جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی چند شکلی پروتیین‌های آلکالین فسفاتاز، پیش ترانسفرین،سل استراز، کاتالاز و هموگلوبین در دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزرایران

• **فضل‌الله افراز**، موسسه تحقیقات علوم دامی
• **سعید اسماعیل‌خانیان**، موسسه تحقیقات علوم دامی
• **حمیدرضا سیدآبادی**، دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۸۳

چکیده

این تحقیق به منظور تعیین چند شکلی پنج پروتیین پلاسما و گلبول قرمز خون شامل آلکالین فسفاتاز (Alp)، پیش ترانسفرین (Ptf)، سل استراز (CEs)، کاتالاز(Cat) و هموگلوبین (Hb) دردوجمعیت اسب عرب و اسبچه خزرایران انجام شد. فراوانی ژن‌ها، متوسط هتروزیگوسیته و تعداد آلل‌های موثر هر ژنگاه، بین دو جمعیت نیز مقایسه شدند . الکتروفورز پلاسما و گلبول قرمز با استفاده از ژل نشاسته و آکریلامید انجام گرفت. از پنج ژنگاه مورد آزمایش، فقط ژنگاه Cat چند شکلی نشان داد که شامل فنوتیپ‌های FF، FS و SS بود. اختلاف فراوانی دو آلل F و S در هر دو نژاد بسیار جزیی مشاهده گردید. ژنگاه‌های Alp، Ptf، CEs و Hb به ترتیب در آلل‌های A، F، ۱ و۱ تثبیت شده بودند . متوسط هتروزیگوسیته و تعداد آلل‌های موثر در هر ژنگاه در اسبچه خزر و عرب به ترتیب ۰/۱۰۰۳، ۱/۱۹۹۸ و ۰/۰۹۷۳، ۱/۱۸۷۴ برآورد گردیدند. از اطلاعات بدست آمده می توان چنین نتیجه گرفت که اسب‌های عرب مورد بررسی آمیخته‌ای از عرب‌های‌ایرانی با نژادهای نظیر تروبرد، عرب و آنگلو عرب نمی باشند.

کلمات کلیدی: اسب عرب، اسبچه خزر، الکتروفورز، پروتیین، تنوع ژنتیک

Pajouhesh & Sazandegi No 66 pp: 33-38

Polymorphisms of alkaline phosphatase, pretransferrin, cell esterase ,catalase and hemoglubin proteins of Arab and Caspian minature, horses in Iran

By : F. Afraz, Animal Science Research Institute Karaj, Iran , S. Esmailkhanian, Animal Science Research Institute Karaj, Iran and H.R. Seydabady, Islamic Azad University, Karaj, Iran

The present research has been carried out to identify polymorphism at five blood plasma and erythrocyte proteins in Arab and Caspian minature horse population. Gene frequencies were analyzed at five loci controlling blood proteins; alkaline phosphatase (Alp) , catalase (Cat) , cell esterase (CEs), hemoglubin (Hb) and pretransferrin (Ptf). In addition , heterozygosity and effective allele numbers within each population have also been determined. Plasma and erythrocyte

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

were electrophoresed for the mentioned proteins, using starch and polyacrylamid gels . Among of five examined loci, only Cat locus showed polymorphism that phenotypes were FF, FS and SS. Allele frequency difference F and S for two populations was too slight. Alp , CEs , Hb and Ptf were fixed at A, 1, 1 and F alleles , respectively. The average heterozygosity and effective allele numbers were calculated 0.1003, 1.1998 and 0.0973, 1.1874 in Caspian minature and Arab populations, respectively. From these data it was concluded that the examined Arab horses are not cross- bred of Iranian Arab and exotic race horse such as Arab, Anglo- Arab and Thoroughbred

Key words: Arab horse, Caspian minature, Electrophoresis, Protein, Genetic diversity.

