

DEBRECENI EGYETEM
AGRÁRTUDOMÁNYI CENTRUM
MEZŐGAZDASÁGTUDOMÁNYI KAR
ÁLLATTENYÉSZTÉSTUDOMÁNYI TANSZÉK

ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola Vezető: Dr. Kovács András MTA doktora

Témavezető:

Dr. habil Mihók Sándor

Mezőgazdasági tudományok kandidátusa

Dr. Hidas András

Mezőgazdasági tudományok kandidátusa

**„DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI”
GENETIKAI VARIABILITÁS VIZSGÁLATA RÉGHONOSULT MAGYAR
LÚDÁLLOMÁNYOKBAN MIKROSZATELLITEKKEL**

Készítette:

**Aliczki Katalin Kornélia
doktorjelölt**

**Debrecen
2007**

I. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI

Az utolsó három évszázadban bekövetkezett, a világ képét tartósan megváltoztató ipari fejlődés, a mezőgazdaságot sem kerülte el. A mezőgazdasági termékek kereskedelmi méretű előállítására nagyobb termelési szükségességhez vezetett. A szelekció kizárólag a nagy teljesítményű fajták kialakítására irányult. A specializált fajták megjelenése a régi, hagyományos fajták fennmaradását veszélyeztetni kezdte. Ez a jelenség különösen a haszonbaromfi-tenyésztés területén volt észlelhető, ahol a nagyfokú specializáció miatt, ma már egyre homogénebb és szűkebb genetikai állomány áll rendelkezésre. (SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 2000).

Magyarország mindig is élen járt az őshonos és réghonosult háziállatfajták fenntartásában. Erre irányuló törekvések már az 1960-as években megkezdődtek. A magyarországi hivatalos **génmegőrzési programok** eleinte csupán a létszámfenntartásra szorítkoztak és csak napjainkban került sor a ritka, értékes genotípusok elszaporítására, valamint a génváltozatok gyakoriságának, a genotípusok távolságbecslésének tudományos feltárására.

A **Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum Mezőgazdaságtudományi Kar Állattenyésztés- és Takarmányozástani Tanszékének** koordinálásával, Széchenyi-kutatási program keretében, kutató konzorcium alakult (MIHÓK, 2006). A Bodó Imre vezetésével elnyert pályázat többek között, molekuláris genetikai módszerekkel a régi háziállatfajtáinkban rejlő genetikai variancia felmérésére irányult. A program egyik célja molekuláris genetikai markerek segítségével, a még élő **génrezerv állatok genetikai variabilitásának meghatározása** volt.

Hazánkban a lúdárú-termelésnek és lúdtartásnak évszázados múltja és hagyománya van. Ennek következtében, a lúdtartásban és lúdtermékek előállításában a világelsők közé tartozunk (BOGENFÜRST, 2000). Már a 19. században jelentős export került a környező országokba tollból és élőállatból. Ezt a hírnevet a parlagi lúdféleségek fehér-tollú állományaiból kialakult magyar lúd termékeivel alapoztuk meg. Két változata, a ***sim*** és a ***fodrostollú magyar lúd***, az 1800-as évek elején jelent meg az Alföld vizenyős berkeiben (MIHÓK, 2000). A fodros- és simatollú magyar ludat a 32/2004 (IV.19.) OGY határozat

nyilvánította nemzeti kincsé. Bár származásáról még mindig megoszlanak a vélemények legtöbben „hazánk különlegességeként“ tartják számon.

Ez a dolgozat – a Széchenyi-terv: „Hagyományos állatfajták genetikai és gazdasági értékeinek tudományos feltárása“ című pályázat részeként – az ország határain kívül és belül fellelhető sima és fodrostollú állományok felkutatására, a populációkon belüli genetikai variabilitás meghatározására és a populációk közötti genetikai távolság becslésére irányult molekuláris genetikai markerek segítségével.

II. A KUTATÁS CÉLKITŰZÉSEI

I. A lúdágazat, gazdasági okokra visszavezethető, világviszonylatban történő visszaszorulása, nem csak a lúd tartását és tenyésztését érintette. Sajnos, a lúddal kapcsolatos kutatások is háttérbe szorultak az utóbbi időben. Ezért, bár a legtöbb haszonállat (ló, sertés, szarvasmarha, juh, tyúk) számos karakterizált mikroszatellittel - sőt populációgenetikai vizsgálatnál alkalmazható, kidolgozott mikroszatellitszettel - rendelkezik, a domesztikált lúd (*Anser anser domesticus*) esetében egyáltalán nem állnak rendelkezésre mikroszatellitek. Így elsődleges célom volt, különböző fajokból (tőkés récéből (*Anas platyrhynchos*), pehely récéből (*Somateria mollissima*), kanadai lúdból (*Branta canadensis*)) kiválasztott,

- mikroszatellitek domesztikált lúdba történő **adaptálása**,
- a mikroszatellit primerek vizsgálatainkhoz történő **optimalizálása**,
- és a domesztikált lúdban detektálható mikroszatellitek **karakterizálása**.

II. Másik célom volt, az adaptálható mikroszatellitekkel, a származási dokumentációval nem rendelkező, magyar lúd fajtának mondott sima és fodrostollú

- állományok **genetikai variabilitásának** a meghatározása és
- a csoportok között a **genetikai távolság** becslése.

