves időtartam (2001-2004) eredményeit közli. Ez a vizsgálat egy külföldi kutatócsoport munkájába történő bekapcsolódás révén került kivitelezésre. Kutatómunkánkat hazai (Szilvásvárad, Marócpusztá, Toponár, Debrecen, Hortobágy és Bábolna) és külföldi (Piber, Djakovo, Kistapolcsány és Lipica) ménesekben végeztük.

A dolgozat célkitűzéseinek négy fő területe az alábbiakban foglalható össze:

1. A szürke lovakra jellemző progresszív ősülési folyamat vizsgálata:

- a lovak ősülési folyamatának biológiai háttere.

2. A szőrszál melanintartalmának vizsgálata:

- az összmelanintartalom spektrofotométeres meghatározása,
- az összmelanintartalom és a színértékek közötti összefüggés elemzése.

3. A műszeres színmérés és a szubjektív osztályozás összefüggéseinek elemzése:

- az egyes színosztályok objektív elkülönítése,
- a színérték változók jelentősége,
- a főszínek alapján történő színosztályozás vizsgálata.

4. A kültakaró színét befolyásoló környezeti és genetikai hatások vizsgálata:

- a kültakaró színét befolyásoló környezeti hatások vizsgálata,
- a kültakaró színét befolyásoló genetikai hatások vizsgálata,
 - a szín kialakításában szerepet játszó nagyhatású gének, illetve a poligén öröklés menet kérdésének elemzése.

III. A KUTATÁS MÓDSZEREI

Az őszülési folyamat vizsgálatára kizárólag szürke lipicai fajtájú lovak esetében került sor. A lovak (n=706) kültakarójára vonatkozóan négyéves időtartam alatt (2001-2004), öt állami ménesben ismételten végeztünk méréseket (1. táblázat).

1. táblázat.

A vizsgálat helyszínéül szolgáló lipicai ménesek és a mért lovak száma

Ország	Ménés	Ló
Horvátország	Djakovo	89
Ausztria	Piber	310
Magyarország	Szilvásvárad	77
Szlovákia	Kistapolcsány	82
Szlovénia	Lipica	148
Összesen		706

A kültakaró színének számszerűsítéséhez Minolta Chromameter (típus: CR-210) készüléket használtunk. Az őszülés dinamikájának meghatározására nem lineáris regresszió vizsgálatot alkalmaztunk. Hat különböző növekedési függvény (2. táblázat) illesztésével, az egyes korcsoportok átlag értékeit és az egyedi eredményeket ábrázoltam.

2. táblázat.

Az őszülés jellemzésére alkalmazott növekedési függvények

Függvény	Képlet
Általános növekedési	$\text{Őszülés} = a \cdot (1 - \exp(-k \cdot \text{életkor})/s)^{**}s$
Brody	$\text{Őszülés} = a \cdot (1 - s \cdot \exp(-k \cdot \text{életkor}))$
Logisztikai	$\text{Őszülés} = a / (1 + s \cdot \exp(-k \cdot \text{életkor}))$
Gompertz	$\text{Őszülés} = a \cdot \exp(-\exp(-k \cdot \text{életkor}))$
Bertalanffy	$\text{Őszülés} = a \cdot (1 - (\exp(-k \cdot \text{életkor})/3))^{**}3$
Richards	$\text{Őszülés} = a / ((1 + s \cdot \exp(-k \cdot \text{életkor}))^{**}m)$

a = aszimptóta, s = alaki változó, k = növekedési hányados, m = az inflexiós pont viszonylagos helyzetére utaló paraméter

A lovak színöröklődésének, a kültakaró színét befolyásoló környezeti és genetikai hatások tanulmányozásához, illetve a spektrofotométeres vizsgálatokhoz a magyar lipicai lovakon kívül más fajtájú, a szürkétől eltérő színű lovak (n = 326) mérési eredményeit dolgoztam fel (3. táblázat). Méréseket 2003-tól 2005-ig terjedő időszakban 5 hazai ménesben végeztem, évente két alkalommal, nyáron és télen.

3. táblázat.

A vizsgálat helyszínéül szolgáló ménesek és a mért lovak száma

Ménés	Fajta	Ló
Bábolna	arab telivér	32
Bábolna	shagya arab	67
Toponár	shagya arab	28
Szilvásvárad	lipicai	81
Marócpusztá	gidrán	40
Debrecen	gidrán	7
Hortobágy	nóniusz	71
Összesen		326

A lovakat kilenc színosztályba soroltuk: világos szürke, legyes, vagy szeplős szürke, sötét szürke, világos sárga, sötét sárga, világos pej, sötét pej, nyári fekete, fekete. Az egyes színek kategorikus besorolásánál három bíráló szubjektív megítélését vettük figyelembe.

A kültakaró színét Minolta Chromameter (típus: CR-310) készülékkel, a ló jobb oldalán, négy testtájon (nyak, lapocka, has, far) mértük. A CIE L* a* b* rendszeren alapuló mérőeszköz segítségével a szín intenzitása és telítettsége egyaránt mérhető. Az L* (világossági érték) tényező egy 0-tól 100-ig terjedő értékskálán a fény intenzitását adja meg. Az a* a szín vörös-zöld telítettségi értékét jelzi egy +60-tól -60-ig terjedő értékskálán, ahol a pozitív értékek a vörös szín intenzitására utalnak. A b* a szín sárga - kék telítettségi értékét jelzi szintén egy +60-tól -60-ig terjedő értékskálán, ahol a pozitív értékek a sárga szín intenzitására utalnak. Az a* és a b* poláris koordinátává való alakításával megkapjuk a Chroma, összes színtelítettségi értéket $C = \left[(a^*)^2 + (b^*)^2 \right]^{1/2}$.

A szőr melanintartalmára vonatkozó vizsgálatainkat OZEKI et al. (1996) módszere szerint GENESYS 2 (Spectronic Instruments) spektrofotométerrel végeztük. A szőr teljes eu-feomelanin mennyiségének meghatározásához a melanint Soluene-350 plus

vízben oldottuk fel. Az oldat 500nm-en (A500/mg) mért abszorpciója információt ad a szőr összes melanin mennyiségére vonatkozóan. Az összmelanintartalom és a színértékek közötti összefüggés elemzése polinomiális regressziós függvények illesztésével történt.