مقدمه

الکتروفورز پروتیین‌های خون اسب با استفاده از ژل نشاسته و پلی آکریلامید نشان داد که اغلب ژنگاه‌های مربوطه چند شکلی هستند (۱، ۲، ۳، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۲). آلکالین فسفاتاز به صورت دو آلل A و B در نژادهای اروپایی، تایلندی و هوکایدو و تایشو ژاپنی مشاهده گردید،که فراوانی B در مقایسه با فراوانی A بسیار کم بود (۲، ۶، ۱۴، ۱۶، ۱۸). پیش ترانسفرین به صورت سه آلل F، D و S در اکثر نژادهای آسیایی گزارش شد،که بیشترین فراوانی مربوط به آلل F بود (۱۶). سه آلل ۲، ۱ و ۳ در سیستم سل استراز پنج نژاد اسب مغولی گزارش گردید (۱۶). تاکنون هموگلوبین به صورت چند شکلی گزارش نشده است (۲، ۴، ۵، ۱۱، ۱۴، ۲۱) . چند شکلی کاتالاز تقریبا در ۴۰ نژاد مورد بررسی قرار گرفت، که آلل S فقط در دو نژاد تروبرد (Thoroughbred) و پونی هکنی (Hackney pony) تثبیت شده بود ولی بقیه نژادها دو آلل F و S را با فراوانی مناسب نشان دادند (۳، ۴، ۵، ۱۱، ۱۳، ۱۶، ۲۰).

تنوع ژنتیکی با برآورد متوسط هتروزیگوسیته و یا تعداد آلل‌های موثر در هر لوکوس، در بسیاری از نژادهای بومی و اصلاح شده جهان گزارش گردیده است (۱، ۴، ۵، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۶).

با توجه به نژادها و جمعیت‌های مختلف با ارزش در کشور، مولفین قبلاً مبادرت به تحقیق ژنتیک در خصوص چند شکلی پروتیین‌های خون دو نژاد معروف یعنی عرب و اسبچه خزر نمودند که وسیله معتبر جهت انتخاب گله با هتروزیگوسیته بالا به عنوان ذخیره ژنتیکی و رد اعقاب می باشد (۱). به منظور تکمیل این اطلاعات و تعیین دقیق‌تر ساختار ژنتیک دو نژاد مذکور، چند شکلی پروتیین‌های آلکالین فسفاتاز، بیش ترانسفرین، سل استراز، همو گلوبین و کاتالاز و نیزبرآورد میزان تنوع ژنتیکی ، از طریق الکتروفورز ژل پلی آکریلامید و نشاسته مورد تحقیق قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

اسب

نژادهای اسب، محل نمونه برداری، روش نمونه برداری، تعداد نمونه‌ها و چگونگی جدا سازی پلاسماها، قبلا ارایه گردید(۱).

الکتروفورز

چهار پروتیین ، Alp ، CEs، Hb و Cat پلاسما و گلبول‌های قرمز خون از طریق الکتروفورز ژل نشاسته آزمایش شدند .

دراین تحقیق ژل نشاسته با غلظت ۱۲٪ مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور۳۶ گرم نشاسته هیدرولیز شده را با ۳۰۰ میلی لیتر بافر ژل در داخل فلاسک ته گرد ریخته و برای حل شدن به مدت چند دقیق حرارت داده شد تا نشاسته کاملاً شفاف و چسبنده گردد . سپس توسط پمپ خلا دار به مدت ۶۰-۴۰ ثانیه هواگیری گردید . آنگاه در قالبی ۶×۱۳۰×۱۸۰ میلیمتر ریخته شد و پس از دو ساعت که ژل در محیط آزاد قرار گرفت آماده انجام الکتروفورز گردید. برای الکتروفورز هموگلوبین، سل استراز، کاتالاز از نمونه‌های گلبول خون و برای آلکالین فسفاتاز از پلاسما استفاده شد که برای هموگلوبین نمونه‌ها ۱۰ بار و برای کاتالاز ۱۰۰ بار رقیق شدند. پیش ترانسفرین از طریق الکتروفورز ژل آکریلامید آزمایش شد. ژل مربوطه بر اساس الکتروفورز ترانسفرین آماده گردید (۱).