Kontrollként egy vadon élő lúd fajt és egy domesztikált fajtát választottam. Az előbbi a házilúd őse, a nyári lúd (*Anser anser*) volt. Az utóbbi, az 1900-as években Magyarországra került, emdeni lúd volt. Mivel e német fajta, magyar lúddal történő keresztezését több, az előző századból származó írásos dokumentum is rögzítette (pl.: HANKÓ, 1940), vizsgáltam a **magyar lúd és az emdeni lúd közötti genetikai kapcsolatot** is.

III. A KUTATÁS MÓDSZEREI

A vizsgálathoz összesen 14 különböző helyről származó, egymással genetikai kapcsolatban nem álló lúdcsoport, 329 lúdjából vettünk vérmintát. A **vérvétel** a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum Mezőgazdaságtudományi Kar Állattenyésztés- és Takarmányozástani Tanszék irányításával történt. Az állományok Magyarország és Erdély (Románia) területéről származtak. Kontrollként egy 64 egyedből álló emdeni, illetve egy 21 egyedből álló nyári lúd populációt választottunk. Az utóbbi megtisztított DNS mintáit a Bécsi Állatorvosi Egyetem bocsátotta rendelkezésre. Az 1. ábra egy térképet mutat be a populációk származási helyéről.

1. ábra

A vizsgált állományok származási helyei



Fodrostollúak: 1. = fodros1 (n=64), 2. = fodros2 (n=24), 3. = fodros3 (n=7), 4. = fodros4 (n=10), 5. = fodros5 (n=12), 6. = fodros6 (n=11), 7. = fodros7 (n=6), 8. = fodros8 (n=7),

Símatollúak: 9. = orosházi (n=8), 10. = orosházi x fodros (n=21), 11. = parlagi (n=9), 12. = babati1 (n=64), 13. = babati2 (n=23), 14. = emdeni (n=63), 15. = nyári lúd (n=21)

A mintagyűjtésnél a legfontosabb szempont a vér alvadásának megakadályozása volt, mert az általam használt **DNS tisztítási** módszer nem alkalmas alvadt vérből a DNS izolálására. A DNS minták preparálását NAGY (2002) módszere alapján végeztem. A DNS tisztítás eredményességét és a DNS mennyiség szemikvantitatív becslését, **agarózgél-elektroforézissel** állapítottam meg.

A **mikroszatellitek** olyan genetikai markerek, amelyek hatékony eszközei a genetikai térképek készítésének, származásellenőrzési vizsgálatoknak, populációgenetikai elemzéseknek, polimorfizmusok kimutatásának vagy a fajok, fajták, állományok közötti összehasonlításoknak. A baromfifajok esetében a genetikai markerek száma korlátozott. Különösen érvényes ez a házasított víziszárnyasokra és a vad vízimadár fajokra, amelyek esetében, a mikroszatellit markerek nagyon behatároltan állnak rendelkezésre (MAAK, 2000). A mikroszatellitek azonosítása és jellemzése fölöttébb költséges és időigényes, így a markerek interspecifikus adaptációjával kapcsolatos tanulmányoknak - mint amilyen ez is - nagy jelentőségük van (REED és mtsai., 2000). A vizsgálatban összesen, 23 mikroszatellit (*1. táblázat*) adaptálásával próbálkoztam.

A mikroszatellit markerek kimutatásához általánosan használt módszer a **polimeráz-láncreakció (PCR)**. A polimeráz-láncreakció lehetővé teszi bármilyen eredetű DNS tetszőleges szakaszának, gyors, in vitro felszaporítását az eredetileg jelenlevő mennyiség sok ezerszeresére. Az alkalmazás előfeltétele, hogy a kérdéses szakasz két végén, 10-20 nukleotid sorrendje ismert legyen (MULLIS és mtsai., 1986).

Mivel az alkalmazott primereket más állatfajokból adaptáltam, alkalmazásuk előtt a vizsgált állatokban való működésükről meg kellett győződnöm. Ehhez a PCR körülményeket optimalizálnom kellett. A reakció optimalizálásának folyamán megállapítottam, az általam vizsgált állatokban a primerek feltapadásának hőmérsékletét, illetve meghatároztam a PCR ciklusok számát. Ennek érdekében, minden mikroszatellit esetében teszt PCR-t készítettem. Az *1. táblázat* a mikroszatellitek nevét, származását, feltapadási hőmérsékletét és ciklusszámát mutatja be az optimalizálás előtt és után. A működő primereket a táblázatban kiemeltem.

1. táblázat

A vizsgált mikroszatellitek

No.	Mikroszatellit	Származása	Feltapadási hőmérséklet	PCR-ciklusszám	Referencia
1.	Smo1	Pehely réce	54 °C	38	1.
2.	Smo4	Pehely réce	55 °C	38	1.
3.	Smo6	Pehely réce	65 °C	38	1.
4.	Smo7	Pehely réce	60 °C	38 → 29	1.
5.	Smo8	Pehely réce	54 °C	38	1.
6.	Smo9	Pehely réce	61 °C	38	1.
7.	Smo10	Pehely réce	50 °C	38	1.
8.	Smo11	Pehely réce	61 °C	38	1.
9.	Smo12	Pehely réce	49 °C	38 → 29	1.
10.	Smo13	Pehely réce	65 °C	38	1.
11.	APH02	Tőkés réce	62 °C	29	2.
12.	APH08	Tőkés réce	58 °C	29	2.
13.	APH12	Tőkés réce	52 °C	30	2.
14.	APH13	Tőkés réce	52 °C	30	2.
15.	APH16	Tőkés réce	52 °C	29	2.
16.	TTUG-1	Kanadai lúd	55 °C	35 → 30	3.
17.	TTUG-2	Kanadai lúd	55 °C	35 → 30	3.
18.	TTUG-3	Kanadai lúd	53 °C	35	3.
19.	TTUG-4	Kanadai lúd	55 °C	35	3.
20.	TTUG-5	Kanadai lúd	59 °C	35 → 27	3.
21.	Bcau1	Kanadai lúd	56 °C → 57 °C	27	4.
22.	Bcau3	Kanadai lúd	56 °C → 57 °C	27	4.
23.	Bcau9	Kanadai lúd	56 °C	26	4.

