

DEBRECENI EGYETEM
AGRÁRTUDOMÁNYI CENTRUM
AGRÁRGAZDASÁGI ÉS VIDÉKFEJLESZTÉSI KAR
GAZDASÁGELEMZÉSI ÉS STATISZTIKAI TANSZÉK

ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető: Dr. Kovács András PhD, DSc, habil

Témavezető:

Dr. habil Komlósi István PhD
egyetemi docens

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

AZ ÉRTEKEZÉS CÍME:

**A variancia és a beltenyésztettség vizsgálata
számítógépes szimulációval**

Készítette:

Szóke Szilvia
doktorjelölt

Debrecen
2005.

**A variancia és a beltenyésztettség vizsgálata
számítógépes szimulációval**

*Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az Állattenyésztési Tudományok tudományágban*

Írta: **Szőke Szilvia** doktorjelölt

A doktori szigorlati bizottság:

	Név	Tud. fokozat
Elnök:	Dr. Mihók Sándor	CSc
Tagok:	Dr. Gundel János	PhD
	Dr. Ispány Márton	CSc

A doktori szigorlat időpontja: 2004. május 6.

Az értekezés bírálói:

	Név	Tud. fokozat	Aláírás
	Dr. Meszéna Géza	PhD
	Dr. Gáspárdy András	PhD

A bíráló bizottság:

	Név	Tud. fokozat	Aláírás
Elnök:	Dr. Mihók Sándor	CSc
Titkár:	Dr. Béri Béla	CSc
Tagok:	Dr. Csató László	CSc
	Dr. Szűcs Endre	DSc
	Dr. Tőzsér János	CSc

Az értekezés védésének időpontja:

Tartalomjegyzék

	Oldalszám
1. Bevezetés és célkitűzés	5
2. A kutatáshoz kapcsolódó általános ismeretek	8
2.1. Számítógépes szimuláció	8
2.2. A populációgenetikában alkalmazott szimulációs módszerek	11
2.3. Matematikai modellek	11
2.4. Túlélés vizsgálat (survival analysis)	15
2.4.1. A halálozási intenzitás	16
2.4.2. A log-rate modell elvi alapjai	17
2.5. Beltenyésztettség	18
3. Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata	21
3.1. Irodalmi áttekintés	21
3.2. Anyag és módszer	22
3.3. Vizsgálati eredmények bemutatása és értékelése	25
3.4. Következtetések és javaslat	40
4. Génmegőrzés	42
4.1. Irodalmi áttekintés	42
4.1.1. Génmegőrzési kutatások mikroszatellitek alkalmazásával	43
4.1.2. Wahlund hatás	44
4.1.3. Shannon index	44
4.2. Anyag és módszer	48
4.3. Vizsgálati eredmények bemutatása és értékelése	54
4.4. Következtetések és javaslatok	72
5. A klónozás tömeges alkalmazásának hatásai a tejelő szarvasmarha populációban ...	74
5.1. Irodalmi áttekintés	74
5.1.1. Biotechnikai és biotechnológiai eljárások	74
5.1.2. A klónozás fogalma és típusai	74
5.1.3. Össejtek a klónozásnál	76
5.1.4. Rokonsági viszonyok	78

5.1.5. Alkalmazási lehetőségek	79
5.1.6. Magyar vonatkozások	80
5.1.7. Szimulációs kísérletek a klónozással kapcsolatosan	81
5.2. Anyag és módszer	81
5.3. Vizsgálati eredmények bemutatása és értékelése	86
5.4. Következtetések és javaslatok	101
6. Új és újszerű tudományos eredmények	103
6.1. Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata	103
6.2. Génmegőrzés	104
6.3. A klónozás tömeges alkalmazásának hatásai a tejelő szarvasmarha populációban	104
7. Összefoglalás	106
8. Irodalomjegyzék	109
9. Az alkalmazott szoftverek jegyzéke	120
10. Köszönetnyilvánítás	121
11. Nyilatkozatok	122

1. Bevezetés és célkitűzés

A mendeli genetika létrejötté, az öröklési szabályok első felismerése, matematikai megfogalmazása, a génelmélet kialakulása óta már 140 év telt el. A mendeli genetikából kialakult populációgenetika mára igen széleskörű tudományág lett, számos részterülettel. „A populációgenetika a nemesítési munkában közvetlenül realizálható, új utakat feltáró alaptudomány” (SVÁB, 1971). A számítógépek és a számítástechnika fejlődése új lendületet adott ennek a tudományágnak is, mely a statisztikai módszerek korszerűsödésével együtt a szimulációs technikák elterjedésével is bővült. A szimulációs módszerek, többek között a Monte Carlo módszer is hatékonyan alkalmazható a bonyolult genetikai vizsgálatoknál, költséges és időigényes kísérletek részbeni helyettesítésére, kiegészítésére. Ezek az előnyök lehetővé teszik a szimulációs programok felhasználását az állattenyésztésben is. Természetesen a szimulációk nem helyettesíthetik teljesen a biológiai kísérleteket. A szimuláció során ismert törvényszerűségeket egyszerűen fogalmazzunk meg, néhány összefüggést kiragadunk a biológiai környezetből – ez előnye is és hátránya is ennek az eljárásnak. Dolgozatomban a számítógépes szimuláció alkalmazásával három téma részletesebb vizsgálatáról számolok be. Ezek a témák az állattenyésztés számára fontos kérdéseket taglalnak: a genetikai változatosságra ható tényezőket, illetve a genetikai változatosság befolyásolhatóságát, a beltenyésztettséget, illetve a beltenyésztettség elkerülésének lehetőségeit.

