

RODOVI LIPICANCEV SLOVENSKE REJE GLEDE NA HAPLOTIP MITOHONDRIJSKE DNK

Tatjana KAVAR ^{a)}+, Franc HABE ^{b)} in Peter DOVČ ^{c)}

^{a)} Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Odd. za zootehniko, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenija.

⁺ Sedaj: Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana, Slovenija, dr., mag.

^{b)} Isti naslov, kot ^{a)}, prof., dr.

^{c)} Isti naslov, kot ^{a)}, prof., dr., e-pošta: peter.dovc@bfro.uni-lj.si.

Delo je prispelo 01. septembra 2004, sprejeto 24. septembra 2004.

Received September 01, 2004, accepted September 24, 2004.

IZVLEČEK

Z analizo mitohondrijske DNK 53 lipicancev slovenske reje smo našli 17 različnih haplotipov mitohondrijske DNK. Deset haplotipov (Capriola, Allegra, Monteaura, Slavina, Batosta, Gratirosa, Wera, Betalka, Dubovina in Gaetana) je bilo značilnih za klasične lipicanske rodove, haplotip Thais za nov slovenski rod Rebecca in haplotipi M, C, Strana, Trompeta, Boka in Y za lipicanske rodove hrvaškega, romunskega ali madžarskega izvora. Visok delež haplotipov, značilnih za klasične rodove, je bil pričakovan, ker so v Sloveniji po letu 1947 želeli obnoviti lipicansko čredo predvsem s klasičnimi rodovi. Rezultati kažejo, da so bili trije klasični rodovi obnovljeni z lipicanci iz napačnih rodov; v teh rodovih imajo lipicanci slovenske reje namreč različne haplotipe kot lipicanci iz drugih evropskih držav. Več kot en haplotip smo našli znotraj štirih rodov, kar kaže na dodatne nepravilnosti v rodovnikih. Predlagamo, da se nepravilnosti odpravijo z uvedbo novih rodov in z manjšimi prerazporeditvami lipicancev med rodovi. Geografski izvor lipicanskih haplotipov ostaja večinoma neznan, toda haplotipa Allegra in Monteaura bi bila lahko španskega izvora, ker so taki haplotipi najbolj pogosti pri iberijskih (andaluzijskih in lusitano konjih) ter severno-afriških konjih (berberih). Kladrubiški izvor haplotipov Batosta in Slavina, ki sta značilna za lipicanska rodova kladrubiškega izvora Africa in Almerina, lahko potrdimo z odkritjem obeh haplotipov pri današnjih kladrubiških konjih; arabski izvor haplotipa Gaetana, ki je značilen za lipicanski rod arabskega izvora Gidrane, pa z visoko pogostostjo haplotipa Gaetana v populaciji arabskih konj.

Ključne besede: konji / pasme / lipicanec / molekularna genetika / mitohondrijska DNK / haplotipi / rodovniki / izvor

MITOCHONDRIAL DNA HAPLOTYPES IN SLOVENIAN LIPIZZAN MARE FAMILIES

ABSTRACT

Sequencing of mitochondrial DNA from 53 Slovenian Lipizzans revealed 17 distinct mtDNA haplotypes: ten haplotypes (Capriola, Allegra, Monteaura, Slavina, Batosta, Gratirosa, Wera, Betalka, Dubovina and Gaetana) were present in classical mare families, haplotype Thais in the new Slovenian mare family Rebecca and haplotypes C, M, Strana, Trompeta, Boka and Y in mare families of Croatian, Romanian or Hungarian origin. We expected large amount of "classical" haplotypes, because after 1947 the Lipizzan breed in Slovenia was re-established using mainly Lipizzans from classical mare families. However, Lipizzans from incorrect mare families were probably used for the recovery of three classical families and therefore in these three families Slovenian Lipizzans had different haplotypes than other European Lipizzans. Additional pedigree errors were detected in four families showing more than one haplotype. We

suggested that pedigree errors should be corrected by introduction of several new mare families and by minor re-distributions of Lipizzans among mare families. Geographical origin of the Lipizzan haplotypes remains uncertain, but haplotypes Allegra and Montaura could be of Spanish origin due to the highest frequency of these haplotypes in Iberian (Andalusian and Lusitano) and North African horses (Barbs). Kladrubian origin of haplotypes Batosta and Slavina, which are characteristic for Lipizzan mare families of Kladrubian origin, Africa and Almerina, could be supported by the presence of both haplotypes in the present Kladrubian horses. The Arabic origin of haplotype Gaetana, which is characteristic for the Lipizzan mare family of Arabic origin, could be supported by the high frequency of the haplotype Gaetana in Arabian horses.

Key words: horses / breeds / Lipizzan horse / molecular genetics / mitochondrial DNA / haplotypes / pedigrees / origin

UVOD

Lipicanci slovenske reje se po rodovniških podatkih, zbranih v Rodovni knjigi lipicancev slovenske reje (Pangos, 1999) uvrščajo v štirinajst klasičnih rodov, v nov slovenski rod Rebecca in v hrvaška rodova Margit in Munja. Z izmenjavami med kobilarnami so iz madžarske kobilarne Szilvasvarad v kobilarno Lipica dobili še lipicance iz rodu S14 Marquese (preglednica 1, stolpec A). Klasični lipicanski rodovi so bili oblikovani v kobilarni Lipica pred II. svetovno vojno. Tam je bil oblikovan tudi nov slovenski rod Rebecca, vendar po II. svetovni vojni, medtem ko so bili hrvaški, madžarski in romunski rodovi oblikovani večinoma v zasebnih ali vojaških kobilarnah v nekdanji Avstro-ogrski (Ouhlela, 1996). Začetnice ali pramatere lipicanskih rodov so bile običajno kraškega, španskega, staro-italijanskega ali arabskega porekla (Dolenc, 1980).