1.= PAULUS és TIEDEMANN (2003), 2.= MAAK és mtsai. (2003) , 3= CATHEY és mtsai. (1998), 4.=BUCHHOLZ és mtsai.(1998)

A fragmenthosszt lézerrel rendelkező kapilláris elektroforézis segítségével állapítottam meg. Ehhez *ABI Prism™ 3100 genetikai analizáló* készülék (Applied Biosystems, Bécs) állt rendelkezésemre. Az *ABI Prism™ 3100 genetikai analizáló*, egy

olyan kapilláris elektroforézissel rendelkező automata fragmentizáló készülék, amellyel lehetséges egy adott DNS szakasz hosszának vagy bázis sorrendjének a megállapítása.

A tipizálás kiértékeléséhez *GeneScan*® 2.1. és *Genotyper*® 2.1. (Applied Biosystems, Béc) szoftverprogramokat használtam. A *GeneScan*® 2.1. a kapilláris elektroforézis által felvett nyers adatokból határozta meg a detektált DNS fragmentek hosszát a hosszstandardnak megfelelően. A *Genotyper*® 2.1. ezeket a fragmenthosszakat rendelte hozzá a definiált allélekhez. A meghatározott alléleket minden állat esetében egy *Microsoft*® *Excel* táblázatba gyűjtöttem. A minden egyes állatra és DNS mikroszatellitmarkerra kapott genotípus-mátrix adta a további kiértékelés alapját.

A populációk genetikai diverzitását az allélok száma és megoszlása alapján becsültem meg. Minél több allél fordul elő egy populációban és minél egyenletesebb eloszlásban, annál változatosabbnak mondható az adott állomány. Az **allélok számát** és **gyakoriságát** lokuszonként (EWENS 1972; KIMURA és OHTA 1975) az *MSA 4.00* szoftverprogram (DIERINGER és SCHLÖTTERER, 2003) segítségével határoztam meg.

A **várt** (H_e = expected heterozygosity) és **valós heterozigotitás** (H_o = observed heterozygosity) - ami a heterozigóták részarányát jelenti a populációban - is alkalmas a genetikai változatosság kimutatására. A várt heterozigotitást az allélgyakoriságból számoltam ki. A valós heterozigotitást a populációban ténylegesen megfigyelhető heterozigóta állatok száma alapján állapítottam meg. Ezeket az értékeket szintén az *MSA4.00* szoftverprogram (DIERINGER és SCHLÖTTERER, 2003) segítségével kaptam meg.

Egy marker polimorfizmusfokának és információtartalmának meghatározására alkalmas a **PIC-érték** (Polymorphic information content = PIC). Ez az allélok számán, illetve azok gyakoriságán alapszik (BOTSTEIN és mtsai., 1980). A PIC-értékeket *MSA4.00* (DIERINGER és SCHLÖTTERER, 2002) szoftverprogrammal számítottam ki.

Adott lokusz allélgyakoriságának ismeretében megvizsgáltam, hogy érvényesül-e a **Hardy-Weinberg egyensúly (HWE)**. A Hardy-Weinberg egyensúlytól való szignifikáns eltérés esetén feltételezhető, hogy a vizsgált lokuszra nézve, a populáció nem ideális, pl. a párosodás nem véletlenszerű (aszortatív párosodás), az egyedek száma nagyon kicsi (genetikai sodródás), vagy a zigóták életben maradási esélye attól is függ, hogy a lokusz

mely allélját hordozzák (szelekció). Fischer-féle exakt teszttel (FISHER, 1922) minden egyes lokuszra, illetve azok összességére meghatároztam, hogy érvényesül-e a Hardy-Weinberg egyensúly a populációkban. Ezt *Genepop v.3.4d.* (RAYMOND és ROUSSET, 1995) szoftverprogram segítségével végeztem.

Minden populációban vizsgáltam a **privát allélek** előfordulását és gyakoriságát. Privát allélnak azokat az alléleket nevezzük, amelyek csak egy adott populációban azonosíthatók. A privát alléleket az *MSA 4.00* (DIERINGER és SCHLÖTTERER, 2002) szoftverprogrammal határoztam meg.

Az **F-statisztika** értékei F_{is} , F_{it} és F_{st} , fixációs indexekből állnak. A három értékkel, a strukturált populációk közötti genetikai differencia megbecsülhető és a heterozigóta veszteség meghatározható (HARTL és mtsai, 1997). Az F-statisztika értékeit WEIR és mtsai (1984) alapján az *MSA 4.00* (DIERINGER és SCHLÖTTERER, 2002) szoftverprogram segítségével számítottam ki. Az F_{st} -t egyrészt minden lokuszra és lúdcsoportra nézve, átlagolva megállapítottam, másrészt az egyes populációkat párosával összehasonlítottam. Így az F_{st} értékekkel, az általunk vizsgált állományok közötti genetikai távolságot is meghatároztam.