A jelenleg alkalmazott tenyésztértékbecslési módszerek közel $r=1$ pontossággal becsülik a fenotípusból a genetikai értéket, így a szülők kiválasztása megközelítően azok valós genetikai értéke alapján történik. A rangsor elejéről kevés egyedet választunk ki, ezek között valószínűleg több rokon egyed van a tenyésztértékbecslés pontossága miatt. Tehát a nemesítés során a továbbtenyésztésre meghagyott korlátozott létszámú és egymással rokon egyedekből álló szülőpopuláció így nemcsak az utódpopuláció genetikai variációját csökkenti, hanem egyúttal annak

beltenyésztettségét is növeli. Ez utóbbi megnövelheti a letális, szemiletális allélok homozigotizációját, így beltenyésztéses leromlást okoz.

Ha a szelekció során egy állományban a genetikai variancia csökken, akkor ez kisebb szelekciós differenciál megvalósítását, végső soron kisebb genetikai előrehaladást okozhat. Hosszú távon a gének fixálódnak, kimerülnek a genetikai tartalékok, csökken az adott fajta versenyképessége. A nagy hatékonyságú állattenyésztés, az ipari módszereket alkalmazó állattartás egyik alapfeltétele a genetikai lehetőségek maximális kihasználása. A számítógépes szimulációs program lehetővé teszi több genetikai tényező változtatását, így fajtától függetlenül, nemzedékeken keresztül is figyelemmel kísérhetők a genetikai változások.

Céлом volt első vizsgálatomban különböző genetikai tényezőknek

- populációméret,
- génhelyek száma,
- allélkölcsonhatás,
- párosítás módja

a genetikai előrehaladást, genetikai változatosságot és a beltenyésztettséget befolyásoló hatását megvizsgálni. A genetikai előrehaladást az allélértékek átlagos összege alapján, a genetikai változatosságot pedig a populáció egységes homozigótává válásának időpontja alapján kívántam összehasonlítani.

Korunkban különösen nagy figyelmet kell fordítanunk értékeink – köztük élővilágunk genetikai állományának megóvására is. Az egyes háziállat fajtákat is veszély fenyegeti, hiszen egy fajta meghatározott piaci igényt elégít ki, s az igény változásával, a fajta létszáma csökken. A rég honosult háziállatfajták azonban rendelkeznek különleges értékekkel, ami iránt egyre gyakrabban mutatkozik érdeklődés (MIHÓK és mtsai, 1999). Éppen ezért a tenyésztők számára fontos a már nem divatos fajták tartása, génjeinek megőrzése (BODÓ és MIHÓK, 2002). A Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának génmegőrzésre fenntartott bronzpulyka állományában jelenleg rotációs - véletlenszerű párosítást alkalmaznak.

A második vizsgálatom célja a jelenlegi párosítási eljárás genetikai változatosságra való hosszú távú hatásának elemzése, s olyan párosítási tervek

- szaporodási közösség méret függő
- ivararány függő

kialakítása, melyek kedvezőbbek lehetnek a génmegőrzési feladatok ellátására, a populáció méretének változtatása nélkül.

Hagyományos módon, a szokásos tenyésztési eljárással és tenészkiválasztással a kiváló teljesítményt nyújtó szarvasmarhák csak hosszú idő alatt szaporíthatók el, mert egyet ellő, és a vemhesség ideje hosszú. Az új biotechnikai, biotechnológiai eljárások közül a szuperovulátásnak, klónozásnak nagy jövője van, illetve lehet az állattenyésztésben. Általános alkalmazásukkal a legkiválóbb teljesítményt nyújtó állatokat tetszőleges számban lehetne előállítani. Ez történhet többféleképpen. Az előnyös tulajdonságokkal rendelkező nőivarú egyedekben hormonkezeléssel szuperovulációt váltanak ki, ekkor több petesejt egyszerre érik meg. Mesterséges termékenyítés után az embriókat kimossák végül a néhány sejtes embriókat arra alkalmas egyedekbe ültetik. Egy újabb eljárás szerint a kiváló teljesítményű egyedek embrióiból vagy testi sejtjeinek felhasználásával genetikailag identikus egyedeket állítanak elő – vagyis klónoznak. Jelenleg ennek is több módszere ismert.

A termelés szempontjából kedvező genotípusok gyors elterjesztésén kívül más előnyei is lehetnének az új biotechnológiai eljárások tömeges alkalmazásának. A kívánt arányban lehetne az utódok nemét befolyásolni. Gazdasági hatása vitathatatlan: a hústermelésben a bika-, a tejtermelésben pedig üszőborjak születése kedvezőbb. Van azonban árnyoldala is az új technológia alkalmazásának, hiszen az azonos genetikai felépítésű egyedek tömeges előállításával csökkenne a genetikai variancia, és megnőne a beltenyésztettség az állományban. A genetikai variancia csökkenése a szelekciós célok megváltozásakor okozna nehézséget. A beltenyésztettség növekedése a genetikai terheltség halmozódásához, a fitness tulajdonságok romlásához vezethetnek. Azonban „tervszerű alkalmazásával a genetikai bázis beszűkülésének veszélye elkerülhető, és lehetővé teszi veszélyeztetett állatfajok vagy fajták megmentését” (SOLTI, 2004).