Informacije o rodovih kobil lahko dobimo iz rodovniških podatkov, lahko pa tudi z analizo mitohondrijske DNK. Pri vseh lipicancih iz istega rodu namreč lahko pričakujemo enako nukleotidno zaporedje oz. enak haplotip mitohondrijske DNK, saj se mitohondrijska DNK deduje samo po materi, pogostnost mutacij pa je v relativno kratkih časovnih odsekih, ki jih predstavlja zgodovina kulturnih pasem konj, relativno nizka. Zato lahko predvidevamo, da so začetnice lipicanskih rodov kobil oz. pramatere imele enak haplotip kot ga imajo njihovi potomci po ženski liniji še danes. Zato primeri, ko ugotovimo različne haplotipe pri lipicancih, ki naj bi se po rodovniških podatkih uvrščali v isti rod, kažejo na nepravilnosti v rodovnikih.






V prejšnji raziskavi (Kavar in sod., 2002) smo z analizo 212 lipicancev iz osmih evropskih kobilarn: Lipica (SI), Piber (A), Monterotondo (I), Đakovo (Hr), Szilvasvarad (H), Topolcianky (Sk), Beclean (Ro) in Fagaras (Ro), že opisali 56 lipicanskih rodov kobil s 37 različnimi haplotipi mitohondrijske DNK. S to analizo smo takrat našli tudi 25 napak v rodovnikih lipicancev.

V tej raziskavi smo genetske podatke o lipicancih iz kobilarne Lipica, ki so bili znani že iz prejšnje raziskave, dopolnili še s podatki o lipicancih Združenja rejcev lipicanca Slovenije (ZRLS). Z zbranimi podatki smo želeli ugotoviti:

- kateri haplotipi mitohondrijske DNK so značilni za lipicance slovenske reje,
- od kod bi ti haplotipi lahko izvirali,
- ali genetski podatki potrjujejo rodovniške podatke iz Rodovne knjige lipicancev slovenske reje (Pangos, 1999) in
- ali se po posameznih rodovih haplotipi lipicancev slovenske reje morebiti ne razlikujejo od haplotipov, ki smo jih našli pri lipicancih v drugih evropskih državah.

Preglednica 1. Haplotipi mitohondrijske DNK po rodovih kobil. Stolpec A – Lipicanski rodovi kobil v Sloveniji ter kraj rojstva ali pasma začetnice rodu kobil. Stolpec B – Haplotipi, ugotovljeni pri lipicancih slovenske reje. Stolpec C – Frekvence haplotipov, ugotovljene v prejšnji raziskavi (Kavar in sod., 2002) pri lipicancih iz kobilarn Lipica, Piber, Monterotondo, Đakovo, Szilvasvarad, Topolcianky, Beclean in Fagaras.

Table 1. Mitochondrial DNA haplotypes by mare family. Column A – Lipizzan mare families in Slovenia, including place of birth or breed of the founder mare. Column B – haplotypes found in Slovenian Lipizzans. Column C – Haplotype frequencies in Lipizzans from studs Lipica, Piber, Monterotondo, Đakovo, Szilvasvarad, Topolcianky, Beclean and Fagaras, as detected in our previous study (Kavar *et al.*, 2002).

A	B	C
Klasični rodovi / Classical mare families		
SARDINIA Lipica (SI)	Betalka	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Capriola <input checked="" type="checkbox"/> Betalka <input checked="" type="checkbox"/> Monteaura
SPADIGLA Lipica (SI)	Monteaura	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Monteaura <input checked="" type="checkbox"/> Batosta <input checked="" type="checkbox"/> Dubovina
ARGENTINA Lipica (SI)	Capriola	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Capriola <input checked="" type="checkbox"/> X
AFRICA Kladruby (Cz)	Batosta Boka	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Batosta <input checked="" type="checkbox"/> Monteaura
ALMERINA Kladruby (Cz)	Slavina	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Slavina <input checked="" type="checkbox"/> Allegra
PRESCIANA Kladruby (Cz)	Capriola	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Capriola <input checked="" type="checkbox"/> Allegra <input checked="" type="checkbox"/> Slavina
ENGLANDERIA Kladruby (Cz)	Allegra	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Allegra
EUROPA* Kladruby (Cz)	Trompeta	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> U
STORNELLA Kopčany (Sk)	Allegra	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Capriola <input checked="" type="checkbox"/> Allegra
DEFLORATA Frederiksborg (Dn)	Capriola, Betalka Gaetana	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Capriola Allegra <input checked="" type="checkbox"/> Gaetana
GIDRANE čistokrvna arabka	Gaetana Y Capriola	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Gaetana
DJEBRIN Radautz (Ro)	Dubovina	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Dubovina
MERCURIO Radautz (Ro)	Gratiosa	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Gratiosa
THEODOROSTA Radautz (Ro)	Wera	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Wera <input checked="" type="checkbox"/> Allegra <input checked="" type="checkbox"/> U
Nov slovenski rod / New Slovenian mare family		
REBECCA Vrbik (Hr)	Thais	 <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Thais

nadaljevanje na naslednji strani

A	B	C
Hrvaški rodovi / Croatian mare families		
MARGIT Terezovac (Hr)	C	○ □ D
MUNJA Đakovo (Hr)	Gaetana, Strana	○ □ Gaetana ■ Strana ▣ Slavina
Madžarski rod /Hungarian mare family		
S14 Marquese Mezohegjes (H)	M	○ □ M

