



# BIULETYN POLSKIEGO ZWIĄZKU HODOWCÓW KONI

Nr (9) 2/2002

kwiecień 2002

Bezpłatny dodatek do prenumeraty redakcyjnej „Konia Polskiego“

ISSN 1640-9094

*Szanowni Czytelnicy!*

*W naszych planach wydawniczych zakładaliśmy, że kwietniowy biuletyn przedstawi Państwu „Regulaminy Mistrzostw Polski Młodych Koni“ bo taką nazwę przyjęły od 2002 roku zawody sportowe nazywane dotychczas Czempionatami Młodych Koni. Nie jest to jedyna zmiana dotycząca tej imprezy. Niestety, z przyczyn organizacyjnych, o zmianach regulaminów poinformujemy Państwa dopiero w majowym biuletynie. Ten poświęcimy rozwiązaniu wątpliwości związanymi z badaniami grup krwi u koni. Informacje te powinny być pomocne właścicielom koni i lekarzom weterynarii pobierającym krew. Poniższy tekst wyjaśnia, mamy nadzieję, wszystkie wątpliwości, a zamieszczone druki protokółów pobrania i wniosku o przebadanie mogą służyć Państwu do wystania próbek krwi do laboratoriów. Przypominamy, że w 2002 r. koszt badania wynosi 86 zł.*

## O POTRZEBIE WERYFIKACJI POCHODZENIA KONI HODOWLANYCH NA PODSTAWIE GENETYCZNYCH BADAŃ KRWI

Grzegorz Cholewiński<sup>1</sup>, Andrzej Stasiowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) Laboratorium Badań Markerów Genetycznych u Koni, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

<sup>2</sup>) Polski Związek Hodowców Koni, Warszawa

Obligatoryjne badania kontroli pochodzenia, to warunek wiarygodnej hodowli....

### Rys historyczny badań

Przez stulecia w celu identyfikacji koni posługiwano się opisem zewnętrznym w oparciu o umaszczenia, pomiary czy piętna.

Rozwój hodowli, sportu konnego, międzynarodowa wymiana materiału zarodowego, inseminacja oraz różnego rodzaju transakcje handlowe, obejmujące konie będące przedmiotem eksportu lub importu, spowodowały potrzebę gwarancji pochodzenia, której coraz częściej domagały się związki hodowców, użytkownicy oraz nabywcy koni.

W latach 1960-tych ubiegłego stulecia w wielu krajach na świecie wprowadzono obligatoryjną kontrolę pochodzenia w tamtejszych hodowlach koni, co zdecydowanie podniosło skuteczność weryfikacji osobników oraz szanse wskazania błędnie zapisanego ojcostwa lub macierzyństwa.

Prowadzone w latach 1960-tych głównie w uniwersytetach i instytutach naukowych, badania cech genetycznych (grup krwi) znalazły zastosowanie w praktyce w kontroli pochodzenia u koni. Obligatoryjne badania – początkowo tylko grup krwi – wprowadzono najwcześniej w USA, Szwecji, W. Brytanii, Francji i Niemczech.

Badania nad grupami krwi u koni w Polsce mają także długą historię. W 1962 roku prof. dr hab. Jerzy Zwoliński zapoczątkował badania w Zakładzie Hodowli Koni, Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu. Już 1970 roku Profesor pisał: „.....badania grup krwi u koni – wprawdzie żmudne i kłopotliwe – mogą jednak mieć znaczenie nie tylko teoretyczne ale i praktyczne. Przed wszystkim znajomość grup krwi oraz praw rządzących ich dziedziczeniem może pozwolić na unikanie przypadków choroby hemolitycznej u źrebiąt. Umożliwi – w przypadkach wątpliwych – wykluczenie ojcostwa, co jest szczególnie przydatne w elitarnej hodowli koni.....” Niestety przez wiele jeszcze lat badania nie znalazły zastosowania w praktyce.

Opracowanie nowych technik laboratoryjnych (elektroforeza) pozwoliło tymczasem w innych krajach na zastosowanie (w latach 1970-tych) kolejnego narzędzia w kontroli pochodzenia, czyniąc ją jeszcze bardziej skuteczną.