Céлом volt a harmadik vizsgálatomban a különböző klónozási technikák szimulációja segítségével felmérni azok tömeges alkalmazásának hatását a genetikai értékek változására és a beltenyésztettségre nézve egy tejelő szarvasmarha populáció esetén.

2. Kutatáshoz kapcsolódó általános ismeretek

2.1. Számítógépes szimuláció

A szimuláció fogalmát sokan sokféle módon határozták meg, de CSÁKI (1976) definícióját találtam a legkifejezőbbnek: „a szimuláció olyan kísérlet, amelynek célja a valóságos körülményeket megközelítő viszonyok létrehozása, a vizsgált események, valóságos körülmények között várható, valószínű magatartásának vizsgálata, hipotézisek ellenőrzése, különböző hatások következményeinek kimutatása”. A szimulációkat a tudományos élet számos területén alkalmazzák, többek között a közgazdaság, a nukleáris fizika, vagy akár a közlekedés szervezésének tanulmányozásában.

A valós kísérletek helyett szimulációs módszerhez folyamodni különböző okok miatt lehet célszerű (HORVÁTH és mtsai, 1995). Milyen esetekben válaszolhatók meg genetikai kérdések szimulációval?

- a) Ha a kísérlet túl drága. A mezőgazdaságban legfontosabb kvantitatív tulajdonságokért több, esetleg több száz gén is felelős lehet. A genetikai kísérletek főleg nagy értékű, lassan fejlődő haszonállatoknál (pl. szarvasmarha) óriási költséggel járnak és ráadásul igen hosszú időt vesznek igénybe.
- b) Ha a megoldandó feladat túl bonyolult. Ha több paraméter egyidejű vizsgálatát tűzzük ki célul, akkor a feladat könnyen átláthatatlanná válhat. A populációgenetikai jelenségeket a legtöbb esetben egyszerű feltételek teljesülése mellett taglalják, mint például egy lókuszt két allél, vagy egymást követő diszkrét populációk. Eltérő következtetésre jutunk, ha diszkrét populációk helyett átfedő populációkkal, vagy esetleg több lókuszon több alléllal számolunk. Ezen esetekben lehet hasznos segítőtárs a számítógép. Ugyanakkor meg kell fontolnunk, hogy hány paramétert figyeljünk meg. „Minél több paramétert veszünk figyelembe, annál pontosabb lesz a valóságról alkotott képünk, viszont annál nehezebb lesz az összefüggések felismerése, illetve jelentősen növekedhet a szükséges elvégzendő kísérletek száma” (HORVÁTH és mtsai, 1995).

- c) Ha a környezeti hatások elnyomják a befolyásoló tényezőket. Tenyésztéssel kapcsolatos kísérleteknél mindig nagy gond a környezeti hatások kiküszöbölése. Szimuláció során kiemelhetjük azokat a lényeges befolyásoló tényezőket, melyeknek működési rendszerére kíváncsiak vagyunk.
- d) Ha etikai akadályai vannak. A különböző természet- és állatvédő mozgalmak hatására megváltozott gondolkodásunk az állatkísérletekkel kapcsolatban. Ma már, hacsak lehet a kutatók kerülnek azokat a kísérleteket, amelyek az állatok szenvedésével vagy elhullásával járhatnak. Igyekeznek az ilyen kísérletben résztvevő állatok létszámát is a lehető legkisebbre szorítani.

„A szimuláció eszköz arra, hogy előre lássuk a változások következményeit anélkül, hogy azokat valóban végre kellene hajtani. Lehetővé teszi, hogy különböző hipotéziseket, döntési szabályokat, alternatív működési módokat kísérleti úton vizsgáljunk, változatos feltételezett körülmények között” (SZLÁVI és ZSAKÓ, 1995). A szimuláció nem tekinthető az analitikus módszerek versenytársának, hanem kiegészítik azok lehetőségeit olyan területeken, ahol az analitikus módszerek jelenlegi ismereteink szerint korlátokba ütköznek, illetve a szimuláció a gyorsabb problémamegoldás eszköze számításgépes feladatoknál (CSÁKI, 1976).

Az állattenyésztésben kétféle szimulációt alkalmaznak: a determinisztikus szimulációt és a sztochasztikus szimulációt. A determinisztikus szimulációban a populációt a középértékek és a csoportok varianciái (néha magasabb momentumok) által meghatározott, a szimuláció a korábbi középértékek és varianciák kapcsolatát leíró függvényekből áll. A determinisztikus szimuláció nehézsége abban rejlik, hogy ezek a függvények lehetnek nagyon bonyolultak vagy akár ismeretlenek is, tehát nehéz a programozása. Véletlen mintát nem tartalmaz, ennek köszönhetően egy input paraméter halmazhoz mindig ugyanaz az output tartozik.