*V Rodovni knjigi lipicancev slovenske reje (Pangos, 1999) so lipicanci s haplotipom Trompeta uvrščeni v rod Europa, toda po rodovniških in genetskih podatkih je bila pramater teh lipicancev Triglava, rojena 1916. / Lipizzans with the haplotype Trompeta could be found within the mare family Europa in the Studbook of Slovenian Lipizzans (Pangos, 1999), but according to the pedigree and genetic data, founder mare of these Lipizzans was Triglava (born in 1916).

MATERIAL IN METODE

V okviru projekta Slovenski lipicanec so bili v letih 2001 in 2002, zbrani krvni vzorci lipicancev ZRLS in lipicancev iz kobilarne Lipica. Izmed njih smo načrtno, po rodovniških podatkih, za analizo izbrali 19 vzorcev. Prednostno smo izbirali vzorce lipicancev iz rodov, ki doslej še niso bili analizirani, oz. v rodovih z že analiziranimi vzorci, vzorce iz bolj oddaljenih vej. Izbrani vzorci naj bi v kombinaciji s 35 vzorci lipicancev slovenske reje, analiziranimi v prejšnjih raziskavah (Kavar in sod., 1999, 2002), enakomerno pokrili vse lipicanske rodove v Sloveniji.

Po že opisanih protokolih (Kavar *in sod.*, 2002) smo pomnožili kontrolno regijo mitohondrijske DNK z verižno reakcijo s polimerazo (PCR). Pomnožene fragmente DNK smo uporabili za določitev nukleotidnega zaporedja z avtomatskim sekvenatorjem ABI Prism 310 (Applied Biosystems). Nukleotidna zaporedja smo poravnali z referenčnim zaporedjem GenBank X79547 (Xu in Arnason, 1994) ter s 37 že znanimi haplotipi lipicancev (Kavar in sod., 1999, 2002). Genetske razdalje smo ocenili po Kimura dvo-parametrski metodi s programom Phylip (Felsenstein, 1993). Z istim programom smo po metodi »združevanja sosedov« konstruirali NJ drevo. Za grafično predstavitev drevesa smo uporabili program TreeView (Page, 1998).

REZULTATI IN RAZPRAVA

Haplotipi

Z analizo mitohondrijske DNK lipicancev slovenske reje smo našli 17 različnih haplotipov. Polimorfna mesta predstavljamo v preglednici 2, nukleotidna zaporedja pa so na voljo v bazi GenBank. Haplotipe smo poimenovali z imeni lipicancev (npr. Allegra, Capriola, Monteaura) ali s črkami (A, B, C, ...). Vsi razen dveh (haplotipa Boka in Y) so bili pri lipicancih ugotovljeni že v prejšnjih raziskavah (Kavar in sod., 1999; Kavar in sod., 2002).

Preglednica 2. Polimorfna mesta v kontrolni regiji mtDNA (nt 15450-15834, nt 16351-16660) za 17 haplotipov lipicancev slovenske reje.

Table 2. Polymorphic sites within the mtDNA control region (nt 15450-15834 and nt 16351-16660) for 17 haplotypes of Slovenian Lipizzans.