Dziś, wykonywane w kontroli pochodzenia, równocześnie badania, grup krwi oraz polimorficznych białek i enzymów, noszą nazwę badań markerów genetycznych choć w potocznym języku nieprecyzyjnie nadal nazywane są „badaniami grup krwi“.

W Polsce, pierwsze obligatoryjne badania kontroli pochodzenia wprowadzono u koni arabskich w 1988 roku. Od 1992 roku kontrolę pochodzenia objęte są także nasze konie pełnej krwi angielskiej.

W 1997 roku Polski Związek Hodowców Koni wprowadził obowiązek badań ogierów półkrewi kierowanych do zakładów treningowych, a w 1998 r. obowiązek badań wszystkich ogierów przeznaczonych do rozrodu.

### Aktualny stan badań na świecie i w Polsce

Wykorzystanie markerów genetycznych w kontroli pochodzenia to dziś rutynowa procedura w hodowlach koni w wielu krajach. Każdego roku około 40 laboratoriów na świecie bada łącznie ponad 300 tysięcy urodzonych źrebiąt, co jest miernikiem zainteresowania różnych instytucji i hodowców weryfikacją rodowodu. W samych Stanach Zjednoczonych ponad 50 związków hodowców koni wymaga jakiejś formy genetycznego testu. W Europie, w takich krajach jak Niemcy, Francja, W. Brytania, Szwecja czy Holandia, rocznie bada się od kilku do kilkunastu tysięcy koni. To samo dotyczy Australii, Nowej Zelandii, Japonii czy Argentyny. W krajach tych, warunkiem przyjęcia hodowcy w poczet członków związku jest jego pisemna deklaracja przekazania próby krwi od każdego narodzonego w hodowli źrebaka do laboratorium, w celu weryfikacji pochodzenia.

Dotychczas w Polsce, w kolejnych latach, badaniami, dotowanymi od 1998 r. przez MRiRW, objęto następujące liczby ogierów przeznaczonych do rozrodu:

1997 – 200  
1998 – 596  
1999 – 540  
2000 – 574  
2001 – 604

Dane pochodzą z Laboratoriów w Poznaniu i Chorzelowie.

Badania ogierów kierowanych do zakładów treningowych służą w większości przypadków jedynie identyfikacji osobników gdyż

weryfikację pochodzenia uniemożliwił brak danych dotyczących rodziców. Dziś do badań trafiają już osobniki, których ojcowie posiadają certyfikaty, a wyniki ich testów genetycznych znajdują się w bazie danych.

Testy staną się pełnowartościowe z chwilą wprowadzenia obowiązku badań także klaczy – matek, tak jak ma to miejsce w przypadku źrebiąt urodzonych z inseminacji czy też w rasach zachowawczych.

Dziś, nie spełniony jest jeszcze jeden istotny warunek – termin pobierania prób krwi. We wszystkich hodowlach gdzie badania prowadzone są od wielu lat istnieje obowiązek przeprowadzenia takiego testu u źrebaka w wieku 2-6 miesięcy, a więc praktycznie przy matce. Pozwala to uniknąć błędów natury technicznej (zamiana przy odsadzeniu), jak również innych pomyłek wśród starszych koni.

### Cele badań

Cele prowadzonych badań są jasne:

1. weryfikacja pochodzenia konia na potrzeby związku, osób indywidualnych, instytucji handlowych lub torów wyścigowych
2. identyfikacja osobnika w przypadku transakcji kupna czy sprzedaży, pomyłki w transporcie, zamiany po odsadzeniu itp.
3. znajomość grup krwi konia może zostać wykorzystana również w profilaktyce konfliktu serologicznego jak również w przypadku wskazań do transfuzji np. u urodzonego już źrebięcia z objawami niedokrwistości hemolitycznej (żółtaczką).