A tizenöt lúdcsoport közötti **genetikai hasonlóságot/különbséget** a Nei-féle (NEI, 1978) és a közös allélek alapján számolt genetikai távolság értékek (“proportion of shared alleles“ = POSA) (BOWCOCK és mtsai, 1994) alapján számszerűsítettem. A számolásnál szintén az *MSA 4.00* (DIERINGER és SCHLÖTTERER, 2003) szoftvercsomagot alkalmaztam.

A genetikai távolság szemléltetésére alkalmas a **filogenetikai fa**. A populációk filogenetikai fáját, azaz a dendrogramját, a közös allélek alapján számolt genetikai távolságoknak (POSA) megfelelően szerkesztettem. A filogenetikai fa a “szomszéd összekapcsolás” (Neighbor-Joining)-eljárás (SAITOU és NEI, 1987) alapján készült. A dendrogram szerkesztésénél a *Phylip* (FELSENSTEIN, 1993), a megjelenítésnél pedig a *TreeViewPPC' v.1.6.5.* (PAGE, 1996) szoftverprogramokat használtam.

IV. AZ ÉRTEKEZÉS FŐBB MEGÁLLAPÍTÁSAI

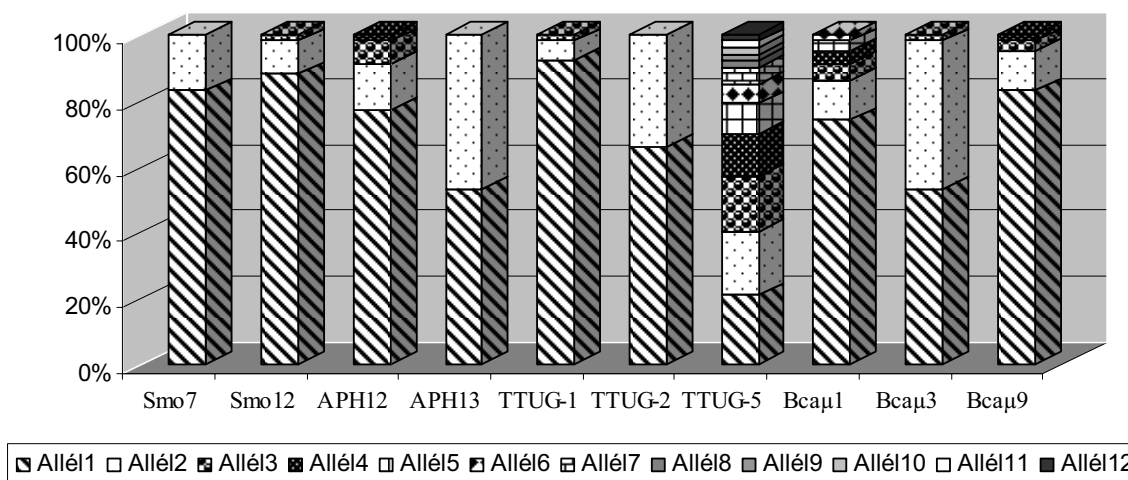
Mikroszatellit adaptálás eredményei

A disszertáció alapját képező populációgenetikai vizsgálatok elvégzéséhez elengedhetetlenül fontos volt, a tőkés réce (*Anas platyrhynchos*), pehely réce (*Somateria mollissima*) és kanadai lúd (*Branta canadensis*) mikroszatellitek adaptálása a domesztikált és nyári lúd fajokba. A polimeráz lánc reakció megfelelő körülményeinek meghatározásával, a 23 vizsgált mikroszatellitből tizennégyet (61%) sikeresen adaptáltam a vizsgált magyar és emdeni lúdfajtákba, valamint ezek vadon élő ősébe, a nyári lúdba. A tíz pehely réce mikroszatellitből ötöt (50%), az öt tőkés réce mikroszatellitből hármat (60%) és a nyolc kanadai lúd mikroszatellitből hatot (75%) azonosítottam a nyári és házilúdban.

A tizennégyből tíz mikroszatellit bizonyult polimorfnak (71 %) és négy monomorfnak (29 %). A domesztikált lúd populációkban az allélszám 2-12 között alakult. A tizenhárom magyar lúd csoport 277 egyedénél 2-9 közötti allélszámot (átlagban 3,7) állapítottam meg. Az emdeni lúd csapatban 3,2-es átlagos allélszám mellett, 2-8 allélt találtam a vizsgált tíz lokuszon. A nyári lúd populációban két mikroszatellit bizonyult monomorfnak, az allélszám 1-10 között alakult. A lokuszonkénti allélszámból meghatároztam az allélgyakoriságokat, amit a 2. ábra szemléltet.