Az objektív mérés és a szubjektív színmegítélés statisztikai összefüggéseinek vizsgálata diszkriminancia analízissel történt. A statisztikai értékelés során STEPDISC, DISCRIM, CLUSTER és TREE műveleteket alkalmaztunk (SAS INSTITUTE, CARY, 1999-2001). Lépcsőzetes diszkriminancia analízis segítségével meghatároztuk az egyes színérték változók (a 4 testtájra vonatkozó L^* , a^* , b^*) fontossági sorrendjét.

Az egyes színértékek (L^* , a^* , b^* és Chroma) variancia komponensei, öröklődhetőségi értékei és ismételhetőségi értékeinek becslését az alábbi egyváltozós egyed modell alapján végeztük. A szürke és a szürkétől eltérő színű egyedek (sárga, pej, fekete) színértékeinek elemzése – az öszülés mértékéből adódó nyilvánvaló eltérés miatt – egymástól külön történt.

A modell:

$$y = X\beta + Z_{1s} + Z_{2b} + Z_{3c} + Z_{4a} + Z_{5p} + e \text{ ahol:}$$

- y az egyes tulajdonságok (L^* , a^* , b^* és Chroma) megfigyelési vektora,
- β jelöli a fix hatások vektorát, amelyek az ivar, mérési évszak, az életkor, mint kovariáns (3-30 éves korig terjedő skála) és életkor * mérési évszak, életkor * ivar kölcsönhatás,
- s jelöli az életkor nem lineáris hatását harmadfokú spline-ok értelmezésével VERBYLA et al. (1999) munkája nyomán,
- b az egyes fajták random (véletlen) vektora (csak szürke egyedek esetében),
- c a színosztályok random (véletlen) vektora (csak szürkétől eltérő színű egyedek esetében),
- a az egyes fajtákon (színosztályokon) belül érvényesülő additív genetikai hatások random (véletlen) vektora,
- p a tartós környezeti hatások random (véletlen) vektora, azonos egyeden ismételt mérések hatása,
- e a változó környezeti hatásokat jelölő hiba vektor, míg a X , Z_1 , Z_2 , Z_3 , Z_4 és Z_5 előfordulási mátrixok a β , s , b , c , a és p és y vektorra vonatkoznak.

Az egyes fajták és színosztályok varianciái, a fajtán és a színosztályokon belüli additív genetikai hatások, a tartós és a változó környezet varianciája a következőképpen írható le: $\mathbf{I}^* \sigma_b^2$, $\mathbf{I}^* \sigma_c^2$, $\mathbf{A}^* \sigma_a^2$, $\mathbf{I}^* \sigma_p^2$ és $\mathbf{I}^* \sigma_e^2$, ahol $\mathbf{A}$ a rokonsági mátrixot, az $\mathbf{I}$ pedig az egységmátrixot jelöli.

A megfigyeléseinket leíró modell fix környezeti hatásokat és véletlen genetikai hatásokat tartalmaz. A fix hatások szignifikancia értékeit SAS/STAT szoftver MIXED műveletével becsültük (SAS INSTITUTE, CARY, 1999-2001).

A fajtán belül az egyes színosztályokra vonatkozó L* a* b* és Chroma átlagértékek becslése a fenti egyedmodell alapján az alábbi képlet segítségével történt: $\mu_{életkor} + c$, ahol $\mu_{életkor}$ a főátlag, c pedig a fajta és a színosztályok kombinációjának a legjobb lineáris, torzítatlan becslésére (BLUP) vonatkozó érték. A vizsgált tulajdonságok variancia komponenseinek becslése az ASREML módszer (GILMOUR et al., 2002) és a VCE 5 (KOVAC – GROENEVELD, 2003) szoftver felhasználásával történt.

Dolgozatomban a következő öröklődhetőségi és ismételhetőségi értékek becslését végeztük el:

1. Fajták közötti öröklődhetőség (h_b^2): a teljes fenotípusos variancia azon hányada, amely az egyes fajták közötti genetikai varianciának tulajdonítható. Ezt az értéket csak a szürke lovak esetében becsültük.

$$h_b^2 = \frac{\sigma_b^2}{\sigma_b^2 + \sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

2. Színosztályok közötti öröklődhetőségi érték (h_c^2): a teljes fenotípusos variancia azon hányada, amely az egyes színosztályok közötti genetikai varianciának tulajdonítható. Ezt a paramétert csak a szürkétől eltérő színű lovak esetében becsültük. Ez az érték a nagyhatású gének szerepét jellemzi.

$$h_c^2 = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_c^2 + \sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

3. Színosztályon vagy fajtán belüli öröklődhetőségi érték (h_a^2): a variancia azon hányadát jellemzi, amely a fajtákon, illetve az egyes színosztályokon belül érvényesülő poligénes hatásnak tulajdonítható. Az érték az egyes fajtákon, vagy színosztályokon belül érvényesülő additív genetikai variancia és a teljes fenotípusos variancia hányadosa.

$$h_a^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

4. Színosztályokon belüli ismételhetőségi érték (r): a variancia azon hányadát jellemzi, amely az adott fajtákon vagy színosztályon belül az azonos lovon, azonos helyen ismételt méréseknek tulajdonítható.

$$r = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_p^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

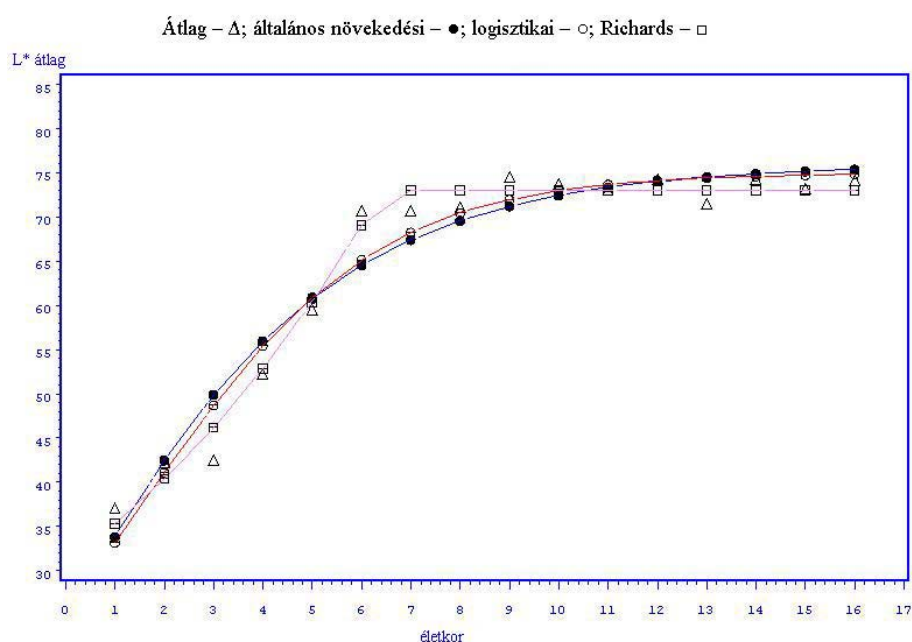
5. Összetett öröklődhetőségi érték (h_t^2): a fajtákra jellemző teljes fenotípusos variancia azon hányada, amely mind a nagyhatású gének, mind pedig a poligénes hatásnak tulajdonítható.