Az állattenyésztésben használt sztochasztikus szimulációban az egyedeket egy előre definiált eloszlású véletlen mintából származtatják, az öröklési szabályok által meghatározott és a környezeti hatások befolyásolják a modellt. Viszonylag egyszerű szabályok alapján határozhatjuk meg az öröklődést és a szelekciót generációról generációra. A véletlen minta miatt a program futása sohasem adja kétszer ugyanazt az eredményt. Kellő számú ismétlés után a vizsgált tényezők eloszlása és főleg várható értékei alapján vonhatók le a következtetések. Egy adott komplexitású tenyésztési programot sztochasztikus szimulációval gyakran könnyebb megírni. Ugyanakkor a véletlen mintavétel miatt sokkal több futtatásra van szükség. Ezen kívül mivel a

populáció minden egyede azonosított, a sztochasztikus program hatalmas tárterületet és tömördek matematikai műveletet igényelhet minden futásnál. Ha ehhez még hozzáadjuk az ismétlések nagy számát, elmondhatjuk, hogy a sztochasztikus szimuláció sokkal hosszadalmasabb a determinisztikusnál.

A sztochasztikus modellek a véletlen által befolyásolt folyamatok leírására alkalmazhatók, az eredményt a véletlen befolyásolja. Itt a véletlen jelenség szimulálása véletlen számokkal oldható meg. Ebben a körben legelterjedtebb a Monte–Carlo szimulációs módszer (KOMLÓSI, 2002). Egy probléma Monte Carlo módszerrel történő modellezésével sokkal komplexebb, bonyolultabb rendszert vizsgálhatunk, mint más módszerekkel.

Mai értelmezés szerint a Monte Carlo módszer minden olyan technikát magába foglal, ahol statisztikai mintákat használnak mennyiségi problémák közelítő megoldásához. A módszer kidolgozását Stanislaw Ulam nevéhez kötik, de a módszer számítógépes alkalmazása Neumann János és Nicholas Metropolis érdeme. A Monte Carlo nevet Metropolis adta (METROPOLIS és ULAM, 1949).

SZOBOL (1981) szerint Monte Carlo módszereknek nevezzük a matematikai feladatok megoldásának véletlen mennyiségek modellezését felhasználó numerikus módszereket. Matematikai szempontból „a Monte–Carlo módszerek megalkotásának lényege olyan feladat felállítása, amelyben várható értéket (M) kell számolni”. Részletesebben: ahhoz, hogy valamilyen a skalár mennyiséget közelítőleg meghatározzunk, találnunk kell egy olyan ξ valószínűségi változót, hogy $M\xi = a$ legyen; ekkor a ξ -re N számú független megfigyelést végezve igaz az, hogy

$$a \approx \frac{\xi_1 + \xi_2 + \dots + \xi_N}{N}.$$

Mivel független, azonos eloszlású valószínűségi változók sorozatára, amelynek létezik várható értéke, érvényes a nagy számok törvénye, a ξ_i értékek számtani közepe valószínűségben a várható értékhez konvergál: ha $N \rightarrow \infty$, akkor $\bar{\xi}_N \xrightarrow{P} a$. A $\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_N$ valószínűségi változók sorozata valószínűségben konvergál egy a állandóhoz, ha tetszőleges h esetén igaz, hogy $P(|\bar{\xi}_N - a| \geq h) \rightarrow 0$, ha $N \rightarrow \infty$ (SZOBOL, 1981). A kísérletekben véletlen input adatok mellett vizsgáljuk az output adatokat. A többszöri ismétlésre azért van szükség, mert a kapott összefüggések csak statisztikusan érvényesülnek. A Monte Carlo szimuláció tehát véletlenszámok és valószínűségi statisztika segítségével vizsgálja az adott problémát.

A számítógéppel generált számok nem igazán véletlenek, hiszen valamilyen algoritmus alapján képzik azokat (LOVÁSZ, 2003). Bár egy adott számmal kezdve – ez a véletlenszám magja – azon matematikai műveletek sokaságát végrehajtva létrehozhatók úgynevezett pszeudóvéletlen számok (ANONYM, http://www.riskglossary.com/articles/monte_carlo_method.htm, 2005). Ezek a számok rendelkeznek a független véletlen számokkal szemben támasztott követelményekkel, ezeket szigorú statisztikai tesztekkel ellenőrzik (KNUTH, 1994). Egy megkötés van: ha egy véletlenszám magot többször használunk, akkor azonos számsorozatokot fogunk kapni. Ezért gondoskodni kell arról, hogy a véletlenszám magok különbözőek legyenek. Számos szoftver a véletlenszámok magját valamilyen külső rendszerből származtatja (például az idővel kapcsolatosan) így valószínűtlen kétszer ugyanaz az eredmény.

2.2. A populációgenetikában alkalmazott szimulációs módszerek

A populációgenetikában alkalmazott általános modellek azon a feltételezésen alapulnak, hogy a valóság jelenségei megismerhető részjelenségekre bonthatók, ezek a részjelenségek egyetlen időpontban megadott jellemzői segítségével csatolhatók a valóság többi részéhez.

Diszkrét keretmodell: a valós rendszerben az események párhuzamosan mennek végbe, a modellben ugyanezt állítjuk elő, így egy időegység alatt a modell valamennyi objektumával történhet valami. Ennek következtében a modell ideje egyszerűen megfeleltethető a valós időnek. Ezt nevezzük generációs keretmodellnek (HORVÁTH és mtsai, 1995).