اسامی پروتیین‌های مورد بررسی و منابع استفاده شده جهت الکتروفورز درجدول ۱ ارایه شده است . الکتروفورز با کمی اصلاح در روش‌های منابع جدول مذکور انجام پذیرفت.

محاسبه فراوانی ژن‌ها و برآورد تنوع ژنتیکی

محاسبه فراوانی ژن‌ها از روش شمارش مستقیم فنوتیپ‌ها انجام پذیرفت . تنوع ژنتیک از طریق متوسط هتروزیگوسیته در هر فرد و تعداد آلل‌های موثر هر جایگاه برآورد گردید (۱۵، ۱۶) . متوسط هتروزیگوسیته با استفاده از فرمول $\overline{H} = 2n(1-\Sigma x_i^2)/(2n-1)$ بدست آمد.

که x_i آلل i ام در یک جایگاه و n تعداد اسبان هر جمعیت و علامت بار متوسط کل جایگاههای آزمایش شده می باشد. تعداد آلل‌های موثر با استفاده فرمول $\overline{N}_e = 1/\Sigma x_i^2$ محاسبه شد.که فراوانی آلل i ام دریک جایگاه و علامت بار موسط کل جایگاه‌های آزمایش شده می باشد.

نتایج

چند شکلی پروتیین

معیار چند شکلی بودن هرژنگاه دراین پژوهش،این بود که وفور فراوان

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تریـن آلل کمتر از ۰/۹۹ باشـد. در الکتروفورز از پنج ژنگاه ارایه شـده در جدول ۱ فقط ژنگاه *Cat* به صورت چند شـکلی مشاهده شد و تغییراتی را در داخـل و بین دو نژاد نشـان داد. نمونه‌هـای الکتروفورتیک فنوتیپ‌های پروتیین‌های مشـاهده شـده و فراوانی آلل‌های محاسبه شـده دو نژاد به ترتیـب در جـدول ۲ و تصاویـر ۵-۱ ارایه گردیده اسـت . همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، دراین پژوهش برای سیستم *Cat* سه فنوتیپ FS، Ff و SS ملاحظـه گردید.گرایـش فراوانی دو آلل *F* و *S* دردو جمعیت متفاوت بود. برای سیستم Alp فقط فنوتیپ AA که به وسیله آلل *A* کنترل می شـود در دو نژاد مشـاهده گردید (شـکل ۲) . دراین پژوهش فنوتیپ ظاهرشده سیستم Ptf برای دو نژاد Ff بود (شکل ۳). CEs و Hb نیز فقط به صورت فنوتیپ ۱-۱ دردو نژاد مشاهده گردیدند(شکل‌های ۴ و ۵) .

تنوع ژنتیک هر جمعیت با استفاده از فراوانی ژن‌های پنج ژنگاه کنترل کننده پروتیین‌های مورد بررسـی برآورد و در جدول ۳ ارایه شـده اسـت. متوسـط هتروزیگوسـیته و تعداد آلل موثر در هر ژنـگاه در نژاد عرب (به ترتیب ۰/۱۰۰۳و ۱/۱۹۹۸) تقریبا مشـابه با نژاد اسـبچه خزر (به ترتیب ۰/۰۹۷۳ و ۱/۱۸۷۴) بود.