$$h_t^2 = \frac{\sigma_c^2 + \sigma_a^2}{\sigma_c^2 + \sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

IV. AZ ÉRTEKEZÉS FŐBB MEGÁLLAPÍTÁSAI

A szürke lovakra jellemző őszülési folyamat háttérének vizsgálata

A progresszív őszülési folyamat bemutatása növekedési függvények illesztésével történt, amelyek a világossági érték (L^* érték) időben való exponenciális alakulását feltételezik. Az R^2 értékeket figyelembe véve az egyedi, illetve az átlagos világossági értékek tekintetében is egyaránt a Richards féle növekedési függvény volt a legjobban illeszthető. A Richards féle növekedési függvény aszimptotikus értékét egyedi méréseknél az $L^* = 73,34$, míg átlagértékek esetében az $L^* = 73,05$ -nél érte el.

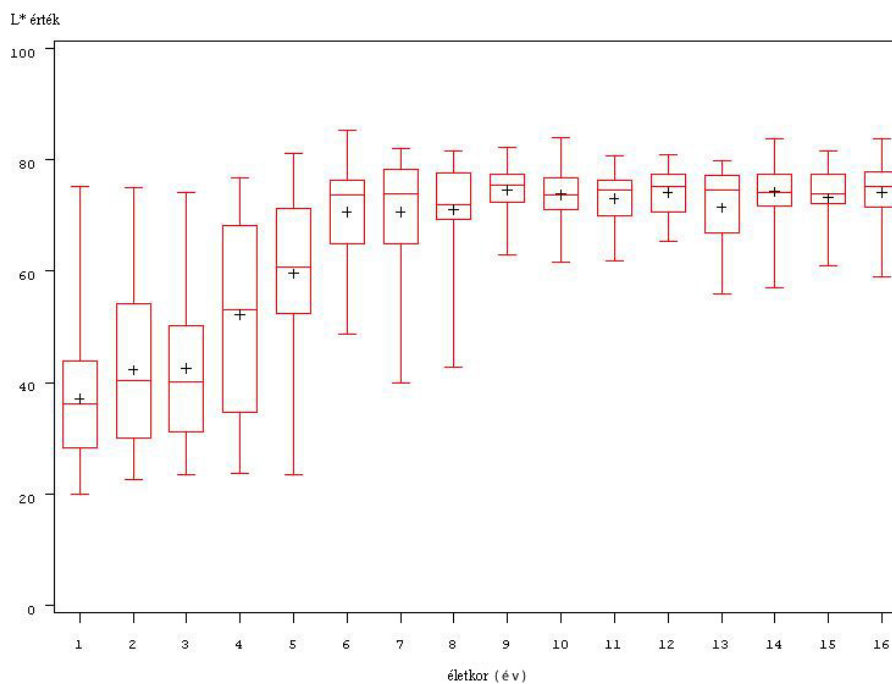


1. ábra. Átlagos világossági értékek (L^* átlag) az életkor függvényében

Az alábbi két ábra a progresszív őszülést modellezi először az átlag világossági értékek (L^*) általános, logisztikai és Richards függvényekkel (1. ábra), majd pedig az egyedi L^* értékek Box plot vizsgálatával (2. ábra). Az őszülés dinamikájának grafikus ábrázolása egyértelműen bizonyítja a fiatal és idősebb egyedek színe közötti különbséget. Az őszülés grafikus ábrázolása rávilágít a fiatal és idősebb egyedek színe közötti különbségre, így az életkor, mint kovariáns tényező fontosságára. Az egyedek végleges színüket 10 éves kor körül érik el. A szín ilyen tekintetben küszöb tulajdonságként értelmezhető.

Mindez feltételezhetően összefüggésben áll a szürke lovak genomjában jelen levő, születéskor és azt követően változó ideig fenotípusosan is látható, változó mértékben kifejeződő háttér génnek hatásaival, ezek homo-, vagy heterozigóta formában való előfordulásával.

2. ábra. Egyedi világossági értékek (L^* érték) az életkor függvényében



Az életkor előrehaladtával jelentkező őszülési folyamat összefüggést mutat a melanomák előfordulásával. SELTENHAMMER (2000) disszertációs téziseiben kihangsúlyozza, hogy az esztétikai szempontoknak alárendelt korai szürkülésre való szelekció helytelen.

A szőrszál melanintartalmának spektrofotométeres meghatározása

A lovak kültakarójának színét alapvetően kétféle pigmentanyag (eumelanin és feomelanin) eloszlása, kiterjedése, hígulása vagy a termelődés hiánya határozza meg (SEARLE, 1968). Jelen esetben az egyes színosztályokba tartozó véletlenszerűen kiválasztott 54 szőrminta melanintartalmára vonatkozó statisztikai jellemzők a 4. táblázatban láthatók. WOOLF et al. (1988) arab telivér lovakon végzett kísérleteik során bebizonyosodott, hogy pl. a pej lovaknál a bőrben található melanociták eumelanint termelnek, míg a szőrben található follikulusokban feomelanin termelődik.

Kísérletünk során a sötétszőrű lovak esetében a mért összmelanintartalom érték 0,20 - 0,38 A500/mg között változott. Ezeknél a lovaknál a fenotípusos megjelenésben a barna és a fekete melanin termelődés is jelentőséggel bír. Argentín láma szőrének spektrofotométeres elemzésénél CECCHI et al. (2004) hasonló eredményekről számolnak be. Vizsgálataik során az 500nm-en (0,46 - 0,19 A500/mg) mért értékek a fekete szőrtől a vöröses barnáig csökkenő tendenciát mutattak.