2.3. Matematikai modellek

A genetikai modellek között a legismertebbek a véges és az infinitezimális modellek. Véges modell esetén lókuszonként kell az allélok értékeit generálni. Ennek hátránya, hogy nagy egyedszám esetén, illetve sok lókusznál vizsgálatakor megnő a szimulációs program futási ideje, és a tárigénye. Nagy populáció esetén, amikor ismert, hogy az adott tulajdonság poligén öröklődésű, célszerű az infinitezimális modellel számolni. Ez azt feltételezi, hogy végtelen számú, egyenként nagyon kis hatású gén összessége befolyásolja az adott tulajdonságot. Ilyenkor egy-egy egyednél csak az összesített genetikai értéket szükséges tárolni. Bár ez a modell olyan feltételezéssel él,

amely a valóságban nem teljesül, és így a született eredmények is bizonyos torzítással terheltek, mégis kielégítő pontosságú előrejelzést kaphatunk rövid távon (GODDARD, 2001). A torzítást az okozza, hogy egyéb génhatásokat, mutációt vagy anyai hatást nem vesz figyelembe.

Az infinitezimális modellnél a jelző arra utal, hogy egy génnek csak végtelenül kicsi hatása van az adott tulajdonság kifejeződésére. A genetikai érték szimulációja infinitezimális modellel (KENNEDY, 1995) az alábbi módon történik. A szülő additív genetikai értéke:

$$A = \xi \cdot \sigma_{ag} ,$$

ahol a ξ , egy standard normális eloszlásból származó véletlenszám, σ_{ag} pedig az alap populáció additív genetikai szórása. Amennyiben a modell dominancia hatást is figyelembe vesz, akkor a szülő domináns genetikai értéke:

$$D = \xi \cdot \sigma_{dg} ,$$

ahol ξ itt is standard normális eloszlásból származó véletlenszámot jelent, σ_{dg} pedig az alap populáció domináns genetikai szórása. Mivel az additív genetikai érték független a dominanciától, a szülő összes genetikai értéke:

$$G = A + D .$$

Ha figyelembe veszünk episztázist is, akkor az előzőhöz hasonló eljárással generálhatjuk az episztatikus értékeket:

$$E = \xi \cdot \sigma_{eg} ,$$

ahol az előzőekhez hasonlóan ξ standard normális eloszlásból származó véletlenszámot jelent, σ_{eg} pedig az alappopuláció episztatikus genetikai szórása. Ebben az esetben az összes genetikai érték:

$$G = A + D + E .$$

Ebből a fenotípus érték a környezeti hatás figyelembe vételével:

$$F = G + K ,$$

ahol a környezeti hatás ξ standard normális eloszlásból származó véletlenszám és σ_k alap populáció környezeti hatás szórása szorzataként állítható elő:

$$K = \xi \cdot \sigma_k .$$

Tehát az egyik lényeges különbség a két modell között, hogy a genetikai értékek lókuszonként, allélonként adhatók meg a véges modellben, és csak egy érték generálásával történik az infinitezimális modellben. A másik lényeges különbség az utódok genetikai értékének meghatározásánál mutatkozik.

Az utódok additív genetikai (és így az összes genetikai) értéke KENNEDY (1995) munkája alapján a következő módon határozható meg:

$$A_{utód} = \frac{1}{2} A_{apai} + \frac{1}{2} A_{anyai} + MS,$$

vagyis az utód genetikai értékének várható értéke nem más, mint a szülők genetikai értékének az átlaga. A valódi érték különbözhet ettől, hiszen az egyed az allélok egy véletlen mintáját kapja a szüleitől. A két érték közötti különbség a meiózis eredményéből fakad, ami a „Mendelian sampling”. Ez a ténylegesen egyesülő szülői ivarsejtek genetikai értékének és a szülői ivarsejtek átlagos genetikai értékének különbsége. A mendeli érték generálása a ξ standard normális eloszlásból származó véletlenszám és a σ_m mendeli szórás szorzatával lehetséges:

$$MS = \xi \cdot \sigma_m$$

Összefoglalva: a párosítás során az utód a szülők genetikai értékének átlagát kapják, ehhez azonban még hozzá kell adni egy véletlenszámot (egy nulla várható értékű normális eloszlásból) a mendeli varianciát modellezve. A mendeli variancia értéke a szülőpopuláció additív genetikai varianciájának (σ_p^2) a fele nem beltenyésztett populáció esetén:

$$\sigma_m = \sqrt{\frac{1}{2}} \cdot \sigma_p.$$

Ha a populáció beltenyésztett akkor a formula a következőképpen alakul (Van ARENDONK és mtsai, 1997):

$$\sigma_m = \sqrt{\frac{(1 - F_p)}{2}} \cdot \sigma_p,$$

ahol F_p jelenti az egyed szüleinek átlagos beltenyésztettségi koefficiensét, a σ_p pedig a szülők additív genetikai szórását.

Véges modell esetén az öröklődés a mendeli szabályok szerint történik. Az utódok alléljai a szülők megfelelő lókusznál található allélok közül kerül ki, 50-50%-os valószínűséggel.