2. ábra

A polimorf lokuszok alléljainak gyakorisága



Az allélgyakoriságok alapján kiszámítottam a polimorf mikroszatellitek várt és valós heterozigotitás értékeit, a populációk átlagában. A lokuszok várt heterozigotitása 3-78%, valós heterozigotitása 1-72% között alakult. Mivel a mikroszatellit lokuszok korábban nem voltak populációgenetikai tanulmányokban használva a vizsgált fajoknál, minden lokusznak meghatároztam a PIC-értékét (Polymorphism Information Content). Az értékek 0,42 és 0,83 között alakultak. A polimorf mikroszatellitek allélszámát, heterozigotitását, PIC-értékeit lokuszonként foglalja össze a 2. táblázat.

2.táblázat

Mikroszatellitek jellemzői

Mikroszatellit	Allélszám	Heterozigotitás	PIC
Smo7	2	29%	0,25
Smo12	2	9%	0,17
APH12	4	31%	0,35
APH13	2	38%	0,37
TTUG-1	3	1%	0,12
TTUG-2	2	39%	0,34
TTUG-5	12	72%	0,83
Bcaμ1	6	40%	0,40
Bcaμ3	3	47%	0,39
Bcaμ9	4	30%	0,28

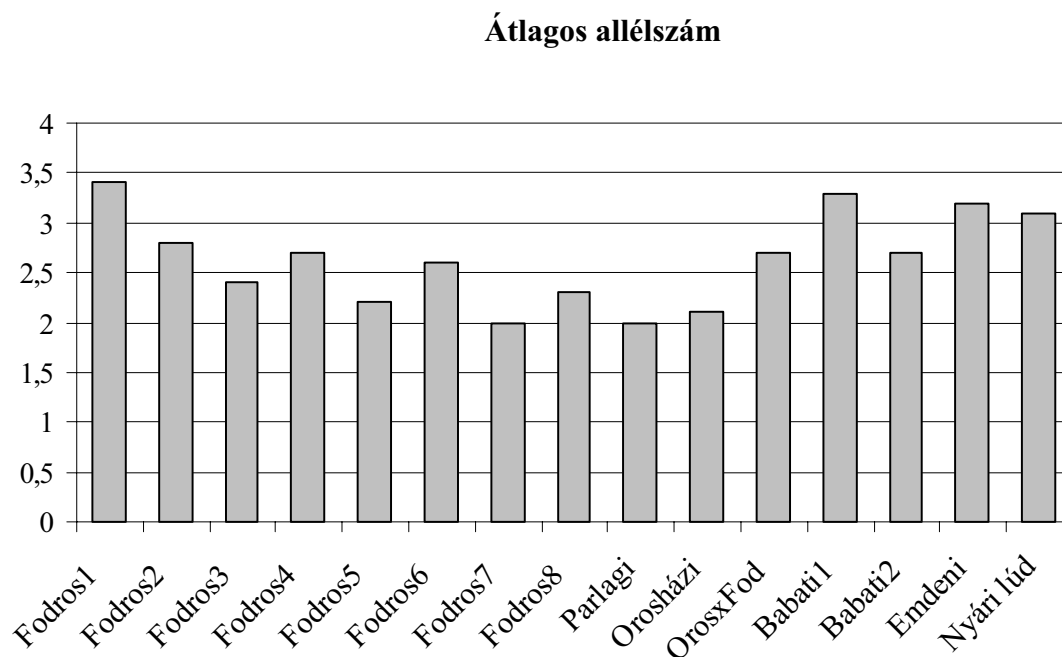
A nagyobb heterozigotitás gyakran a mikroszatellitek magas allélszámával van összefüggésben (BOWCOCK és mtsai 1994, YANG és mtsai 1999), ezért WIMMERS és mtsai., (2000) elvetik a kizárólag nagy variabilitású markerek használatát a populációgenetikai tanulmányokban. Ennek oka, hogy a magas polimorfizmusú mikroszatellitek, az eredményeket torzíthatják, mivel a populációk heterozigotitása könnyen túlbecsülhető (WIMMERS és mtsai, 2000).

A heterozigotitás megbízhatóbb becsléséhez kutatómunkám során, különböző variabilitású mikroszatelliteket használtam.

A vizsgált populációk genetikai diverzitása

A tizenöt populációban összesen 40 különböző allélt találtam a tíz lokuszon. Az allélok átlaga a vizsgált csoportok összességében 2,6 lett. A populációk átlagos allélszámát a 3. ábra mutatja be.