4. táblázat.

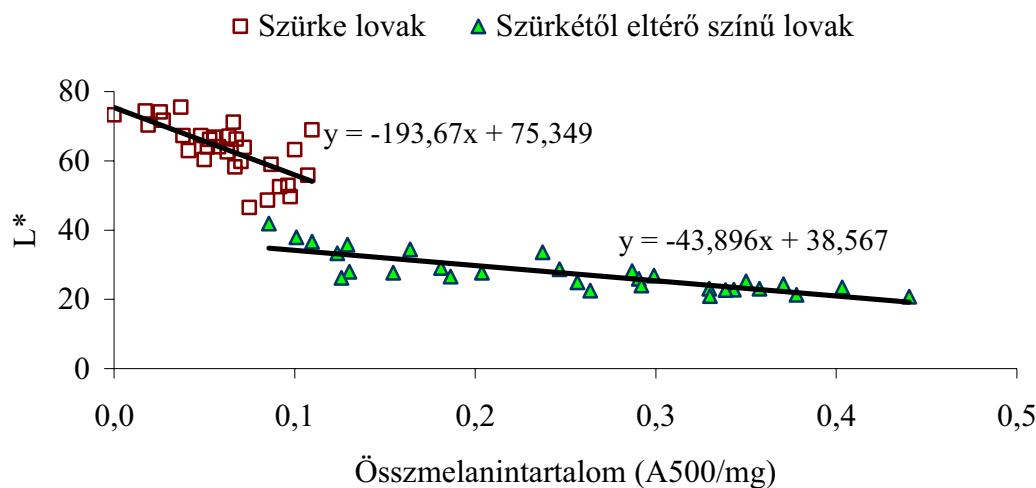
Az egyes színosztályokba tartozó szőrminták (n=54) melanin tartalma

Összmelanintartalom (A500/mg)			
Színosztályok	Minta (db)	Átlag	Szórás
Világos szürke	6	0,00	0,00
Sötét szürke	6	0,09	0,01
Legyes szürke	6	0,06	0,02
Világos sárga	6	0,13	0,02
Sötét sárga	6	0,29	0,03
Világos pej	6	0,20	0,04
Sötét pej	6	0,28	0,02
Nyári fekete	6	0,25	0,02
Fekete	6	0,38	0,05

Az összmelanintartalom és a színértékek összefüggései

Az egyes szőrminták összmelanintartalmának spektrofotométeres meghatározása során szoros összefüggést tapasztaltunk a szőrzet pigmentáltsága és a kültakaró L* értékére vonatkozóan, amely arra utal, hogy több gén együttes hatása befolyásolja a szőr melanintartalmának átörökítését. Az L* érték csökkenésével nőtt az összmelanintartalom, így ez kevesebb világossági és telítettségi együttható értéket képvisel. Mindkét csoport (szürke lovak; egyéb színű lovak) esetében negatív ($p < 0,01$) lineáris kapcsolat áll fenn a lószőr összmelanintartalma és az egyes testtájakon átlag L* értékei között (3. ábra). A szürkétől eltérő színű lovak esetében a pontokat ábrázolva enyhe görbe alakot feltételeztünk. A másodfokú görbe illesztésével viszont nem kaptunk az egyenestől szignifikáns eltérést ($p = 0,07$).

Elsőfokú függvény illesztésével az $R^2=0,67$ volt, míg a modellben a másodfokú komponens hozzáadásával ez az érték mindössze 0,04-el nőtt.



3. ábra. Az összmelanintartalom és az L^* érték alakulása

Összehasonlítva a két csoport egyedeit, szürke lovak esetében ($R^2 = 0,48$) a szürkétől eltérő színű lovakhoz képest ($R^2 = 0,67$) nagyobb variabilitás tapasztalható. Az a^* értéket tekintve szintén negatív ($p < 0,05$) lineáris kapcsolatot állapítottunk meg. Szürke lovak színében nagyobb variabilitás ($R^2 = 0,15$) mutatkozott, míg a szürkétől eltérő színű egyedeknél ez mérsékeltebb ($R^2 = 0,32$). A pigmentáltság szempontjából a b^* érték nem mutatott számottevő összefüggéseket a szürke lovaknál ($R^2 = 0,01$; $p = 0,55$), az egyéb színűeknél ellenben szignifikáns összefüggés volt kimutatható ($R^2 = 0,17$; $p = 0,02$) (6. ábra). Humán pigmentációs kísérletek során SHIVER – PARRA (2000) a fentiekhez hasonló összefüggésekről számolt be.

A műszeres színmérés és a szubjektív osztályozás összefüggései

VALVERDE et al. (1995) és WAGNER et al. (2002) szerint a korábbi tanulmányok szignifikáns értelemben vett korlátait a fenotípus nem egyértelmű meghatározása jelenti. A szín, mint folytonos változó helytelen osztályozása mérsékli a statisztikai becslés pontosságát, így szinte lehetetlen összehasonlító vizsgálatot végezni.

A színérték változók jelentőségét F próbán alapuló STEPDISC művelettel vizsgáltuk. A művelet segítségével az előzetes osztályba sorolásról eldönthető, hogy melyek azok a változók, amelyek a minta elmeinek elkülönülését leginkább alátámasztják. Az eredmények azt mutatják, hogy a színek elkülönítésében a nyakon, a lapockán és a hason mért értékeknek van szerepe.

A szubjektív – vizuális úton hibásan osztályba sorolt egyedek arányát tekintve elmondható, hogy az általunk bizonyos színosztályba besorolt lovak megközelítőleg 65 %-os helyességgel tartoznak az előzetes csoportba. A kilenc színosztály helytelenül csoportosított aránya az 5. táblázatban látható.