بحث

وجود بیش از ۲۰ نژاد، جمعیت و اکوتیپ اسـب در کشـور، مخصوصاً ویژگی‌های منحصر به فرد بعضی از جمعیت‌ها، منبع ژنتیکی بسیار غنی‌ای را پدید آورده است که لزوم تحقیقات ژنتیک را تایید می نماید، زیرا جهت معرفی به جهان، گزینش جمعیت‌ها برای حفظ ذخیره ژنتیک و اصلاح نژاد

جدول ۱ – اسامی پروتیین‌های آزمایش شده

پروتیین	لوکوس	منبع
آلکالین فسفاتاز	Alp	Nozawa و همکاران (۱۹۹۸)
پیش ترانسفرین	Ptf	Nozawa و همکاران (۱۹۹۸)
سل استراز	CES	Shaw و همکاران (۱۹۷۰)
کاتالاز	Cat	Kelly و همکاران (۱۹۷۱)
هموگلوبین	Hb	Nozawa و همکاران (۱۹۷۵)

جدول۲ – فراوانی آللی ۵ ژنگاه دردو نژاد اسب عرب و اسبچه خزر

ژنگاه	آلل	اسبچه خزر	اسب عرب
آلکالین فسفاتاز	A	۱	۱
	B	۰	۰
پیش ترانسفرین	D	۰	۰
	F	۱	۱
سل استراز	S	۰	۰
	1	۱	۱
	2	۰	۰
	3	۰	۰
کاتالاز	F	۰/۴۱	۰/۵۱
	S	۰/۵۹	۰/۴۹
هموگلوبین	1	۱	۱
	0	۰	۰

جدول ۳– متوسط هتروزیگوسیته و تعداد آلل موثر در دونژاد

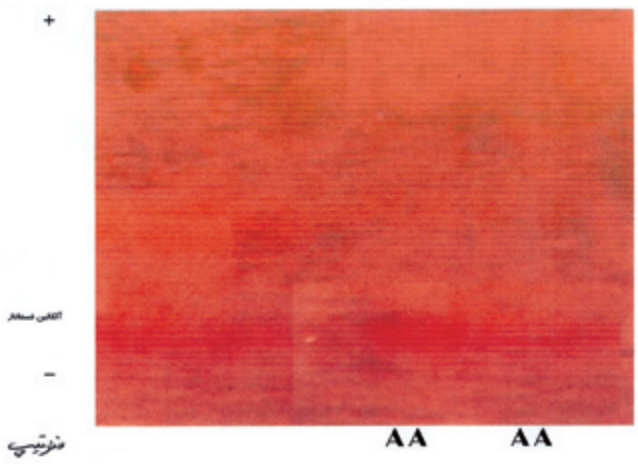
نژاد	متوسط هتروزیگوسیته	تعداد آلل موثر
اسب عرب	۰/۱۰۰۳	۱/۱۹۹۸
اسبچه خزر	۰/۰۹۷۳	۱/۱۸۷۴

شکل ۱- نمونه‌های الکتروفورتیک کاتالاز در دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزر
(عرب ۳-۱، اسبچه خزر ۷-۴)

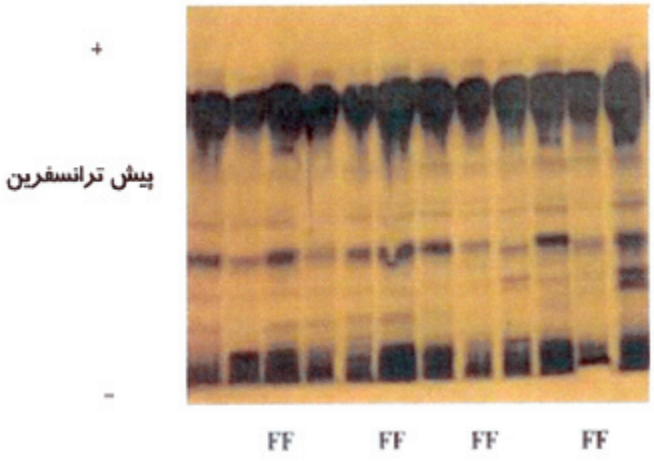
عملی در آینده مستلزم تحقق این امر است . از طرفی استقبال قابل توجه به سوار کاری و پرورش اسب در کشور سبب تلاقی‌های مختلف بعضی از جمعیت‌های معروف بومی با نژادهای اصلاح شده خارجی شده است که اطلاع از وضعیت ژنتیکی اعقاب را ضروری می سازد. دراین رابطه شناسایی چند شکلی متغیرهای بیوشیمیایی ابزار مناسب جهت تحقق آن می‌باشد.