Haplotip	15494	15495	15496	15510	15526	15534	15538	15540	15542	15543	15544	15545	15546	15547	15548	15549	15550	15551	15552	15553	15554	15555	15556	15557	15558	15559	15560	15561	15562	15563	15564	15565	15566	15567	15568	15569	15570	15571	15572	15573	15574	15575	15576	15577	15578	15579	15580	15581	15582	15583	15584	15585	15586	15587	15588	15589	15590	15591	15592	15593	15594	15595	15596	15597	15598	15599	15600	15601	15602	15603	15604	15605	15606	15607	15608	15609	15610	15611	15612	15613	15614	15615	15616	15617	15618	15619	15620	15621	15622	15623	15624	15625	15626	15627	15628	15629	15630	15631	15632	15633	15634	15635	15636	15637	15638	15639	15640	15641	15642	15643	15644	15645	15646	15647	15648	15649	15650	15651	15652	15653	15654	15655	15656	15657	15658	15659	15660	15661	15662	15663	15664	15665	15666	15667	15668	15669	15670	15671	15672	15673	15674	15675	15676	15677	15678	15679	15680	15681	15682	15683	15684	15685	15686	15687	15688	15689	15690	15691	15692	15693	15694	15695	15696	15697	15698	15699	15700	15701	15702	15703	15704	15705	15706	15707	15708	15709	15710	15711	15712	15713	15714	15715	15716	15717	15718	15719	15720	15721	15722	15723	15724	15725	15726	15727	15728	15729	15730	15731	15732	15733	15734	15735	15736	15737	15738	15739	15740	15741	15742	15743	15744	15745	15746	15747	15748	15749	15750	15751	15752	15753	15754	15755	15756	15757	15758	15759	15760	15761	15762	15763	15764	15765	15766	15767	15768	15769	15770	15771	15772	15773	15774	15775	15776	15777	15778	15779	15780	15781	15782	15783	15784	15785	15786	15787	15788	15789	15790	15791	15792	15793	15794	15795	15796	15797	15798	15799	15800	15801	15802	15803	15804	15805	15806	15807	15808	15809	15810	15811	15812	15813	15814	15815	15816	15817	15818	15819	15820	15821	15822	15823	15824	15825	15826	15827	15828	15829	15830	15831	15832	15833	15834	15835	15836	15837	15838	15839	15840	15841	15842	15843	15844	15845	15846	15847	15848	15849	15850	15851	15852	15853	15854	15855	15856	15857	15858	15859	15860	15861	15862	15863	15864	15865	15866	15867	15868	15869	15870	15871	15872	15873	15874	15875	15876	15877	15878	15879	15880	15881	15882	15883	15884	15885	15886	15887	15888	15889	15890	15891	15892	15893	15894	15895	15896	15897	15898	15899	15900	15901	15902	15903	15904	15905	15906	15907	15908	15909	15910	15911	15912	15913	15914	15915	15916	15917	15918	15919	15920	15921	15922	15923	15924	15925	15926	15927	15928	15929	15930	15931	15932	15933	15934	15935	15936	15937	15938	15939	15940	15941	15942	15943	15944	15945	15946	15947	15948	15949	15950	15951	15952	15953	15954	15955	15956	15957	15958	15959	15960	15961	15962	15963	15964	15965	15966	15967	15968	15969	15970	15971	15972	15973	15974	15975	15976	15977	15978	15979	15980	15981	15982	15983	15984	15985	15986	15987	15988	15989	15990	15991	15992	15993	15994	15995	15996	15997	15998	15999	16000	16001	16002	16003	16004	16005	16006	16007	16008	16009	16010	16011	16012	16013	16014	16015	16016	16017	16018	16019	16020	16021	16022	16023	16024	16025	16026	16027	16028	16029	16030	16031	16032	16033	16034	16035	16036	16037	16038	16039	16040	16041	16042	16043	16044	16045	16046	16047	16048	16049	16050	16051	16052	16053	16054	16055	16056	16057	16058	16059	16060	16061	16062	16063	16064	16065	16066	16067	16068	16069	16070	16071	16072	16073	16074	16075	16076	16077	16078	16079	16080	16081	16082	16083	16084	16085	16086	16087	16088	16089	16090	16091	16092	16093	16094	16095	16096	16097	16098	16099	16100	16101	16102	16103	16104	16105	16106	16107	16108	16109	16110	16111	16112	16113	16114	16115	16116	16117	16118	16119	16120	16121	16122	16123	16124	16125	16126	16127	16128	16129	16130	16131	16132	16133	16134	16135	16136	16137	16138	16139	16140	16141	16142	16143	16144	16145	16146	16147	16148	16149	16150	16151	16152	16153	16154	16155	16156	16157	16158	16159	16160	16161	16162	16163	16164	16165	16166	16167	16168	16169	16170	16171	16172	16173	16174	16175	16176	16177	16178	16179	16180	16181	16182	16183	16184	16185	16186	16187	16188	16189	16190	16191	16192	16193	16194	16195	16196	16197	16198	16199	16200	16201	16202	16203	16204	16205	16206	16207	16208	16209	16210	16211	16212	16213	16214	16215	16216	16217	16218	16219	16220	16221	16222	16223	16224	16225	16226	16227	16228	16229	16230	16231	16232	16233	16234	16235	16236	16237	16238	16239	16240	16241	16242	16243	16244	16245	16246	16247	16248	16249	16250	16251	16252	16253	16254	16255	16256	16257	16258	16259	16260	16261	16262	16263	16264	16265	16266	16267	16268	16269	16270	16271	16272	16273	16274	16275	16276	16277	16278	16279	16280	16281	16282	16283	16284	16285	16286	16287	16288	16289	16290	16291	16292	16293	16294	16295	16296	16297	16298	16299	16300	16301	16302	16303	16304	16305	16306	16307	16308	16309	16310	16311	16312	16313	16314	16315	16316	16317	16318	16319	16320	16321	16322	16323	16324	16325	16326	16327	16328	16329	16330	16331	16332	16333	16334	16335	16336	16337	16338	16339	16340	16341	16342	16343	16344	16345	16346	16347	16348	16349	16350	16351	16352	16353	16354	16355	16356	16357	16358	16359	16360	16361	16362	16363	16364	16365	16366	16367	16368	16369	16370	16371	16372	16373	16374	16375	16376	16377	16378	16379	16380	16381	16382	16383	16384	16385	16386	16387	16388	16389	16390	16391	16392	16393	16394	16395	16396	16397	16398	16399	16400	16401	16402	16403	16404	16405	16406	16407	16408	16409	16410	16411	16412	16413	16414	16415	16416	16417	16418	16419	16420	16421	16422	16423	16424	16425	16426	16427	16428	16429	16430	16431	16432	16433	16434	16435	16436	16437	16438	16439	16440	16441	16442	16443	16444	16445	16446	16447	16448	16449	16450	16451	16452	16453	16454	16455	16456	16457	16458	16459	16460	16461	16462	16463	16464	16465	16466	16467	16468	16469	16470	16471	16472	16473	16474	16475	16476	16477	16478	16479	16480	16481	16482	16483	16484	16485	16486	16487	16488	16489	16490	16491	16492	16493	16494	16495	16496	16497	16498	16499	16500	16501	16502	16503	16504	16505	16506	16507	16508	16509	16510	16511	16512	16513	16514	16515	16516	16517	16518	16519	16520	16521	16522	16523	16524	16525	16526	16527	16528	16529	16530	16531	16532	16533	16534	16535	16536	16537	16538	16539	16540	16541	16542	16543	16544	16545	16546	16547	16548	16549	16550	16551	16552	16553	16554	16555	16556	16557	16558	16559	16560	16561	16562	16563	16564	16565	16566	16567	16568	16569	16570	16571	16572	16573	16574	16575	16576	16577	16578	16579	16580	16581	16582	16583	16584	16585	16586	16587	16588	16589	16590	16591	16592	16593	16594	16595	16596	16597	16598	16599	16600	16601	16602	16603	16604	16605	16606	16607	16608	16609	16610	16611	16612	16613	16614	16615	16616	16617	16618	16619	16620	16621	16622	16623	16624	16625	16626	16627	16628
----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