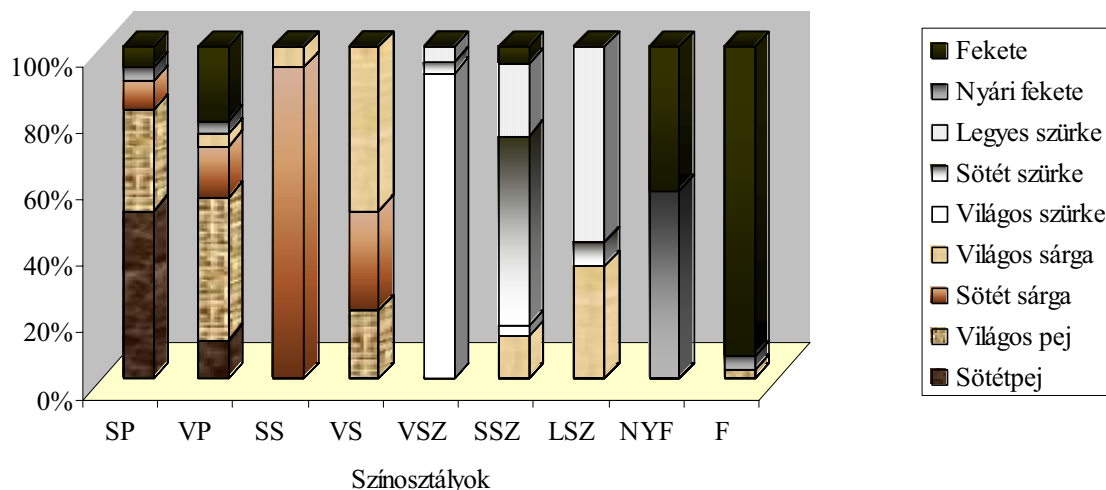
5. táblázat.

A helytelenül csoportosított színosztályok aránya

	Színosztály ^a								
	VSZ	LSZ	SSZ	VS	SS	VP	SP	NYF	F
Előzetes becslés	0,41	0,13	0,09	0,01	0,14	0,07	0,06	0,01	0,07
Arány	0,07	0,41	0,49	0,51	0,06	0,51	0,49	0,44	0,06

^a VSZ = világos szürke; LSZ = legyes szürke; SSZ = sötét szürke; VS = világos sárga; SS = sötét sárga; VP = világos pej; SP = sötét pej; NYF = nyári fekete; F = fekete

A 4. ábrán jól látható, hogy a program által felállított új klaszterek, melyik színosztályokból tevődnek össze. Az általunk meghatározott sötétpej színosztályba a lovaknak mindössze 50,5 %-a lett helyesen besorolva. A klaszter ezen felül 30,43 %-ban tartalmaz még világos pejt, 8,7 %-ban sötét sárgát, 4,35 %-ban nyári feketét és 6,04 %-ban feketét. A legyes szürke osztály 33 %-ban tartalmazza a világos sárga színosztályt. Ez valószínűleg a szürke lovakon testszerte előforduló barna színű pigmentfoltok miatt kialakult fenotípusra vezethető vissza.



4. ábra. Az egyes színosztályok utólagos csoportosítása

SP = sötét pej; VP = világos pej; SS = sötét sárga; SSZ = sötét szürke; NYF = nyári fekete; LSZ = legyes szürke; F = fekete; VS = világos sárga; VSZ = világos szürke

Ezen eredmények ismételt diszkriminancia analízis elvégzését indokolták, az eredeti kilenc színosztálynak a négy főszínre (szürke, sárga, pej, fekete) való tagolásával. Statisztikai értelemben szignifikáns eltérést ($p < 0,001$) tapasztaltunk mind a négy színosztály között. A szubjektív – vizuális úton hibásan osztályba sorolt egyedek arányát tekintve, szürke lovak esetében 6,3 %, sárga lovaknál 3,7 %, pej lovaknál 18,2 %, míg a fekete lovaknál 7,4 %-os értéket tapasztaltunk. Így ez a csoportosítás pontosabb, objektívebb osztályozási módszert biztosít.

A kültakaró színét befolyásoló környezeti és genetikai hatások

Előzetes vizsgálataink során (TÓTH et al., 2004; TÓTH, 2005) fenotípusos modellekkel teszteltük a szőrszín befolyásoló lehetséges környezeti hatásokat. A vizsgálat eredményei szerint az életkor, ivar, szubjektív színosztály és a fajta egyaránt befolyásolja az egyes színárnyalatok, állapotok, változatok megjelenését. Az ivar szerepeltetése az eltérő környezeti hatások révén indokolt. A diszkriminancia analízis eredményei alapján, az elemzés során a négy főszín alkalmazását tartottuk célravezetőnek. A genetikai paraméterbecslés során a statisztikai modell fix hatásai, illetve interakciói közül nem mindegyik bizonyult szignifikánsan eltérőnek de szerepeltetésük gyakorlati szempontból indokolt. Az eredmények igazolják, hogy a kültakaró színének variabilitása összefügg az állatok életkorával, ivarával és befolyásolja a mérési évszak (nyári, vagy téli szőr) is.

Vizsgálataink során, a szürke populációkból származó mének javarészt 10 év felettiek voltak, így az öszülési folyamat végső stádiumában mértük őket. Arab telivér, shagya arab mének kültakarójának átlagértékei magasabbak ($P < 0,05$) voltak a kancák eredményeinél. Lipicaiak esetében hasonló összefüggéseket állapítottunk meg ($P < 0,01$). Szeplős, vagy egyes szürke mén nem fordult elő, amit gyakorlati tapasztalataink szerint az eltérő tartási körülmények indokolhatnak. Egyedül a nóniusz fajtájú mének mutattak szignifikánsan alacsonyabb színértékeket. Gidrán lovaknál szignifikáns eltérés nem volt kimutatható. Általánosan kijelenthető, hogy az ivarnak biológiai értelemben nincsen hatása a színre, esetenként eltérő tenyésztési szempontok alapján történik a kancák és a mének válogatása. A téli szőr, illetve a nyári szőr színértékeire vonatkozóan szignifikáns eltérést állapítottunk az egyes fajták esetében. Kivételt képez ezalól a gidrán.

A genetikai variabilitás elemzésénél, szürke lovaknál az L^* érték esetében tapasztalt variabilitás teljes/vagy nagy hányada a fajtán belüli hatásnak tulajdonítható. Így az egyes vizsgáltba foglalt populációk alapján a szürke szín fajtától függetlennek tekinthető. A gyakorlatban azonban eltérés figyelhető meg az egyes fajták öszülési folyamatában. A vizsgált genetikai paraméterek arra utalnak, hogy jelentős mérvű variabilitás poligénes öröklődés útján adódik át (6. táblázat).