### Jeszcze o testach

Czynniki genetyczne (markery krwi) wykorzystywane w badaniach kontroli pochodzenia charakteryzują się następującymi cechami:

- dziedziczą się w prosty sposób, co oznacza, że są przekazywane następnemu pokoleniu jako cecha dominująca lub kodominująca
- są w pełni rozwinięte w momencie narodzin lub krótko po nich i pozostają niezmienione w ciągu całego życia
- są cechami dziedzicznymi, nie wpływa na nie środowisko

Weryfikacja rodowodu jest zadaniem odpowiedzialnym. Ekonomiczne i prawne konsekwencje badania wykazującego niezgodność w pochodzeniu są daleko idące i dlatego wymogi stawiane tym testom są bardzo wysokie.

Najważniejszą sprawą dla hodowcy jest dokładność wyników, ich powtarzalność, efektywność i koszt. Stosowane dziś badania wymogi te spełniają. Skuteczność standardowego testu w wykryciu błędnie zapisanego ogiera lub klaczy gdy zapis drugiego z rodziców jest poprawny, wynosi 97-99%, w zależności od rasy i układów genetycznych wykorzystywanych w badaniach. Wykrywalność błędów w pochodzeniu, w przypadku kojarzeń osobników różnych ras lub zamiany dwóch koni rasowo różnych jest bliska 100%.

Odpowiedzialność za decyzje o wykluczeniu spoczywa wyłącznie na laboratorium, w którym przeprowadzane są badania. Osoba odpowiedzialna musi posiadać wiedzę na temat dziedziczenia markerów i być świadoma wyjątków i pułapek, które kryje natura. Przed podjęciem ostatecznej decyzji o wykluczeniu przeprowadza się ponowne badanie, chyba że właściciel uzna to za zbędne. Badanie takie jest bezpłatne.

### Zakres i metody badań

Rutynowe badania w kontroli pochodzenia u koni prowadzone są w oparciu o 15-17 układów genetycznych (najczęściej 7 układów grupowych krwi oraz 8-10 wybranych, najbardziej polimorficznych układów białek i enzymów). Stosowane dziś techniki pozwalają analizować 34 grupy krwi i ponad 80 alleli w wyżej wymienionych układach.

Badania grup krwi prowadzi się przy pomocy surowic testowych opracowywanych w poszczególnych laboratoriach oraz weryfikowanych w ramach organizowanych co 2 lata przez International Society for Animal Genetics (ISAG) tzw. Testach Porównawczych (Hor-

se Comparison Test). Pozytywne wyniki Testu czynią dane laboratorium wiarygodnym, a certyfikaty przez nie wystawiane honorowane są na arenie międzynarodowej.

Badania polimorfizmu białek i enzymów prowadzone są przy wykorzystaniu elektroforezy na różnych żelach.

### Certyfikat pochodzenia

Wyniki testu zapisywane są na wystawianych przez laboratorium certyfikatach w postaci fenotypów lub/i genotypów stwierdzonych w poszczególnych układach genetycznych. Ponadto, certyfikat zawiera takie dane jak: nazwa konia, rasa, płeć, rok urodzenia, umaszczenie oraz numer testu laboratoryjnego (Tab. 1)

Certyfikat jest dokumentem identyfikującym tożsamość konia, którą można w każdej chwili potwierdzić lub wykluczyć w jednym z laboratoriów pracujących pod egidą ISAG (np. w przypadku eksportu lub importu).

Certyfikat o którym mowa, jest certyfikatem międzynarodowym i honorowany jest we wszystkich krajach, w których związki hodowców go wymagają, a zapisane w nim wyniki badań mogą być interpretowane tylko przez laboratoria, do których trafia próbka krwi konia wraz z certyfikatem.

Certyfikat jest także dokumentem – świadectwem, wykluczającym lub nie wykluczającym pochodzenie danego osobnika po jednym lub obojgu rodzicach jeśli ci byli również badani. Komplet certyfikatów przechowywany jest w bazie danych w Laboratorium.

### Zasady wykluczania pochodzenia

Możliwość wykluczenia ojcostwa, macierzyństwa czy rodzicielstwa obojga rodziców opiera się na genetycznych prawach Mendla, sformułowanych jeszcze w XIX w.