Felmerülhet a kérdés, hogy vajon melyik modell az élethűbb. Hány lókuszt határozhat meg egy adott tulajdonságot? HARTL és CLARK (1997) véleménye alapján nem realiztikus az a modell, amelyben nagy számú lókusznak csak egyformán kis hatása van egy tulajdonság kifejeződésére, de egy véges modellben néhány egyszerűsítés elkerülhetetlen. Egy adott tulajdonság esetén 100 befolyásoló gént viszonylag magasnak tartottak (cit. CURIK és mtsai, 2001). Hasonlóan vélekedett

GODDARD (2001) is, szerinte néhány génnek szignifikáns hatása van, sok gén mutat nem additív hatást, beleértve a dominanciát és az episztázist. A génhatások a nagytól egészen a nulláig folytonos tartományban változnak. Mindezek ellenére nem kell elvetni az infinitezimális modell segítségével végzett becsléseket. Ezzel némileg ellentétes, hogy mások ettől sokkal több lókuszt sem tartottak soknak: 500 lókusszal számoltak JOHANSSON és munkatársai (1993), vagy 1600 lókusszal De BOER és Van ARENDONK (1992). JORJANI és munkatársai (1997a) a modellválasztási problémát, vagyis azt, hogy véges vagy infinitezimális modellt alkalmazzanak, úgy oldották meg, hogy igen sok lókuszt, 2500-at vettek be a modelljükbe. Véleményük szerint ennyi lókuszon az allélok egyenlő kicsiny hatással már úgy viselkednek, mintha infinitezimális modellt alkalmaztak volna. Bár ennek egyik legfőbb előnyét a dominancia hatás bevonását nem tették meg. Ettől sokkal kevesebbre becsülte FALCONER és MACKAY (1996) a mennyiségi tulajdonságokat meghatározó lókuszok számát. Leírt számításukban egerek alomméretére vonatkozóan 164 lett a tulajdonságot meghatározó lókuszok száma.

HILL és CABALLERO (1992) szerint a hosszú távú szelekciós kísérletek az infinitezimális modell alkalmazásával kétféle módon térhetnek el a valóságtól: ha túl kicsi az effektív populációméret, akkor a genetikai előrehaladás gyorsabban csökken a becsülnél a beltenyésztettségnek köszönhetően, valószínűleg azért, mert a szelekció növeli a kedvező allél gyakoriságát, ezzel csökkenti a genetikai varianciát. Ha pedig túl nagy az effektív populációméret, a genetikai előrehaladás lehet, hogy kevésbé csökken a becsülnél, mert a mutáció új génváltozatokat hozhat. GODDARD (2001) véleménye alapján a genetikai előrehaladás hosszú távú becslésénél az infinitezimális modell alkalmazásával nagyobb értékeket kapunk, mint a véges allélos modelleknél. Mégis, ha az infinitezimális modell torzítását az additíven kívül más variancia komponensekkel szeretnénk korrigálni, ez nehezen tehető meg, és az eredmény is kétséges, hiszen ezek nem túl nagy pontossággal becsülhetők. Összességében rövid távú becslésekre az infinitezimális, hosszabb időszakra a véges modellt javasolja. A legjobb azonban mindig a legegyszerűbb modell. A valóságghűbb, de nagyon bonyolult, komplex modellek ritkán biztosítják a pontosság nagymértékű növekedését.

2.4. Túlélés vizsgálat (survival analysis)

A túlélés analízis egy viszonylag új területe a statisztikának. A módszer neve, és a vele kapcsolatos fogalmak arra utalnak, hogy elsősorban súlyos betegségek különböző kezeléseinek összehasonlítására alkalmazzák, és a vizsgált esemény a beteg halála, illetve annak időpontja a kezeléstől számítva. Általánosabban arra kereshetjük a választ, hogy egyes egyedek esetében miért nagyobb a kockázata a vizsgálat céljából fontos esemény bekövetkezésének. Ezt többféle statisztikai modellel, többek között túlélési idő modellel vizsgálhatjuk. Ez a modell abban különbözik a regressziós modellektől, hogy képes kezelni az olyan eseményeket is, ami az adott időtartam alatt nem következett be, vagy csak egy ideig tudtuk követni az egyed útját és így azután nincs információnk az eset bekövetkeztéről. Az ilyen eseményeket csonkított (BOLLA és KRÁMLI, 2005), vagy cenzorált (censored) (HAJTMAN és mtsai, 2003) eseményeknek hívjuk.

A túlélési függvény becslésére – amely azt a valószínűséget adja meg, hogy az esemény nem fordul elő a t időpontig – több módszer is lehetséges. A Kaplan–Meier becslés diszkrét időpontok esetére nyújt megoldást. Használhatjuk a túlélési idő mediánjának meghatározására, vagy pedig egyes időszakokra vonatkozó túlélési arány meghatározására.

A számítás során feltételes valószínűségek szorzatát kell vennünk:

$$\begin{aligned} P(T \geq t_i) &= P(T \geq t_i | T \geq t_{i-1}) = \\ &= P(T \geq t_i | T \geq t_{i-1}) \cdot P(T \geq t_{i-1} | T \geq t_{i-2}) \cdot \dots \cdot P(T \geq t_0) = \\ &= \prod_{j=1}^i \left(1 - \frac{d_j}{n_j} \right), \text{ ahol} \end{aligned}$$

T a túlélési idő, a

t_1, t_2, \dots, t_i jelenti azokat az időpontokat, ahol a vizsgált esemény bekövetkezett, a

d_j mutatja a t_j időpontban bekövetkezett események számát, az

n_j pedig a t_j időpontban azon egyedek számát tükrözi, amelyeknél az adott esemény még bekövetkezhet (SIMON, 2005).