Kétségtelen, hogy magát a szürke színt oligogénes mendeli öröklésmenet alakítja ki, a színért felelős gént a ló 25. kromoszómáján lokalizálták. Azonban a progresszív öszülés, mint folyamat, illetve a szürke szín változatainak vizsgálatakor, és nemcsak egy adott főszín kapcsán figyelembe kell vennünk a háttérgének (AA , Aa , aa , EE , Ee , ee , Gg , GG) szerepét is. PIELBERG et al. (2005) legfrissebb tudományos eredményközlése a ló 25. kromoszómáján 8 SNP jelenlétét bizonyította, ami a színgén esetében több lehetséges allélkombinációt eredményezhet. Jelen esetben ez adta az okot a poligénes háttér valószínűsítésére.

6. táblázat.

Az egyes színértékek genetikai paraméterei szürke lovaknál

Testtáj ¹	h^2_b ²	h^2_a	r	h^2_t
Nyak				
L*	0,00±0,00	0,49±0,17	0,81±0,03	0,49±0,17
a*	0,20±0,18	0,47±0,14	0,63±0,05	0,57±0,15
b*	0,09±0,10	0,21±0,14	0,27±0,06	0,28±0,14
Chroma	0,12±0,12	0,17±0,13	0,24±0,06	0,27±0,15
Lapocka				
L*	0,00±0,00	0,45±0,18	0,87±0,02	0,45±0,18
a*	0,15±0,15	0,48±0,15	0,68±0,04	0,56±0,15
b*	0,05±0,06	0,22±0,06	0,22±0,06	0,26±0,08
Chroma	0,07±0,08	0,20±0,06	0,20±0,06	0,25±0,09
Has				
L*	0,00±0,00	0,49±0,18	0,88±0,02	0,49±0,18
a*	0,09±0,10	0,43±0,14	0,65±0,04	0,47±0,14
b*	0,05±0,07	0,13±0,12	0,36±0,06	0,17±0,13
Chroma	0,07±0,08	0,09±0,11	0,32±0,06	0,15±0,13
Átlag ³				
L*	0,00±0,00	0,49±0,17	0,90±0,01	0,49±0,18
a*	0,16±0,16	0,52±0,15	0,71±0,04	0,60±0,14
b*	0,08±0,09	0,23±0,14	0,34±0,06	0,30±0,14
Chroma	0,11±0,11	0,20±0,13	0,31±0,06	0,29±0,15

¹ L* = világosság, a* = színtelítettség vöröstől a zöldig, b* = színtelítettség sárgától a kékig, Chroma = összes színtelítettség

² h^2_b = fajták közötti öröklődhetőség, h^2_c = színosztályok közötti öröklődhetőség, h^2_a = fajtan belüli öröklődhetőség, r = ismételhetőség, h^2_t = összetett öröklődhetőség

³ Átlag = a három testtáj színértékeinek átlagából számított paraméter

Lipicai populációban CURIK et al. (2002) a melanomák és a világossági érték közötti genetikai összefüggést vizsgálva hasonló következtetésre jutottak. Az L* érték közepes mértékű öröklődhetőségről ($h^2 = 0,46 \pm 0,09$) számoltak be, bizonyítva az öröklődésben szerepet játszó poligénes hatások jelentőségét. Az a*, b* és Chroma esetében a fajtan belüli öröklődhetőség közepes értéket képvisel, viszont a három fajta között szinte semmilyen variabilitás nem tapasztalható. Összehasonlítva az a*-val, a b* és a Chroma esetében alacsonyabb ismételhetőségi értékeket becsültünk, ami az ismételt mérések között, környezeti hatásra fellépő jelentős variabilitást mutatja.

7. táblázat.

Az egyes színértékek genetikai paraméterei szürkétől eltérő színű lovaknál

Testtáj ¹	h^2_c ²	h^2_a	r	h^2_t
Nyak				
L*	0,76±0,19	0,21±0,16	0,38±0,10	0,81±0,15
a*	0,83±0,19	0,00±0,00	0,45±0,09	0,83±0,14
b*	0,80±0,16	0,00±0,00	0,31±0,10	0,80±0,16
Chroma	0,82±0,15	0,00±0,00	0,38±0,10	0,82±0,15
Lapocka				
L*	0,70±0,21	0,00±0,00	0,32±0,10	0,70±0,21
a*	0,80±0,16	0,00±0,00	0,27±0,10	0,80±0,16
b*	0,79±0,17	0,00±0,00	0,30±0,10	0,79±0,17
Chroma	0,80±0,16	0,00±0,00	0,30±0,10	0,80±0,16
Has				
L*	0,72±0,21	0,34±0,22	0,58±0,08	0,81±0,15
a*	0,81±0,16	0,00±0,00	0,42±0,09	0,81±0,16
b*	0,80±0,16	0,05±0,18	0,50±0,08	0,81±0,16
Chroma	0,81±0,15	0,00±0,00	0,50±0,08	0,81±0,15
Átlag ³				
L*	0,80±0,16	0,21±0,20	0,56±0,08	0,84±0,13
a*	0,85±0,13	0,00±0,00	0,45±0,09	0,85±0,13
b*	0,84±0,13	0,00±0,16	0,55±0,08	0,84±0,14
Chroma	0,85±0,13	0,00±0,00	0,54±0,08	0,85±0,13

¹ L* = világosság, a* = színtelítettség vöröstől a zöldig, b* = színtelítettség sárgától a kékig, Chroma = összes színtelítettség

² h^2_c = színosztályok közötti öröklődhetőség, h^2_a = színosztályon belüli öröklődhetőség, r = ismételhetség, h^2_t = összetett öröklődhetőség

³ Átlag: a három testtáj színértékeinek átlagolásából számított paraméter

A szürkétől eltérő színű lovaknál a genetikai variabilitás nagyobb hányada a színosztályok közötti eltérésekből adódott, amely a nagyhatású gének szerepét bizonyítja (7. táblázat). A színosztályok közötti becsült öröklődhetőségi érték 0,70 - 0,80 között volt. Mindemellett az L* -re vonatkozó színosztályon belüli öröklődhetőségi érték (0,21 ± 0,20) a genetikai variabilitás poligénis öröklődésére utal. A kromatikus színértékek esetében a becsült színosztályon belüli öröklődhetőség közel nullával egyenlő, míg a színosztályok közötti érték 0,79 - 0,85 között változott.

A szürke populációnál becsült magasabb ismételhetőségi értékek azt jelzik, hogy a progresszív öszülési folyamatból eredően nagyobb variabilitás tapasztalható a szürke lovaknál, mint a szürkétől eltérő színű lovak esetében.