Istnieją 3 podstawowe reguły w dziedziczeniu markerów krwi, wykorzystywane w rozstrzygnięciu spornych przypadków pochodzenia:

1. osobnik nie może posiadać markera (cechy) nieobecnego przynajmniej u jednego z rodziców
2. jeżeli osobnik w zakresie genu kontrolującego dany marker krwi jest homozygotą (posiada dwie identyczne formy genu), to całe jego potomstwo bez wyjątku, musi posiadać tę formę genu (allel)
3. jeżeli osobnik jest heterozygotą (posiada dwie różne formy genu) w badanym układzie genetycznym, wówczas całe jego potomstwo musi mieć przynajmniej jedną formę tego genu (allel)

Niezgodność w którymkolwiek z wymienionych wyżej punktów – w przypadku kwestionowanego ojcostwa lub macierzyństwa – pozwala na wykluczenie danego osobnika jako rodzica.

### Test identyfikacyjny

Poza konkretnymi, spornymi przypadkami ojcostwa czy macierzyństwa, związki hodowców mogą korzystać z rutynowych badań w celu wykrycia błędnie zapisanego potomstwa.

Chociaż nie można wykluczyć nieuczciwości, to przecież zdarzają się w praktyce pomyłki nie wynikające ze złej woli hodowcy. Często są one wynikiem chwilowej nieuwagi lub zaniedbania obowiązków. Znane z praktyki są przypadki użycia dwóch ogierów i nieprecyzyjnych zapisów stanówek. Nie do rzadkości należy zamiana dwóch podobnie umaszczonych źrebiąt tuż po odsadzeniu od matek. Hodowcom znane są także wybryki nad wyraz wyrośniętych młodych ogierków lub ich troszkę starszych kolegów na pastwiskach, po czym zdarza się, że ta sama klacz kryta jest w tej samej rui właściwym (drugim) ogierem. Wynik badań w takich przypadkach nie trudno przewidzieć. Jednak przypadki te, mogą nigdy nie zostać wykryte bez rutynowych badań.

Możliwości wykrycia zamiany źrebaka poprzez badania markerów genetycznych zależą od wielu czynników. W sytuacji gdy oboje rodzice są nieprawdziwi, szansa jest większa aniżeli wówczas gdy nieprawdziwe jest tylko jedno z rodziców. Jeśli założymy, że pomyłki wynikające z przedstawionych powyżej powodów wynoszą 1 na 100 przypadków urodzin, to program weryfikacji pochodzenia (kon-

trola pochodzenia) powinien zredukować wskaźnik niezgodności. Skuteczność badań w takich przypadkach wynosi 95-99%. Oznacza to, że tylko 1 na 2 do 10 tysięcy koni pozostanie z błędnym zapisem pochodzenia nie zweryfikowanym poprzez badanie markerów krwi.

Prowadzone badania wykazały, że prawdopodobieństwo iż dwa nie spokrewnione konie tej samej rasy będą miały identyczny układ markerów krwi wynosi 1/100 000.

W ten sposób rutynowo prowadzona kontrola pochodzenia może zdecydowanie uwiarygodnić rodowody naszych koni.

Po 5 latach badań w Polsce, przede wszystkim ogierów, za wcześnie na jednoznaczną ocenę sytuacji w polskiej hodowli koni półkrwi czy w rasach zachowawczych. Prowadzone niezależnie od obligatoryjnej kontroli pochodzenia badania w Laboratorium Badań Markerów Genetycznych Akademii Rolniczej w Poznaniu, wykazały, że w latach 1985-1995 wskaźnik niezgodności w polskiej hodowli koni ras półkrwi oraz zachowawczych wahał się w zależności od właściciela oraz rasy od 4.0 % do 11.6 %.

Sięgając do doświadczeń innych hodowli w krajach o wysokiej kulturze hodowlanej – wskaźnik wykluczeń w pierwszych latach po wprowadzeniu kontroli wynosił tam również 10.0% -12.0 %. Dziś 1-2 %.

Nie ulega wątpliwości, że wprowadzona w życie przez Polski Związek Hodowców Koni kontrola pochodzenia, uwiarygodnia naszą hodowlę zarówno w kraju jak i na arenie międzynarodowej, co w dobie otwartych granic, szerokiego eksportu jak i importu zwierząt oraz nasienia do inseminacji staje się dziś koniecznością.