1, stolpec C, vrstica Gidrane). Konji s haplotipom Y zato v rod Gidrane ne spadajo in bi jih bilo potrebno uvrstiti v nov rod. V rod Gidrane prav tako ne spadajo lipicanci s haplotipom Capriola.

V rodu Deflorata je situacija nekoliko drugačna. Za ta rod je zelo verjetno značilen haplotip Capriola, zato lipicanci z drugačnimi haplotipi v ta rod ne sodijo. V primeru vzorcev s haplotipi Betalka je do pomote prišlo le pri razvrščanju po rodovih kobil v Rodovni knjigi. Vzorcji s haplotipom Betalka se po rodovniških podatkih uvrščajo v klasičen rod Capriola in ne v rod Deflorata. Rodovniške podatke potrjujejo tudi genetski. Za rod Capriola je namreč značilen prav haplotip Betalka (Kavar, 2000). Predvidevamo, da je do napake v Rodovni knjigi prišlo zaradi podobnih imen, ki se pojavljajo v rodovih Capriola in Deflorata. Predlagamo, da se lipicance s haplotipom Betalka iz rodu Deflorata uvrsti v klasičen rod Capriola.

Tretji primer neskladij med genetskimi in rodovniškimi podatki smo opazili znotraj rodu Munja, kjer je bil za eno linijo značilen haplotip Strana, za drugo pa haplotip Gaetana. Ker je haplotip Gaetana značilen za rod Gidrane, bi bil za rod Munja lahko značilen haplotip Strana. Še posebej, ker haplotipa Strana v drugih lipicanskih rodovih ne zasledimo. Predlagamo, da se lipicance s haplotipom Gaetana uvrsti v rod Gidrane, lipicanci s haplotipom Strana pa naj ostanejo v rodu Munja.

Nadaljnja tri neskladja smo opazili v rodovih Sardinia, Argentina in Europa, ko smo haplotipe, ki smo jih našli pri lipicancih slovenske reje, primerjali s haplotipi lipicancev iz osmih evropskih lipicanskih kobilarn (Piber, Monterotondo, Đakovo, Szilvasvarad, Topolcianky, Beclean in Fagaras).

Vsi lipicanci slovenske reje iz rodu Sardinia se uvrščajo v isto izmed treh že dalj časa ločenih vej znotraj rodu Sardinia, in za vse lipicance iz te veje je značilen haplotip Betalka. Lipicanci iz drugih evropskih kobilarn se v glavnem uvrščajo v preostali dve veji, in imajo haplotip Capriola. Kakšen haplotip je imela začetnica rodu Sardinia ne vemo zanesljivo, ker možnosti, da je bilo v rodovniku roda Sardinia več napak, ne moremo izključiti. V primeru, da je v tem rodu res prišlo samo do ene napake, je Sardinia imela haplotip Capriola, torej najpogostejši haplotip pri lipicancih, značilen za več kot četrtino lipicancev (Kavar in sod., 2002). Za oba haplotipa (Capriola in Betalka) velja, da so jih imeli lipicanci že vsaj pred dvestotimi leti, in da zato oba nedvomno spadata med haplotipe, značilne za klasične lipicanske rodove.

Znotraj rodu Argentina je za vejo, v katero se uvrščajo vsi lipicanci slovenske reje, značilen haplotip Capriola. Torej haplotip, ki je značilen še za nekaj drugih lipicanskih rodov. Pri vzorcih iz druge linije smo našli, bodisi haplotip Capriola, bodisi haplotip X. Ker je bil haplotip X značilen za vzorce iz italijanske kobilarne Monterotondo, v kateri naj bi bili bolj ali manj le lipicanci, ki izvirajo iz stare lipicanske črede, menimo, da je haplotip X tudi eden od haplotipov, značilnih za klasične rodove kobil. Zato je možno, da v Sloveniji ni lipicancev iz klasičnega rodu kobil z značilnim haplotipom X.