3. ábra

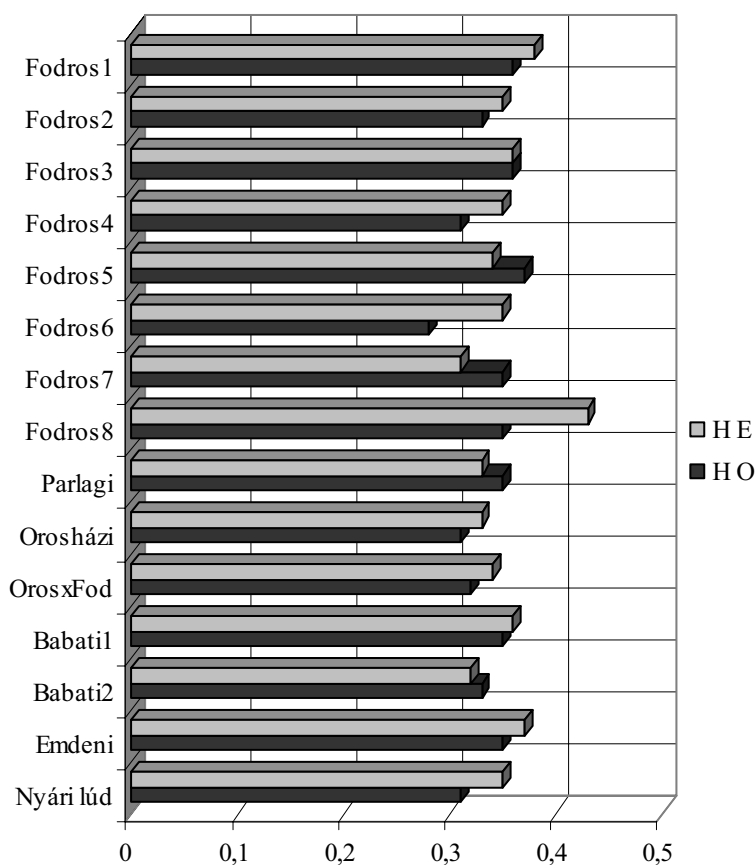


A legtöbb allél (3,4) a fodros1, a legkevesebb (2) a parlagi és fodros7 populációkban fordult elő. Három alatti átlagos allélszámot találtam a fodros2 (2,8), fodros3 (2,4), fodros4 (2,7), fodros5 (2,2), fodros6 (2,6), fodros8 (2,3), orosházi (2,1), orosházi x fodros (2,7) és babati2 (2,7) jelű mintákban. A babati1 populációban 3,3, az emdeniben 3,2 volt az átlagos allélszám. A vadlúd csapatban 3,1 allélt határoztam meg a tíz mikroszatellit átlagában.

Egy populáció genetikai variabilitásáról az alléldiverzitás mellett a populáción belüli heterozigotitás ad felvilágosítást. A várt és valós heterozigotitási értékeket populációnként a 4. ábra mutatja be.

4. ábra

A populációk heterozigotizása



A populációk heterozigotizása között nem mutatkozott számottevő különbség. A legnagyobb heterozigotizás 37% (fodros5), a legkisebb heterozigotizás 26% (fodros6) lett. Három populáció (fodros1, fodros6, fodros8) tért el a Hardy-Weinberg egyensúlytól, ami a csoportokon belül a homozigóta egyedek túlsúlyára utalt. Három fodrostollú (fodros3, fodros5, fodros7), két simatollú (orosházi, parlagi) és a keresztezett (orosházi x fodros) állományoknál az alacsony allélszám és a viszonylag magas heterozigotizációs értékek alapján feltételezhető, hogy a palacknyak jelenség kezdeti stádiumában vannak. Két fodrostollú (fodros2, és fodros4) és két simatollú magyar (babati1, babati2) lúdcsapatban átlag feletti (2,6) volt az allélszám és a heterozigotizás, HWE-től nem tapasztaltam eltérést. A kontrollként használt emdeni és nyári ludaknál szintén átlag feletti allélszámot és a többi populáció viszonyában magas heterogenitást állapítottam meg.

Populációk közti genetikai távolság

Az **allélgyakoriságot** az egyes populációkban talált allélok száma alapján lokuszonként számoltam ki. Az allélgyakoriságban fixálódott különbséget nem lehetett egyértelműen megállapítani, mert gyakoriak voltak a közös allélok a különböző lúdcsoportokban. Minden génhelyen voltak olyan allélok, amelyek csak nagyon alacsony gyakorisággal fordultak elő a vizsgált állományokban.

Egy fajtában, illetve populációban előforduló **privát allélokat** is genetikai disztanciaként lehet értelmezni. Minél több privát allélt tud felmutatni az adott populáció és minél kevesebb azonos allélje van a többivel, annál nagyobb a genetikai különbség közte és a csoportok között. Privát allélt csupán a fodros1 és nyári lúd jelű mintákban azonosítottam.

A genetikai variabilitás szerkezetének tanulmányozására alkalmas az F-statisztika, amelyben a populációk teljes varianciája (F_{IT}) osztható fel populáción belüli (F_{IS}) és populációk közötti (F_{ST}) komponensekre. Az eredmények alapján, a teljes genetikai variancia ($F_{IT} = 0,158126$) legnagyobb része a csoportok közötti komponensre esett ($F_{ST} = 0,114574$; $F_{IS} = 0,049187$), jelezve, hogy egyes állományok elkülönülnek egymástól. A lokuszok egyenkénti vizsgálatánál hat esetében, az F_{ST} - értékek bizonyultak nagyobbak. Ezen markerek (Smo12, APH13, TTUG-1, TTUG-2, Bca μ 1, Bca μ 9) variabilitása nagyobb volt az egyes populációkon belül, mint a különböző csoportok között.

A egyes populációk elkülönülés-mértékének meghatározására és a populációk közötti genetikai különbség számszerűsítésére a populációnként kiszámított F_{ST} értékek alkalmasak. Ezt lúdcsoportonként meghatároztam és páronként összehasonlítottam. A **homogenitás-teszt** eredményeként kapott szignifikancia táblázatot a 3. táblázat mutatja be.