## Odpowiedzi na najczęściej stawiane pytania

*Jak pobierać i przysyłać próby krwi do Laboratorium?*

Podstawowe zasady przesyłania prób krwi podane są na odwrotnej stronie formularza „Protokół pobrania krwi od konia“, który właściciel jest zobowiązany wypełnić przy pobieraniu krwi. Pobranie krwi i przesłanie jej zgodnie z opisaną procedurą pozwoli uniknąć uszkodzenia przesyłki, wylania jej zawartości i tym samym problemów związanych z koniecznością powtórnego pobierania i przesyłania prób do Laboratorium.

Formularz „Protokół pobrania krwi od konia“ oraz jego odwrotna strona wydrukowane są w niniejszym Biuletynie. Formularze można kopiować (ksero) i wykorzystać w przypadku wysyłania krwi do badań. Oprócz „Protokołu pobrania krwi od konia“, do Laboratorium, wraz z próbkami krwi, należy przesłać także „Zlecenie badania grup krwi konia“ (wzór w Biuletynie) oraz oryginał lub ksero dowodu dokonanej wpłaty za badanie. Właściciel konia w ciągu 2 – 3 tygodni otrzyma fakturę oraz poświadczenie wykonania badania.

Przesyłki nie należy oklejać dopiskami typu: „ekspres“, „ostrożnie“, czy „polecony“ gdyż nie ma to żadnego wpływu na szybszy termin dostarczenia przesyłki do Laboratorium, a czasami wręcz odwrotnie, dociera ona jeden dzień później. Takie „dodatki“ podnoszą niepotrzebnie koszt przesyłki.

*Czy w przypadku badania konia urodzonego w wyniku inseminacji należy także badać matkę i ojca (dawcę nasienia)?*

Tak. W przypadku badania osobnika urodzonego w wyniku inseminacji, zgodnie z obowiązującymi programami hodowlanymi dla poszczególnych ras koni, niezbędne jest badanie zarówno matki, jak i ojca. Jeśli właściciel konia posiada informację, że rodzice lub jedno z nich było już w przeszłości badane, wówczas próby krwi od nich nie wysyła. W przypadku wątpliwości informację taką można uzyskać telefonicznie w Laboratorium. Właściciel klaczy decydujący się na jej inseminację powinien żądać takiej informacji od właściciela ogiera lub nasienia aby uniknąć w przyszłości dodatkowych problemów i kosztów.

*Czy w przypadku badania konia jednej z ras zachowawczych należy także badać ojca i matkę?*

Tak. W takim przypadku, zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa, również obowiązuje badanie obojga rodziców jeśli nigdy przedtem nie byli badani.

*Co zrobić w przypadku gdy ogier, lub samo nasienie pochodzi z importu, a nie posiada certyfikatu badań?*

Właściciel zobowiązany jest posiadać certyfikat badań genetycznych ogiera, w tym także dawcy nasienia (do Laboratoriów w Poznaniu i Chorzelowie należy przesłać kserokopię certyfikatu). Właściciel klaczy powinien się upewnić czy wybrany przez niego ogier zaświadczenie takie posiada.

Przy zakupie ogiera lub nasienia (tak w kraju jak i za granicą), kupujący powinien żądać od kontrahenta takiego właśnie świadectwa (certyfikatu). Decydowanie się na krycie klaczy ogierem bez certyfikatu lub inseminowanie nasieniem takiego ogiera naraża właściciela klaczy w niedalekiej przyszłości na problemy związane z uzyskaniem rodowodu dla urodzonego osobnika.

W przypadku ogiera lub nasienia importowanego przed 2002 r. istnieje możliwość uzyskania takiego certyfikatu za granicą (jeśli w przeszłości tam właśnie zakupiono nasienie lub ogiera bez certyfikatu). W staraniach może pomóc Laboratorium w Polsce.