Tretje neskladje smo opazili v rodu Europa, kjer so vsi lipicanci slovenske reje imeli haplotip Trompeta, medtem ko so lipicanci iz istega rodu v drugih državah imeli haplotip U. Ime Trompeta je bilo pogosto tako pri prednicah lipicancev s haplotipom Trompeta, kot pri lipicancih s haplotipom U. Rodovniki lipicancev s haplotipom U so znani do začetka 19. st. in vemo tudi, da so lipicance s haplotipom U imeli že v stari Lipici. Haplotip U zato lahko brez večjega tveganja uvrstimo med haplotipe, značilne za klasične rodove, česar pa za haplotip Trompeta ne moremo reči. Rodovniki lipicancev s haplotipom Trompeta so znani samo do Triglave, roj. leta 1916. Njeni potomci so živeli v kobilarnah v Stančič in Seleš, in so v Lipico prišli šele po 2. svetovni vojni. Haplotip Trompeta se zato verjetno uvršča med haplotipe, značilne za rodove kobil hrvaškega izvora. Predlagamo tudi, da se lipicance s haplotipom Trompeta uvrsti v nov rod, in ne več v rod Europa.

V primeru vzorcev iz rodu Margit, kjer smo prav tako opazili dva različna haplotipa (C in D) gre lahko spet za napako v rodovnikih, možno pa je tudi, da je prišlo do nove mutacije znotraj istega rodu. Razlika med haplotipoma C in D je namreč na enem samem nukleotidnem mestu.

Na splošno lahko rečemo, da število napak ni veliko, in da bi bilo zaradi tega smiselno narediti nekaj popravkov, s katerimi bi uskladili rodovniške podatke o rodu kobil z genetskimi podatki (haplotipi). V nasprotnem primeru se bodo vse napake ohranjale tudi v naslednjih generacijah lipicancev. Naj omenimo še, da neskladje genetskih in rodovniških podatkov ni specifičen problem lipicanske pasme. Do zelo podobnih ugotovitev so prišli tudi s preverjanjem arabskih rodov kobil (Bowling in sod., 2000) in rodov kobil pri angleških polnokrvnih konjih (Hill in sod., 2002).

Izvor lipicanskih haplotipov

Lipicanski haplotipi se uvrščajo v štiri glavne skupine haplotipov: C1, C2, C3 in C4 (slika 1). Vsako skupino haplotipov povezujejo iste skupne mutacije. Npr. haplotipe iz skupine C4 povezujejo mutacije na mestih 15494, 15496, 15534, 15603, 15635, 16407 in 16563a (preglednica 2), ki so se zgodile in fiksirale pri skupnih prednikih po materini strani današnjih konj s haplotipi iz skupine C4.

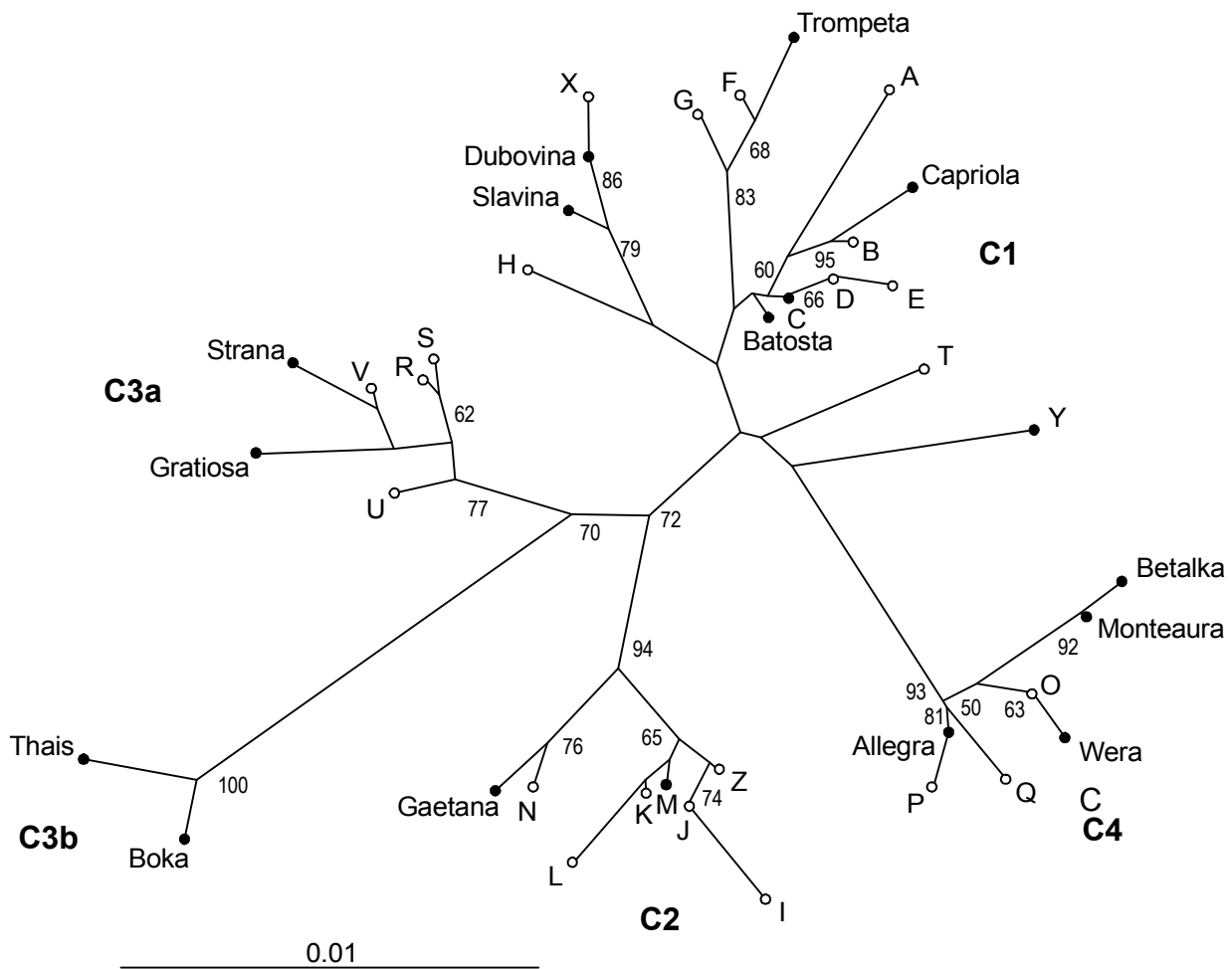
Kaže, da imajo lipicanci skupne bližnje prednike z drugimi domačimi konji, saj je primerjava lipicanskih haplotipov s haplotipi drugih pasem konj pokazala, da so lipicanski haplotipi zelo podobni, večkrat tudi enaki haplotipom, ki so jih našli pri drugih pasmah konj. Ti skupni bližnji predniki domačih konj so bili verjetno udomačeni v obdobju pred okrog 6000 do 4000 leti (Clutton-Brock, 1999). Genetski podatki kažejo, da je bilo udomačenih veliko število konj iz več različnih populacij divjih konj (Vila in sod., 2001; Jansen in sod., 2002)