تاکنون ۳۳ ژنگاه کنترل کننده پروتتین‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در حدود ۱۰۰ جمعیت و یا نژاد جهان مورد بررسی قرار گرفته است (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲). تعداد قابل توجه‌ای ازاین ژنگاه‌ها چند شکل بوده و بعضی از آنها نیز چند شکلی بالایی را نشان دادند و تعدادی از پروتیینها مثل Alp، Ptf، CEs و Hb به مقدار اندکی در جمعیت‌ها به صورت چند شکلی گزارش شده اند که فراوانی بعضی از آلل‌های آنها گاهی به کمی بیشتر از ۱٪ می‌رسد (۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۹، ۲۰، ۲۲). آلکالین فسفاتاز با دو آلل *A* و *B* برای اولین بار در سال ۱۹۷۲ توسط Podliachouck و همکاران گزارش گردید (۱۹) . سال‌ها بعد، در سال ۱۹۹۸ Nozawa و همکاران این آنزیم را در ۳۴ نژاد مورد بررسی قرار دادند که فقط در نژادهای تایلندی، هوکایدو و تایشو ژاپنی، پونی اروپایی ولش و در نژادهای اصلاح شده نظیر عرب، انگلو عرب و تروبرد به صورت چند شکلی مشاهده گردید و فراوانی آلل *B* در مقایسه با آلل *A* بسیار اندک بود(۱۶) . پژوهش حاضر نشان داد که آلل A در هر دو نژاد عرب و اسبچه خزر مثل سایر نژادها نظیر اسب‌های بومی مغولستان، چین، اندونزی و اسب‌های سنگین اروپایی تثبیت شده می باشد (۶، ۱۴، ۱۶) . آلل‌های گزارش شده پروتیین پیش ترانسفرین در نژادهای مختلف اسب D،F و S می باشد که در عرب و آنگلو عرب فقط آلل‌هایF و S پدیدار شدندو فراوانی آلل S نیز بسیار اندک بود (۱۶). تثبیت شدن آلل F در نژادعرب در پژوهش حاضر مشابه وضعیت آن در اسب‌های اندونزی و اسب‌های سنگین اروپا می باشد (۱۶). در تحقیقاتی که برای سیستم CEs در نژادهای مختلف اسب انجام پذیرفت، سه آلل 1، 2 و 3 مشاهده گردید،که فراوانی آلل I در اسب عرب بیشتر از بقیه آلل‌ها بود، ولی در تحقیقات مربوط به پونی‌ها فقط آلل ۱ مشاهده گردید (۱۶). اطلاعات بدست آمده ازاین پژوهش هماهنگ با نتایجی است که در سال ۱۹۹۸ توسط Nozawa و همکاران برای تعداد زیادی از نژادهای آسیایی گزارش شده است (۱۶) .

آلل I سیستم CEs در تعداد زیادی از نژادهای آسیایی و اروپایی تثبیت شده است (۴، ۵، ۶، ۷، ۱۶). دراین تحقیق نیز چنین وضعیتی برای دو



شکل ۲- نمونه‌های الکتروفورتیک آلکالین فسفاتاز در
دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزر
(عرب ۴-۱، اسبچه خزر ۸-۵)