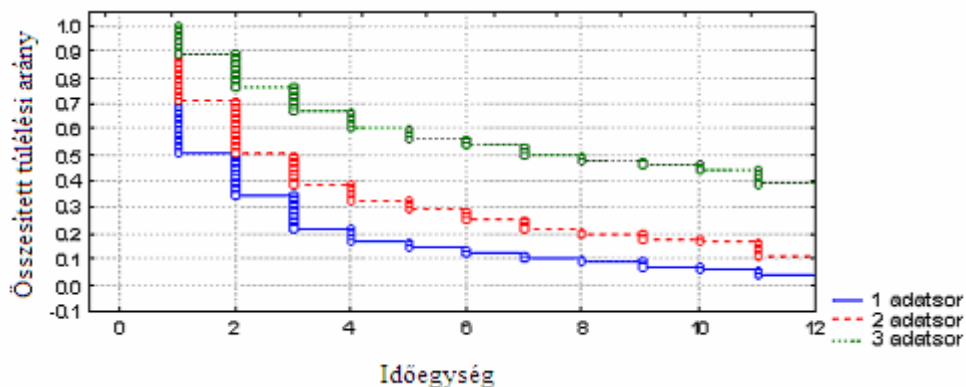
Az n értékek számításánál vesszük figyelembe a cenzorált eseteket:

$$n_i = n_{i-1} - d_{i-1} - c_{i-1}, \text{ ahol}$$

c_{i-1} a t_{i-1} időpontban cenzorált esetek számát jelenti.

A túlélési függvényre adott Kaplan–Meier görbék lépcsős alakúak (1. ábra). Két Kaplan–Meier görbe összehasonlításánál a közöttük lévő távolságot vizsgáljuk. A függőleges irányú rés azt szemlélteti, hogy egy adott pillanatban az egyik csoportnál

ennyivel nagyobb a „túlélők” aránya a másik csoporthoz viszonyítva. A vízszintes távolság megfigyelésével azt olvashatjuk le az ábráról, hogy az egyik csoportnál mennyivel később következik be, hogy a túlélők aránya megegyezzen. Egzakt statisztikai tesztek is a rendelkezésünkre állnak ezen becslt függvények eltérésének vizsgálatára. A két leggyakrabban alkalmazott próba az általánosított Wilcoxon próba (Gehan teszt), és a log-rank próba. Az első a tekintett időtartam elején lévő különbségekre érzékenyebb, míg a második a folyamat végén lévőkre (MCGRADY, 2005).



1. ábra Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre

A Kaplan–Meier módszer alkalmazhatóságának főbb feltételei, hogy a cenzorált és a túlélő eseteknek függetleneknek kell lenniük, nem tartalmazhatnak rejtett magyarázó faktorokat, nem lehet túl sok a cenzorált esetek száma, valamint, hogy az információ hiányában cenzorált eseteknek az időtől függetleneknek kell lenniük (ANONYM, SPSS 12.0 Help 2005., ANONYM, PROPHET StatGuide,2005.).

2.4.1. A halálozási intenzitás

A túlélés analízis egy másik modellje a log-rate exponenciális modell. Ehhez szükséges néhány fogalmat definiálni. Matematikai formulákkal: legyen $f(t)$ a T (idő) változó sűrűségfüggvénye, és $F(t)$ az eloszlásfüggvénye T -nek, ekkor a következő összefüggés áll fenn:

$$f(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(t \leq T < t + \Delta t)}{\Delta t} = \frac{\partial F(t)}{\partial t},$$

$$F(t) = P(T \leq t) = \int_0^t f(u) du .$$

Az $F(t)$ függvényt halálozási valószínűségnek nevezik (ÁGOSTON és KOVÁCS, 2000). A túlélési függvény – amely azt a valószínűséget adja meg, hogy az esemény nem fordul elő a t időpontig – a következő alakú:

$$S(t) = 1 - F(t) = P(T \geq t) = \int_t^{\infty} f(u) du$$

A halálozási intenzitást (ÁGOSTON és KOVÁCS, 2000) jelölje $h(t)$, amely az esemény $T=t$ időpontbeli bekövetkezésének kockázatát jelzi, feltéve, hogy előtte nem fordult elő. Ekkor $h(t)$ az alábbi alakot ölti (HEINEN és mtsai, 2003):

$$h(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(t \leq T < t + \Delta t | T \geq t)}{\Delta t} = \frac{f(t)}{S(t)},$$

amelyben $P(t \leq T < t + \Delta t | T \geq t)$ jelzi annak a valószínűségét, hogy az esemény előfordul a $[t \leq T < t + \Delta t]$ intervallumban, feltéve, hogy nem következett be t időpontig. Az $f(t)$ és $S(t)$ ugyancsak kifejezhető a $h(t)$ függvénye alapján (PÖTTER és ROHVER, 1999):

$$S(t) = \exp\left(-\int_0^t h(u) du\right)$$

$$f(t) = h(t)S(t) = h(t) \exp\left(-\int_0^t h(u) du\right)$$

Az $f(t)$, $S(t)$, és a $h(t)$ függvények matematikailag ekvivalens módon írják le a T eloszlását.