*Czy wykluczenie ojcostwa, macierzyństwa lub rodzicielstwa na podstawie markerów genetycznych jest pewne?*

Wykluczenie pochodzenia oparte na niezgodnościach w dwóch lub więcej układach genetycznych jest pewne w 100%

*Czy importowane do Polski, w celu użycia w hodowli konie posiadające certyfikat wystawiony w kraju pochodzenia powinny być ponownie zbadane u nas w kraju?*

W przypadku wątpliwości co do tożsamości konia tak. Kserokopię certyfikatu badań genetycznych konia wykonanych za granicą, należy koniecznie przesłać do Laboratoriów w Poznaniu i Chorzelowie.

*Czy badania markerów genetycznych wykonuje się raz czy więcej razy w ciągu życia konia?*

Badania markerów genetycznych („grup krwi“) u konia wykonuje się jeden raz w życiu, stąd powtórne przesyłanie prób po roku lub dłużej od pobrania jest niecelowe.

*Czy właściciele otrzymują wyniki badań?*

Nie. Wyniki badań znajdują się w bazie danych w Laboratorium. Właściciel otrzymuje pisemne potwierdzenie wykonania badań, które jest wystarczającym dokumentem dla Polskiego Związku Hodowców Koni.

W przypadku sprzedaży konia za granicę, właściciel może otrzymać jednorazowo oryginał certyfikatu jeśli kupujący takowe żąda.

### Uwaga!

Informacja dla właścicieli ogierów urodzonych do 1995 roku (włącznie)

Laboratorium Badań Markerów Genetycznych u Koni, Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu i Laboratorium Grup Krwi w Chorzelowie informują, że w uzgodnieniu z Polskim Związkiem Hodowców Koni, do końca roku 2002 wykonywać będą badania ogierów starszych urodzonych do 1995 r. (włącznie), wyjątkowo w cenie 43 złotych od ogiera (50% zniżki). Celem proponowanych badań jest uzupełnienie bazy zbadanych ogierów o osobniki dotychczas nie badane, po których coraz większa liczba potomstwa trafia aktualnie do badań.

Oferta dotyczy ogierów wszystkich ras poza czystą krwią arabską i pełną krwią angielską.

pieczęćka Zleceniodawcy

Miejscowość ..... data .....  
*podpis Zleceniodawcy*

**Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu**  
**Laboratorium Badań Markerów Genetycznych u Koni**  
 ul. Wotyńska 33, 60-637 POZNAŃ

### Zlecenie badania grup krwi konia

Zlecam wykonanie badania grup krwi konia(i) w liczbie ..... zgodnie z załączonym(i) protokołem (ami).  
 Proszę o wystawienie faktury za wykonane badania na podanego niżej płatnika. Jednocześnie upoważniam  
 Akademię Rolniczą im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu do wystawienia faktury VAT bez mojego podpisu.

Nazwisko / Nazwa instytucji: .....

Adres: .....

Nr NIP: (koniecznie wpisać)

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Forma płatności: *PRZELEW na konto Uczelni.*

Numer konta: Bank Zachodni WBK S.A., 6 Oddział Poznań, 29 1090 1362 0000 0000 3601 7894

Dowód wpłaty lub jego ksero należy dołączyć do Protokołu odsyłanego do Laboratorium wraz z próbkami krwi

*Podpis Zleceniodawcy*

pieczęćka Zleceniodawcy

Miejscowość ..... data .....

**Zakład Doświadczalny Instytutu Zootechniki Chorzeliów Sp. z o. o.**  
**Laboratorium Grup Krwi**  
 39-331 Chorzeliów

### Zlecenie badania grup krwi konia

Zlecam wykonanie badania grup krwi konia ( i ) w liczbie ..... zgodnie z załączonym ( i ) protokołem (ami).  
 Proszę o wystawienie faktury za wykonane badania na podanego niżej płatnika. Jednocześnie upoważniam Zakład  
 Doświadczalny Instytutu Zootechniki w Chorzeliowie Sp z o. o. do wystawienia faktury VAT bez mojego podpisu.

Nazwisko / Nazwa instytucji: .....

Adres: .....

Nr NIP: (koniecznie wpisać)

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Forma płatności: *PRZELEW na konto Zakładu.*

Numer konta: PEKAO S.A. MIELEC 10701568-2336-2221-0100

Dowód wpłaty lub jego ksero należy dołączyć do Protokołu odsyłanego do Laboratorium wraz z próbkami krwi