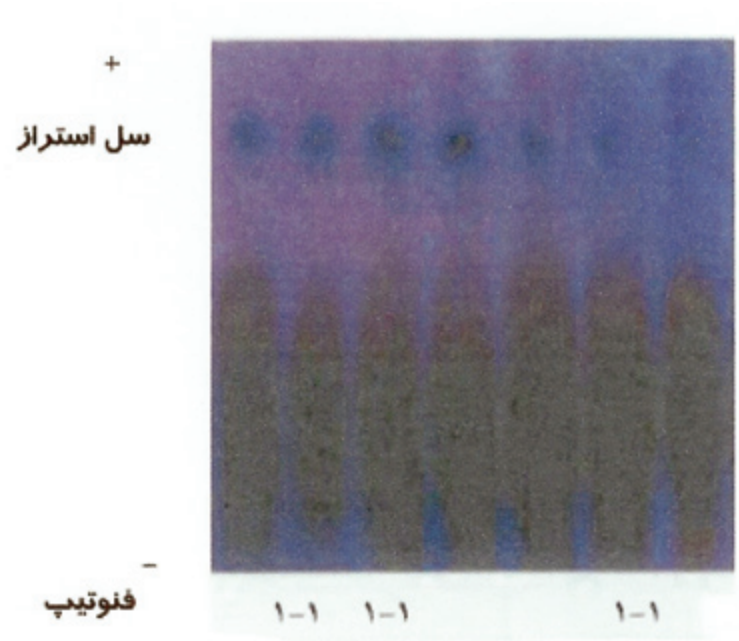


شکل ۳- نمونه‌های الکتروفورتیک پیش ترانسفرین
در دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزر
(عرب ۵-۱، اسبچه خزر ۱۱-۶)

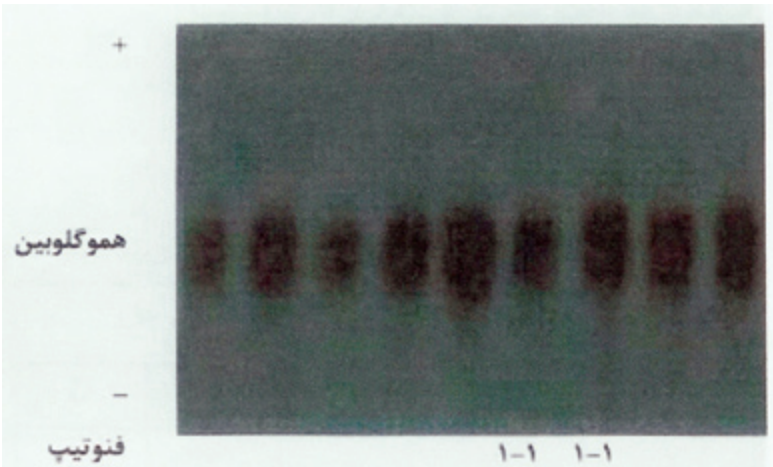
نژاد مورد بررسی یعنی عرب و اسبچه خزر مشاهده گردید. در پژوهش حاضر برای سیستم Hb همانند پژوهش‌های محققان دیگر فقط آلل I مشاهده شد (۲، ۴، ۵، ۱۱، ۱۴، ۲۱). اولین گزارش مربوط به چند شکلی Cat در سال ۱۹۷۱ توسط Kelly و همکاران ارایه گردید (۱۳) . آنها با الکتروفورز گلبول‌های قرمز در ژل نشاسته (pH= ۸ دو آلل همبارز را در اسب‌های کوارتر (Quarter)، تروبرد (Thoroughbred) و Shetland پیدا نمودند. در سال ۱۹۷۲ Schleger و همکاران نیز این دو آلل را در اسب‌های اطریشی پیدا نمودند (۲۰). در سال ۱۹۹۰ Bowling و همکاران تنوع Cat را در ۲۷ نژاد اسب اهلی و ۷ جمعیت اسب وحشی بررسی نمودند (۳). آنها نیز دو آلل مشاهده نمودند که آلل S فراوان ترین آلل در همه جمعیت‌ها بود. از طرفی‌این دوآلل یعنی F و S در ۲۶ نژاد آسیایی (شرق، جنوب شرقی و جنوب) دارای فراوانی متعادل بودند، هرچند که گرایش فراوانی دو آلل مذکور در همه جمعیت‌ها یکسان مشاهده نگردید (۱۶). فراوانی دو آلل F و S در دو جمعیت عرب و خزر نیز متفاوت بود ولی کلاً از نظر میزان فراوانی با اکثر نژادهای آسیایی مشابهت داشتند. نکته قابل توجه‌اینکه فراوانی آلل S در بومی‌های اروپایی گرایش افزایشی نشان داد بطوری که در پونی هکنی تثبیت شده بود یعنی وضعیت متفاوتی را با خزر داشت، در حالیکه آلل‌های F و S در اسب‌های باری (Draft horse) پرچرن (Perchron) و برتن (Breton) فراوانی مشابه با فراوانی‌این آلل‌ها در خزر داشتند (۳، ۱۶، ۱۹). بنابراین تحقیق نیاز به بررسی دقیق تر از طریق تجزیه DNA دارد. فراوانی آلل S در اسب‌های مسابقه یعنی عرب، آنگلو عرب بسیار اندک گزارش گردید که میل به تثبیت شدن دارد و در تروبرد تثبیت شده است(۳، ۱۶، ۲۰) که از این نظر کاملاً متفاوت با عرب ایرانی می‌باشد.