Ker so se v preteklosti verjetno dogajale številne migracije konj, je danes skupine haplotipov zelo težko povezati z določeno fenotipsko skupino konj (poniji, orientalski konji, težki hladnokrvni konji, itd.). Običajno namreč v večini pasem ugotovijo haplotipe iz vseh štirih glavnih skupin haplotipov (C1-C4), tako kot smo to ugotovili tudi pri lipicancih. Do nedavnega je zato prevladovalo mnenje, da vsi domači konji izvirajo iz ene večje populacije divjih konj. Ta naj bi vsebovala konje s haplotipi iz vseh štirih glavnih skupin (Lister, 1998); pri čemer naj bi različne fenotipske skupine nastale šele po udomačitvi konj s kombinacijo umetne in naravne selekcije (prilagoditev na okoljske dejavnike) (Clutton-Brock, 1999). Zadnja raziskava (Jansen in sod., 2002) pa kaže, da nekaj povezav med skupinami haplotipov in geografskim izvorom oz. fenotipsko skupino le obstoji.

Tako naj bi bila skupina haplotipov C3a (slika 1) značilna predvsem za konje iz srednje Evrope, Britanskega otočja, Skandinavije in Islandije, oz. za »exmoor«, fjordske, islandske in škotske »highland« ponije (Jansen in sod., 2002). V to skupino se uvrščata tudi dva haplotipa lipicancev slovenske reje. Haplotip Strana, ki je značilen za hrvaški rod Munja, ter haplotip Gratirosa, ki je značilen za arabski rod Mercurio. Jansen in sod. (2002) to skupino imenujejo C1, skupino, ki jo bomo omenjali v naslednjem odstavku pa D1.

Ker naj bi pri nastanku lipicancev sodelovali tudi španski konji, je za nas zanimiva ugotovitev, da naj bi bila za iberijske (andaluzijske in lusitano konje) ter severno-afriške konje berbere značilna skupina haplotipov C4 oz. predvsem haplotipa Allegra in Monteaura (Jansen in sod., 2002). Oba haplotipa smo našli tudi pri lipicancih slovenske reje. Haplotip Allegra je bil značilen za pet rodov, med drugim tudi za klasična rodova Englanderia in Stornella, ki izvirata iz češke kobilarne Kladruby (preglednica 1). Ker naj bi v tej kobilarni imeli predvsem konje španskega porekla, haplotip Allegra v rodovih Englanderia in Stornella ne preseneča. Haplotip Monteaura, ki naj bi bil prav tako značilen za španske oz. severno-afriške konje, smo našli v kraškem rodu Spadigla. To lahko pomeni, da rod Spadigla izvira iz španskih konj, ki naj bi jih v 16., 17., ali 18. stoletju uvozili iz Španije. Skoraj enako verjetna se nam zdi tudi možnost po kateri naj bi haplotip Monteaura sicer izhajal iz konj, ki so bili udomačeni na področju severne Afrike, vendar naj bi konji s tem haplotipom v naše kraje prišli že prej, lahko tudi pred več tisoč leti. Haplotip Monteaura namreč sodi med tiste haplotipe, ki so pri domačih konjih zelo pogosti.

Znanih je vsaj okrog 17 takih zelo pogostih haplotipov (Jansen in sod., 2002). Od lipicanskih haplotipov, poleg haplotipa Monteaura, mednje lahko uvrstimo vsaj še haplotipe Gaetana, Allegra, Capriola in Dubovina. Za te zelo pogoste haplotipe velja, da jih lahko najdemo v fenotipsko zelo različnih pasmah. Menimo, da so take haplotipe imeli že vsaj prvi udomačeni konji. Gre torej za »starejše« haplotipe, iz katerih so kasneje, z novimi mutacijami, nastajali »novejši« haplotipi. Dva taka tipična primera »novejših« haplotipov zasledimo tudi pri lipicancih slovenske reje. Tako naj bi haplotip Betalka nastal iz haplotipa Monteaura, haplotip X pa iz tudi zelo pogostega haplotipa Dubovina, ki je tudi zelo pogost pri domačih konjih. Tako haplotip Betalka kot haplotip X sodita med bolj redke haplotipe. Haplotip Betalka smo našli samo pri lipicancih, haplotip X pa še pri konju z oznako PO2 (Mirol in sod., 2003). Menimo, da nam bodo prav taki novejši haplotipi, zaradi večje specifičnosti, v prihodnosti v pomoč pri ugotavljanju migracij in povezav med pasmami.