Röviden összefoglalva megállapítható, hogy ellentétben a szürke egyedekkel a sárga, pej és fekete színű lovaknál az a^* , b^* és Chroma színértékeknel a poligénes hatás kevésbé érvényesül. A genetikai variabilitás a nagyhatású gének által kialakított színosztályokból adódik. A szürke egyedek megjelenésében figyelemreméltó eltéréseket tapasztalhatunk a méneslátogatások során. A genetikai paraméterek becslésénél azért alkalmaztunk mindössze egy színosztályt (szürke), mivel a számos színváltozat, állapot és árnyalat kialakításában résztvevő háttérgének nem pontosan ismertek. Azzal a kérdéssel, vajon a pigmentszemcsék előfordulása, alakja, száma befolyásolja-e (RUSSEL, 1939) az L^* érték által előidézett öröklött variabilitást, nem foglalkoztunk a dolgozatban. A humán pigmentációs kísérletek eredményei arra utalnak, hogy a melanoszómák számában, méretében és elhelyezkedésében az egyedi eltérések mennyiségileg is meghatározhatók (STURM et al., 2001). Nem lenne tehát meglepő, ha ezek a tényezők öröklődő tulajdonságok lennének, és szoros összefüggést mutatnának a vizsgálatban szereplő L^* értékkel. Az a^* , b^* és Chroma esetében a poligénes hatás kevésbé igazolható. A genetikai variabilitás csak a színosztályok között volt mérhető.

V. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A kromaméter a mezőgazdaság és az ipar számos területén való sokoldalú felhasználhatóságán túl, az egyes állatfajok - esetünkben a lovak - szőrszínének, pigmentáltságának megállapításához is megfelelő eszközként szolgál. A szubjektív színosztályozás mellett így a szőrszín számszerűsítése is kivitelezhető, szemben az eddigi kizárólagos kvalitatív értelmezéssel. Az eredmények biometria elemzésekkel történő értékelése lehetővé teszi továbbá olyan új ismeretek közlését, amelyek jelentős mértékben hozzájárulhatnak a helyenként hiányos szakirodalmi forrás bővítéséhez.

A két időben egymást átfedő kutatómunka eredményeiből az alábbi új tudományos eredmények állapíthatók meg:

1. Szürke lipicai lovak esetében az őszülés dinamikájának meghatározása növekedési függvények illesztésével történt. Az egyedi, illetve az átlagos világossági értékek tekintetében is egyaránt a Richards féle növekedési függvény volt a legjobban illeszthető. Vizsgálatainkban az életkor előrehaladtával, 10 éves kor körül érik el a lovak végleges színüket, amelyet nagyfokú **genetikai variabilitás** jellemez. Mindez feltételezhetően összefüggésben áll a szürke lovak genomjában jelen levő, születéskor és azt követően változó ideig fenotípusosan is látható, változó mértékben kifejeződő háttér génnek hatásaival, ezek homo-, vagy heterozigóta formában való előfordulásával.

2. Spektrofotométeres vizsgálatok során a szinte akromatikusnak nevezhető szürke szőrminták esetében csekély de összehasonlítható összmelanintartalmat mértünk. Sötétszőrű lovak esetében a mért **összmelanintartalom** 0,20-0,38 A500/mg között változott. Mindkét csoport (szürke lovak; egyéb színű lovak) esetében negatív ($p < 0,01$) lineáris kapcsolatot állapítottunk meg a lószőr összmelanintartalma és az egyes testtájakon mért átlagos L^* érték között.

3. A **folytonos változóként** kezelt szín helytelen osztályozása mérsékli a statisztikai becslés pontosságát. A műszeres vizsgálatok a **főszínek** alapján történő egyedazonosítás objektivitását bizonyítják, a **szubjektív színosztályok** megjelölésével szemben. A lovak azonosításánál (pl. lóútlevél kiállítása) a színállapokra, árnyalatra vonatkozó elnevezések használata számos hibalehetőséget von maga után, így ezek gyakorlatban történő alkalmazása nem ajánlott.

4. A rövidszőrök alapján gyakran nehezen megkülönböztethető **sárga** és **pej** főszínek rövid szőrei műszeres méréssel egyértelműen **elkülöníthetőek**, mivel a sárgában több a feomelanin által termelt vörös és a sárga színkomponens.

5. **Diszkriminancia analízis** eredményei alapján az egyes színosztályok elkülönítésében a nyakon, a lapockán és a hason mért színértékeknek (L^* , a^* , b^*) van szerepe.

6. A szőrszint befolyásoló hatások statisztikai elemzése során igazolódott, hogy a kültakaró színének variabilitása összefügg az állatok **életkorával**, **ivarával** és befolyásolja a **mérési évszak** (nyári, vagy téli szőr) is.

7. **Szürke lovaknál** a genetikai variabilitás elemzésénél az L^* érték esetében tapasztalt variabilitás teljes/vagy nagy hányada a fajtán belüli hatásnak ($h^2_a = 0,45 - 0,49$) tulajdonítható. Az a^* , b^* és Chroma esetében a fajtán belüli öröklődhetőség közepes értéket képvisel, a három fajta között variabilitás nem tapasztalható. A **szürkétől eltérő színű lovaknál** a világossági érték esetében becsült genetikai variabilitás nagyobb hányada a színosztályok közötti eltérésekből adódott, amely a nagyhatású gének szerepét bizonyítja. A színosztályok közötti öröklődhetőségi érték $0,70 - 0,80$ között változott. Feltételezhetően az alacsony elemszám miatt, a színosztályon belüli öröklődhetőségi érték esetében ($h^2_a = 0,21 - 0,34$) nullától eltérő genetikai variabilitás nem volt kimutatható. Így a poligénes jelleg statisztikai értelemben nem alátámasztott.

VI. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

A ló színe a teljesítménnyel nem függ össze, mégis több szempontból fontos a lovat tenyésztő és használó ember számára. Napjainkban az esztétikai értékek előtérbe kerülésével gazdasági szempontból is jelentős a színöröklődés mechanizmusának kutatása, megértése. Az egyes színek kiváló tenyészértékkel párosulva nagy forgalmi értéket képviselnek.