3. táblázat

Szignifikancia táblázat

	Fod1	Fod2	Fod3	Fod4	Fod5	Fod6	Fod7	Fod8	SO	SOxF	SP	SB1	SB2	Emd
Fod2	n.s.													
Fod3	n.s.	n.s.												
Fod4	n.s.	n.s.	n.s.											
Fod5	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.										
Fod6	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*									
Fod7	*	*	*	*	*	*								
Fod8	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*							
Oros	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	*	n.s.						
OxF	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.					
Par	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*				
B1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	*			
B2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*	*	n.s.		
Emd	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	*	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	
NyL	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Fod1 = fodros1, Fod2 = fodros2, Fod3 = fodros3, Fod4 = fodros4, Fod5 = fodros5, Fod6 = fodros6, Fod7 = fodros7, Fod8 = fodros8, Oros = orosházi, OxF = orosházi x fodros, Par = parlagi, B1 = babati1, B2 = babati2, Emd = emdeni; NyL= nyári lúd

A * megjelölt populációpárok szignifikánsan különböznek ($p > 0,05$). n.s. = nincs szignifikáns különbség

A fodrostollú csapatok nagyon homogénnek bizonyultak, mindössze a *fodros7* állomány tért el szignifikánsan a többi fodros tolltípusútól. A simatollúakon belül, a *parlagi* populáció minden más simatollútól különbözött. Eltérést állapítottam meg a *babati1* – *orosházi* és a *babati2* – *orosházi x fodros* populációk között is.

A fodrostollú-simatollú ludak összehasonlításában már több különbséget tapasztaltam. Eltérést észleltem az *orosházi* és másik négy fodrostollú populáció (fodros3, fodros5, fodros6, fodros7) között. A keresztezett, *orosházi x fodros* állomány, a fodros6 és a fodros7 jelű csapattól tért el szignifikánsan. A *babati1*-től a fodros5, fodros7, a *babati2* –től a fodros7 különbözött.

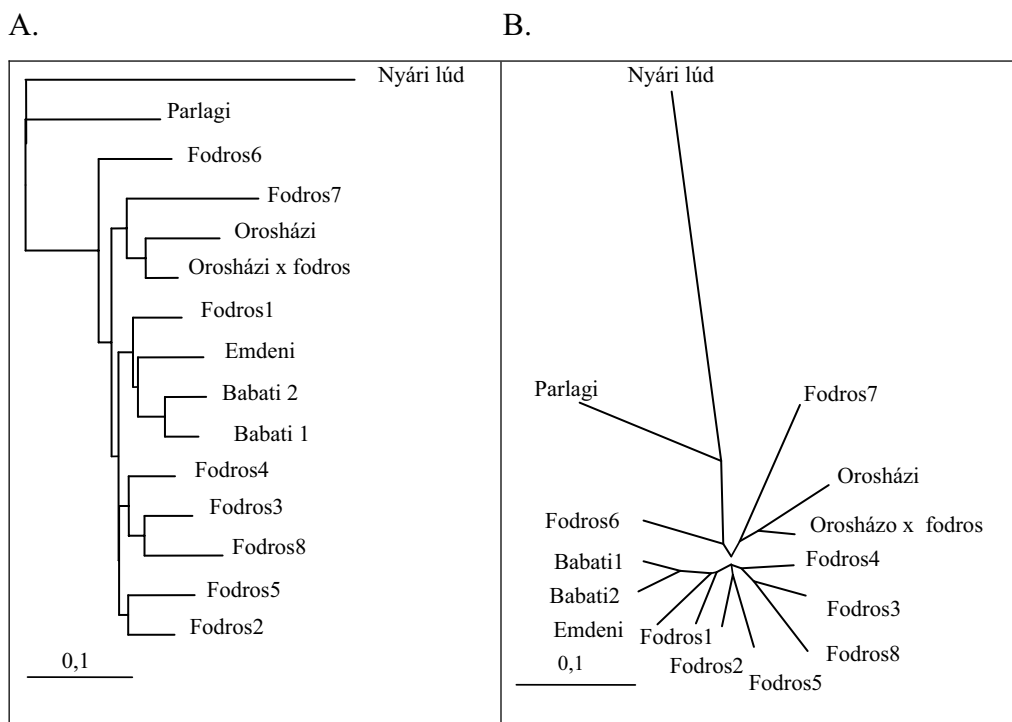
Az 1900-as években emdenivel való keresztezés hatása (HREBLAY, 1909 b.) a magyar állományokban ma is érezhető. A legtöbb magyar lúd csoport és az *emdeni* lúd között nem lehetett szignifikáns eltérést megállapítani. Szignifikánsan nem különböztek az emdenitől: a fodros1, fodros2, fodros3, fodros4, fodros8 populációk a fodrostollúak közül és orosházi x fodros, babati1, babati2 populációk a simatollúak közül. A nyári lúdtól minden domesztikált állomány szignifikánsan eltért.

Az *MSA 4.00* szoftverprogram segítségével, a **genetikai távolságot** az allélgyakoriságból *POSA* és *Nei* módszerével (BOWCOCK és mtsai.,1994; NEI, 1978) számoltam ki. Bár a Nei-féle disztancia értékek alapvetően alacsonyabbak voltak, mint a *POSA* módszerrel számoltak, azonos eredményt hoztak és a homogenitás-tesz során megállapított genetikai differenciál értékeket alátámasztották.