Slika 1. Odnosi med 39 lipicanskimi haplotipi mitohondrijske DNK predstavljeni z NJ drevesom. Sedemnajst haplotipov lipicancev slovenske reje je označenih s črnimi krogi.

Figure 1. Relationship among 39 Lipizzan mitochondrial DNA haplotypes presented by NJ tree. The circles representing 17 haplotypes of Slovenian Lipizzan are black.

Opazili smo tudi nekaj povezav med haplotipi in pasmo, iz katere naj bi izvirali lipicanski rodovi. Tako je bil najbolj pogost haplotip v populaciji arabskih konj, registriranih v ZDA s 16 % prav haplotip, ki smo ga pri lipicancih poimenovali Gaetana (Bowling in sod., 2000).

Značilen je za lipicanski rod arabskega izvora Gidrane (preglednica 1). Po rodovniških podatkih naj bi bila začetnica tega rodu polnokrvna arabka OX Gidrane. Zato ta povezava med lipicansko in arabsko pasmo verjetno ni zgolj naključna. Verjetno tudi ni naključje, da smo pri kladrubskih konjih zasledili haplotipa Batosta in Slavina. Torej enaka haplotipa kot v klasičnih lipicanskih rodovih kladrubskega porekla: Africa in Almerina (preglednica 1). Da gre za naključje je malo verjetno še posebej zato, ker oba haplotipa spadata med zelo redke haplotipe, in jih razen pri kladrubskih in lipicanskih konjih še niso našli.

O izvoru v lipicanski pasmi najbolj pogostega haplotipa Capriola, ki je značilen za več lipicanskih rodov kobil, med drugimi tudi za kraški rod Argentina, danski rod Deflorata in kladrubski rod Presciana, lahko samo ugibamo, saj tudi haplotip Capriola spada med zelo pogoste haplotipe pri domačih konjih. Našli so ga denimo pri Connemara ponijih, trakencih, fjordskih ponijih, dülmenerskih konjih, holštajncih, arabcih in berberih.

VIRI

- Bowling, A.T./ Del Valle, A./ Bowling, M. A pedigree-based study of mitochondrial D-loop DNA sequence variation among Arabian horses. *Anim. Genet.*, 31(2000)1, 1–7.
- Clutton-Brock, J. A natural history of domesticated mammals, 2nd edn. Cambridge, New York, Melbourne, Cambridge University Press, 1999, 238 s.
- Dolenc, M. Lipica. Ljubljana, Mladinska knjiga, Lipica: kobilarna, 1980, 96 s.
- Felsenstein, J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c., Univ. of Washington, Dept. of Genetics, Seattle, 1993.
- Hill, E.W./ Bradley, D.G./ Al-Barody, M./ Ertugrul, O./ Splan, R.K./ Zakharov, I./ Cunningham, E.P. History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation. *Animal Genetics*, 33(2002), 287–294.
- Jansen, T./ Forster, P./ Levine, M.A./ Oelke, H./ Hurler, M./ Renfrew, C./ Weber, J./ Olek, K. Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(2002)16, 10905–10910.
- Kavar, T. Ocena genetske raznolikosti v populaciji konj lipicanske pasme. Doktorska disertacija. Domžale, Univ. v Ljubljani, 2001, 118 s.
- Kavar, T./ Brem, G./ Habe, F./ Sölkner, J./ Dovč, P. History of Lipizzan horse maternal lines as revealed by mtDNA analysis. *Genet. Sel. Evol.* 34(2002), 635–548.
- Kavar, T./ Habe, F./ Brem, G./ Dovč, P. Mitochondrial D-loop sequence variation among the 16 maternal lines of the Lipizzan horse breed. *Anim. Genet.* 30(1999), 423–430.
- Lister, A.M./ Kadwell, M./ Kaagan, L.M./ Jordan, W.C./ Richards, M.B./ Stanley, H.E. Ancient and modern DNA in a study of horse domestication. *Ancient Biomolecules*, 2(1998), 267–280.
- Mirol, P.M./ Peral García, P./ Vega-Pla, J.L./ Dulout, F.N. Phylogenetic relationship of Argentinean Creole horses and other South American and Spanish breeds inferred from mitochondrial DNA sequences. *Anim. Genet.*, 33(2002), 356–363.
- Ouhlela, J. Züchterische Standards in der Lipizzanerpferde-population. Habilitationsarbeit Brno – Piber, Fachtierarzt für Pferde und Tierzucht, 1996, 120 s.
- Page, R.D.M. Treeview (Win32), University of Glasgow, Division of Environmental and Evolutionary biology Institute of Biomedical and Life Sciences, Glasgow, 1998.
- Pangos, J. Rodovna knjiga lipicancev slovenske reje. Lipica, Kobilarna Lipica, 1999, 254 s.
- Vila, C./ Leonard, J.A./ Gotherstrom, A./ Marklund, S./ Sandberg, K./ Liden, K./ Wayne, R.K./ Ellegren, H. Widespread origins of domestic horse lineages. *Science*, 291(2001), 474–477.
- Xu, X./ Arnason, U. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene*, 148(1994), 357–362.