A disszertáció eredményeiből egyértelműen kiderül, hogy a kültakaró színének mérése számos biológiai folyamat objektív jellemzését teszi lehetővé. A kromaméterrel végzett műszeres vizsgálatok igazolják, hogy a szubjektív színosztályok használata a főszínek alapján történő egyedazonosítással szemben nem célravezető. A lovak azonosításánál (pl. lóútlevél kiállítása) a színállapotra, árnyalatra vonatkozó elnevezések használata számos hibalehetőséget von maga után, így ezek gyakorlatban történő alkalmazása nem ajánlott. Az eredmények és a közölt módszerek olyan egyéb kutatási területen is felhasználhatóak (pl. egyedazonosítás, származás-ellenőrzés, élettani, küllemtani és etológiai megfigyelések), amelyek a szín öröklődéséhez szorosan kapcsolódnak. A legújabb molekuláris genetikai ismeretek, illetve a kvantitatív genetika tudományterületén alkalmazott módszerek összehangolásával, olyan új lehetőségek nyílnak meg előttünk, amelyek hozzájárulnak a színöröklődésnek a hagyományos szemszögtől eltérő értelmezéséhez.

VII. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Lektorált tudományos közlemények

- **Tóth Zs.** – Bodó I. (2003): The phenomenon of greying in horses. Review. „Natural resources and sustainable development " Nemzetközi Tudományos Tanácskozás. Nagyvárad, 2003. 05. 8-9. 93-97. p.
- **Tóth Zs.** – Szőke Sz. – Bodó I. – Sölkner J. (2004): Analysis of the grey level intensity in horses. Debreceni Egyetem Agrártudományi Közlöny, Acta Agraria Debreceniensis, University of Debrecen, Journal of Agricultural Science. 3-7. p.
- Bodó I. – Maróti-A Á. – Mihók S. – **Tóth Zs.** (2004): Achievements of research in the field of Horses. In A review on Development and Research in Livestock Systems. Book of the year 2003. Wageningen Academic Publisher. 231-242. p.
- **Tóth Zs.** (2005): Az egyes lószínek genetikai diverzitása. Debreceni Egyetem Agrártudományi Közlöny, Acta Agraria Debreceniensis, University of Debrecen, Journal of Agricultural Science. 23-27. p.
- **Tóth Zs.** (2005): Relationship between coat color and melanin content of hair in horses. Sustainable Agriculture across borders in Europe Debrecen-Oradea, 2005. 05. 06. 271-274. p.
- **Tóth Zs.** – Kaps M. – Sölkner J. – Bodó I. – Curik I. (2006): Quantitative genetic aspects of coat color in horses. Journal of Animal Science. (in press)

Magyar nyelvű konferenciák

- Gulyás L. – **Tóth Zs.** (2002): A hidegvérű ló tartás alternatívái. Óvári Tudományos Napok, Mosonmagyaróvár, 2002. 11. 10. (poszter)
- Gulyás L. – **Tóth Zs.** – Kovácsné Dr. Gaál K. (2002): Hidegvérű lovak legelőre alapozott tartása. Legeltetési állattartást! Tudományos konferencia, Debrecen, 2002. 11. 10.

- **Tóth Zs.** – Szőke Sz. – Bodó I. – Sölkner J. (2004): A lovaknál előforduló progresszív „szürkületi” folyamat genetikai háttere. Innováció, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agráriumában - Agrárgazdasági modellek a 21. század mezőgazdaságában”. Tudományos konferencia, Debrecen, 2004. 05. 14.
- **Tóth Zs.** – Radácsi A. (2005): Az egyes lószínek kvantitatív megközelítése. XI. ITF konferencia, Keszthely, 2005. 03. 24.
- Radácsi A. – **Tóth Zs.** (2005): Újabb adatok a magyar szürke fajta génmegőrzéséhez XI. ITF konferencia, Keszthely, 2005. 03. 24.
- Tóth Zs. (2005): A lovak színöröklődésének kvantitatív megközelítése. „A jövő tudósai, a vidék jövője”. DAB konferencia, Debrecen, 2005. 11. 18.

Idegen nyelvű konferenciák

- **Tóth Zs.** – Szőke Sz. – Bodó I. – Sölkner J. (2004): Analysis of the grey level in horses. Facultatea De Zootehnie Si Biotehnologii, Timisoara Academic Day. Temesvár, 2004. 05. 22-23.
- **Tóth Zs.** – Bodó I. – Sölkner J. – Curik I. (2004): Genetic diversity of the hair colour in horses. 55th. Annual Meeting of the European Association of Animal Production’. Bled, 2004. 08. 08.
- **Curik I.** – Seltenhammer M. – **Tóth Zs.** – Niebauer G. – Sölkner J. (2004): Quantitative inheritance of the coat greying process in horse. 55th Annual Meeting of the European Association for Animal Production (EAAP), H4.6, Bled, Slovenia. 316. p.
- **Tóth Zs.** – Curik I. – Kaps M. – Sölkner J. – Bodó I. (2004): Genetic diversity of the grey colour in horses. “Biodiversity of horse genetic resources, its characterization and conservation”. Kaunas, 2004. 11. 16-18.

- Bodó I. – Mihók S. – Pataki B. – Posta J. – **Tóth Zs.** (2005): Identification of horses in Hungary. 56th. Annual Meeting of the European Association of Animal Production (EAAP) Uppsala, H6. 3., 2005. 06. 5-8.

Egyéb publikációk

- **Tóth Zs.** (2000): A Kladrobi Nemzeti Ménes. Lovas Nemzet, VI. 12. 6-7. p.
- **Tóth Zs.** (2000): Csehország nemzeti kincse: a kladrobi ló. Lovasélet, V. 9. 24-25. p.
- **Tóth Zs.** (2001): Lajta Kaiser Kupa C.S.I.-C. Lovas Nemzet, VII. 6. 23. p.
- **Tóth Zs.** (2001): Fogathajtás a Felső Dunántúli Régióban. Lovas Nemzet, VIII. 9. 22-23. p.
- **Tóth Zs.** (2001): A kladrobi és a lipicai ló tenyésztése. XXV. OTDK. Sopron
- **Tóth Zs.** (2002): Fríz lovak a nagyvilágban. Lovas Nemzet, VIII. 4. 28. p.
- **Tóth Zs.** (2002): A barokk kor lova a 21. század küszöbén. Agrár Elit Magazin, VI. 11. 4. p.
- Pongrácz L. – **Tóth Zs.** (2002): Császárok lova: (csak) a lipicai? Lovas Nemzet, VIII. 6. 63. p.