A populációk közötti genetikai távolságok grafikus ábrázolásának módja a filogenetikai fa, más néven **dendrogram** felállítása. Ehhez a közös allélok alapján számolt genetikai távolság értékeket választottam. Ezek az értékek reprezentatívan ábrázolják az olyan szoros rokonságban lévő szubpopulációk között is a genetikai kapcsolatokat (BOWCOCK és mtsai, 1994), mint amilyenek az általunk vizsgált lúdcsapatok voltak. Az értékekből felállított filogenetikai fát az *5. ábra* mutatja be. Az „A.” dendrogram esetében a kontrollként használt nyári lúd csapatot külső csoportnak választottam, így a program ehhez viszonyítva ábrázolta a populációk közötti genetikai távolságot. A „B.” dendrogram esetében nem választottam külső csoportot, a program a populációk egymás közötti viszonyában készítette el a dendrogrammot a *POSA* értékek alapján.

5. ábra

A populációk dendrogramja



IV. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Huszonhárom mikroszatellitből tizennégyet sikeresen adaptáltam domesztikált és vadlúd fajokba. Az adaptálhatóság 61%-os volt. A tizennégy lokusz közül tíz volt polimorf, melyek jól alkalmazhatók a lúdállományok genetikai variabilitásának a vizsgálatához. Az eredményeim alátámasztják, hogy a mikroszatellitiek jól adaptálhatók a különböző vízimadár fajok között.
2. A polimorf mikroszatellitiek esetében meghatároztam az *allélszámot*, *várt és valós heterozigotitást*, illetve *PIC-értékeket*.
3. A hazai lúdállományokban kimutattam a *palacknyak hatást*, amire a viszonylag alacsony allélszám mellett, a relatíve magas heterozigóta gyakoriságból lehet következtetni. Ez egyúttal azt is jelzi, hogy a genetikai sodródás további káros hatásának elkerülése végett, növelni kell az állományok létszámát.
4. Az F-statisztika alapján meghatároztam a teljes (F_{IT}), a populáción belüli (F_{IS}) és a populációk közötti (F_{ST}) genetikai variancia értékeket. Ezek a szubpopulációk *szoros rokonságára utaltak*.
5. A homogenitás-teszt eredményei alapján több kis létszámú lúdcsapat között *nem tapasztaltam szignifikáns különbséget*. Így a kis egyedszámú állományok összevonásának megvan az esélye, ami lehetővé teszi a bennük fellépő beltenyésztés káros hatásának a csökkentését.
6. A vizsgálataim kimutatták, hogy az 1900-as években emdenivel való keresztezés hatása a magyar állományokban ma is érezhető.

VI. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

A génmegőrzési programok kialakításához szükséges többek között, a génmegőrzendő fajta génfrekvenciájának és a különböző genotípusok távolságbecslésének tudományos feltárása. Ennek a munkának az eredményei jól felhasználhatók a fajtafenntartó tenyésztésben, hiszen a nemzeti kincsé nyilvánított magyar lúd, veszélyeztetett létszámra csökkent, állományának fenntartása elképzelhetetlen széleskörű populációgenetikai ismeretek nélkül. A származási dokumentációval nem rendelkező lúd csoportok homogenitásának meghatározásával, a populációk közötti különbség feltárásával, lehetőség nyílik a fajta fenntartásához szükséges hosszú távú stratégia kidolgozására. A jövőben az általam kidolgozott mikroszatellitsett segítségével, a betenyésztettség változása folyamatosan és rutinszerűen nyomon követhető. El nem hanyagolható a jelentősége annak, hogy a kidolgozott markerekkel a réghonosult fajtának számító magyar lúd mellett más házilúd fajták molekuláris genetikai jellemzésére is lehetőség nyílik.

VII. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Lektorált tudományos közlemények

- **Aliczki K.** (2005): Réghonosult magyar lúdpopulációk genetikai változatosságának a felmérése. XI. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely. Kiadta: Veszprémi Egyetem, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar. Megjelent: CD formájában.
- **Aliczki K.** (2005): Óshonos magyar lúdpopulációk genetikai változatosságának a felmérése mikroszatellitokkal. In.: Tavaszi Szél 2005. Konferencia kiadvány. Kiadta: Doktoranduszok Országos szövetsége. 8.-11. p.
- **Aliczki K.** (2005): Réghonosult magyar lúdpopulációk vizsgálata molekuláris genetikai módszerekkel. In.: Közép-Európa mezőgazdasága, lehetőségek és kockázatok. XLVII. Georgikon Napok és 15. ÖGA találkozó. (Szerk.: Palkovics M.-Weisz M.). 87. p.
- **Aliczki K., Dieringer D.** (2006): A genetikai variabilitás vizsgálata magyar lúd populációkban. In.: Tavaszi Szél 2006. Doktoranduszok Országos szövetségének kiadványa. 4.-7. p.
- Mihók S., **Aliczki K., Hidas A.** (2006): Molekuláris markerekkel történő fajtaazonosítás és fajtavédelem a réghonosult lúdfajtákban. In.: Génmegőrzés. Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrumának kiadványa. (Szerk.: Mihók S.) 86.-94. p.
- **Aliczki K., Dieringer D.** (2006): Genetic Variability in Goose population in Hungary. „Agrárgazdaság, vidék, régiók – multifunkcionális feladatok és lehetőségek.” XLVIII. Georgikon Napok. (Szerk.: Palkovics M.-Weisz M.)
- **Aliczki K., Dieringer D.** (2006): Réghonosult magyar lúdállományok populációgenetikai vizsgálata mikroszatellitok segítségével. Állattenyésztés és Takarmányozás. (Szerk.: Gundel J.). (Kiadás alatt)