برآورد متوسط هتروزیگوسیته (*H*) معیار مناسبی برای معرفی تنوع ژنتیک در داخل جمعیت یا نژاد می باشد (۱۵). متوسط هتروزیگوسیته و تعداد آلل‌های موثر هر لوکوس در دو جمعیت مورد بررسی نسبتاً پایین بود که دلیل عمده آن تثبیت شدن چهار لوکوس Alp ، CEs، Ptf و Hb در یکی از آلل‌های مربوط به خودشان می باشد، ولی میزان برآورد شده مشابه هتروزیگوسیته بسیاری از نژادهای بومی آسیایی می باشد (۱۶)، هرچند که در صورت افزودن اطلاعات سایر لوکوس‌ها، متوسط هتروزیگوسیته افزایش خواهد یافت (۱) .

نتایج این پژوهش نشان داد که I- کاتالاز در هر دو جمعیت از فراوانی مطلوبی برخوردار می باشد، لذا می تواند در تعیین آزمون انساب مورد استفاده قرار گیرد. II- اسب‌های عرب‌ایرانی بررسی شده فاقد خون‌های اسب‌های مسابقه نظیر تروبرد، عرب و آنگلو عرب می باشند.



شکل ۴- نمونه‌های الکتروفورتیک سل استراز در دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزر (عرب ۳-۱، اسبچه خزر ۶-۴)



شکل ۵ - نمونه‌های الکتروفورتیک هموگلوبین در دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزر (عرب ۴-۱، اسبچه خزر ۸-۵)

سپاسگزاری

از سرکار خانم فیروز و آقایان دکتر میریان، دکتر درداری و دکتر امینی به خاطر همکاری صمیمانه در تهیه نمونه‌های خون سپاسگزاری می گردد. ونیز از آقای مهندس یوسف نیا که با در اختیار گذاشتن شجره نامه اسب‌های عرب و تهیه نمونه‌ها ما را در انجام‌این پژوهش یاری نمودهاند صمیمانه قدردانی می شود. از آقای مهندس صدیقی که در امور کامپیوتر و امور گرافیک همکاری صمیمانه داشته اند از صمیم قلب سپاسگزاری می گردد.

منابع مورد استفاده

۱- افراز، ف.، س. اسماعیل خانیان، ا. رستگاری و ف. امینی، ۱۳۸۱. بررسی نشانگرهای ژنتیکی

خون در جمعیت‌های مختلف اسـبان‌ایران : چند شـکلی پروتیین‌هـای آلبومین، فراآلبومین، اسـتراز، ترانسفرین دردوجمعیت اسب عرب و اسبچه خزرایران . مجله پ و س، شماره ۵۴: ۴۰ – ۴۴.

2-Bowling, A.T. and R.S. Clark, 1985; Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horse in The United States. Anim. Blood Grps.and Biochem.Genet.,16:93-108.

3-Bowling , A.T., L. Gordon, M.C.T. Penedo, E. Wietum and J. Beebout .1990; A single gel for determing genetic variations of equine erythrocyte carbonic anhydrase (CA) and catalase (Cat). Anim. Genet., 21:191-197.

4-Cholewinski, G., B. Gralak, E.G. Cothran, and E. Iwanczyk, .2002; Genetic diversity of two rare horse breeds from Poland. Proc. 28 th ISAG Conf. Germany, P.90

5-Cothran, E. G., 2002; Genetic diversity in feral horse and burro populations. Proc. 28 th ISAG Conf. Germany, P.92.

6-Cothran, E.G. and M. Kovac, 1997; Genetic.analysis of the Croatian.Trakehner and Posavina horse breeds. Zivocisna Vyroba, 42:207-212. 7-Cothran, E.G., S.A. Santos, M.C.M. Mazza, T.L. Lear, J.R.B.Sereno,1998; Genetics of the Pantanerio horse of the Pantanal region of Brazil. Genetic and Mol., Bio., 21:343 – 349.

8-Cothran E. G., E. van Dyk. 1998; Genetic analysis of three South African horse breeds. J. S. Afr. Vet. Association, 69:120-125.

9-Cuninngham, P., 1991; The genetics of Thoroughbred horses.Sci . Am ., 246:92 98

10-Diaz, S., F.N. Dulout and P. Peral- Garcia, 2002; Greater genetic variability in Argentine Creole than in Thoroughbrd horses based on serum protein polymorphisms.Genet. Mol. Res. 1(3):261-265.

11-Ertugrul , O., B. Akyuz., and A. Kopar, 2002; Blood protein polymorphism in some native horse types in Turkey. Proc. 28 th ISAG Conf. Germany, P.94.

12-Juras, R., E.G. Cothran, R. Klimas, 2003; Genetic analysis of three Lithuaian native horse breeds. Acta Agri. Scan., 53:180-186.

13-Kelly, E.p., C. Stormont, and Y. Suzuki, 1971; Catalase polymorphism in the red cells of horses. Anim. Blood Grps and Biochem. Genet. , 2:135-143.

14-Lubas. G., and G. Groce, 1980; Study of enzymes and Iso. enzymes in the horse according to breeds apititude and productive ability . Annali Della facolta Di Medicina Veterinaria Dispisa. 33:159-173

15-Nei, M., 1978; Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genet., 89: 583-590.

16-Nozawa, K., T. Shotake, S. Ito and Y. Kawamodo, 1998. Phylogenetic relationship among Japanese native and alien horses estimated by protein polymorphisms. J. Eqiuine Sci., 9: 53-69

17- Nozawa, K., T.Shotake, and Y.Ohkura, 1975.Blood protein variations within and between the East Asian and European horse populations. Trerzuchty ziichtysivl.q3: 60-74.

18-Ouragh, L., Je. Meriau, JP. Braun, 1994; Genetic blood markers in Arabian , Barb and Arab- Barb horse in Moracco. Anim. Genet., 25:45-47.

19-Podliachouck, L., H. Balbierz, M. Kaminski, M. Nikalajczuk, and A. Strzelecka, 1972. Immunogenetic study of the Mur-Island horses. Proc. 12th European Conf. Anim. Blood Grps and Biochem. Polymorphysm. Budapest, PP. 533-536.

20-Schleger, W., P. Kramser and E. Dworak, 1972; Catalase and ceruloplasmin polymorphism in three Austrian horse breeds. Anim. Blood Grps and Biochem. Genet. ,3(Suppl.1):48.

21-Shaw, C.R., and R. Prasad, 1970; Starch gel electrophoresis of enzymes a compilatin of recipes. Biochem. Genet. , 4:297-320.

22-Uzun, M.,A.Karkhane, A.Kopar, 2001; Study of eight blood protein polymorphic system in Arabic horses from Turkey Rus.J.Genet. 37:1403 – 1408.