2.4.2. A log-rate modell elvi alapjai

Legyen $h(t|x_i)$ a halálozási intenzitás egy adott személy esetében egy $T=t$ időpillanatban, és x_i magyarázó változók vektorok mellett. Mivel a halálozási intenzitás nulla és végtelen között vehet fel értékeket. A halálozási intenzitás logaritmusát véve, a következő alakú regressziós modellhez vezet:

$$\ln h(t|x_i) = \ln h(t) + \sum_j \beta_j x_{ij} \quad (1)$$

Ez a modell nemcsak hogy loglineáris, hanem proporcionális. Az időtől való függés multiplikatív (a változók szorzata adja meg), s miután a logaritmus transzformációt alkalmazzuk additívvá válik (a változók összege adja meg). A proporcionális modellek jellegzetessége, hogy az időtől való függés és a magyarázó változók között nem tételezünk fel kapcsolatot, vagyis függetlenek.

A log-lineáris modelleket néhány szerző log-lineáris Poisson modellként definiálja (HEINEN és mtsai, 2003), amelyet a szakirodalom „log-rate” modellnek nevez. Tegyük fel, hogy rendelkezünk a szükséges esemény-történet információval (melyik eseményt vizsgáljuk, és az mikor következett be), és van két kategóriális magyarázó változónk A és B . Mindezeket túl tételezzük fel, hogy az időtengely véges számú részintervallumra van osztva, és ezen intervallumokban a halálozási intenzitás konstans. Legyen a T időtényező egész értékű. Legyen h_{abt} a konstans halálozási intenzitás t -edik intervallumban egy egyedre vonatkozóan, amikor A változó értéke a , és B változó értéke b . Használva a hierarchikus log-lineáris modellek reprezentációját, a teljes telítettségi modell a következőképpen írható fel:

$$\ln h_{abt} = u + u_a^A + u_b^B + u_t^T + u_{ab}^{AB} + u_{at}^{AT} + u_{bt}^{BT} + u_{abt}^{ABT}$$

amelyben az u log-lineáris paraméterekre úgy tekinthetünk, mint az ANOVA (**analysis of variance**, varianciaanalízis) elemzés interakciós paramétereire. A modell alakjából kiderül, hogy ez nem proporcionális modell, mivel tartalmaz olyan interakciókat is, melyben az időtényező és a magyarázó változó is szerepel (u_{abt}).

A modell (1)-hez hasonló proporcionális változatához jutunk, ha a megfelelő paramétereket (interakciókat) elhagyjuk, és korlátozásokat vezetünk be (VERMOUNT és MOORS, 2005):

$$\ln h_{abt} = u + u_a^A + u_b^B + u_t^T$$

Amennyiben az egyes hatások az idővel nem változnak, a modell tovább egyszerűsödik: $u_t^T = 0$, ez az exponenciális modell. (Ha nem vezetünk be korlátozásokat u_t^T -re vonatkozóan, akkor adódik a „piecewise” exponenciális modell (VERMOUNT, 1996)).

2.5. Beltenyészttség

SVÁB (1971) meghatározása szerint a beltenyésztés egymással rokon egyedek párosítását jelenti. Rokon egyedek párosítására azért lehet szükség, hogy egy családban felbukkanó kedvező génaváltozatot homozigóta formában fixáljanak. Ennek az állapotnak a kedvező következménye mellett azonban kedvezőtlen következménye a rokontenyésztés, hiszen recesszíven öröklődő genetikai betegségek megjelenési valószínűsége megnövekedik ilyen esetekben. A genetikai terheltségen túl általában is megfigyelhető a fitness tulajdonságok romlása beltenyésztés alkalmazásakor. A beltenyészttség mértékének számszerűsítése történhet MALÉCOT (1948) vagy

WRIGHT (1921) módszerével de lényegében azonos eredményt szolgáltat. Neve beltenyésztettségi koefficiens, jele: F . A beltenyésztettségi koefficiens számítása WRIGHT (1921) munkája nyomán a következő formulával lehetséges (STANSFIELD, 1997):

$$F_x = \sum \left[\left(\frac{1}{2} \right)^{p_1+p_2+1} \cdot (1 + F_a) \right], \text{ ahol} \quad (2)$$

F_x az adott állat beltenyésztettségi koefficiense,
 p_1 a generációk száma az egyik szülőtől a közös ősig,
 p_2 a generációk száma a másik szülőtől a közös ősig,
 F_a a közös ősz beltenyésztettségi koefficiense.

FALCONER és MACKAY (1996) szerint a beltenyésztettségi koefficiens annak a valószínűségét jelenti, hogy bármely lókuszon származásilag azonos allélok találunk. Ez a beltenyésztési koefficiens értelmezése az egyedek szintjén.

Populációs szinten a beltenyésztettségi együttható azon lókuszeknek a százalékos arányát mutatja, amelyek az alappopulációban heterozigóták voltak, de a beltenyésztés hatásaira homozigóttá váltak. Az alappopuláció az egyedeknek azon köre, ameddig az egyedek származása ismert, visszavezethető. Valószínűleg sok lókuszt már homozigóta, amikor az alappopulációt meghatározzuk. Ekkor a beltenyésztettségi együttható a közeli rokonok közti párosodás eredményezte addíciós növekedést méri a homozigotizáció mértékében (STANSFIELD, 1997).

A populációk beltenyésztettségének jellemzésére többféle becslési formula készült. Egy N egyedből álló, állandó méretű populációban, véletlenszerű párosodás mellett, az öntermékenyülés lehetőségét megengedve a k -edik generáció beltenyésztettségi koefficiense (CROW és KIMURA, 1970):

$$F_k = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N} \right)^k.$$

A valóságban egy populáció mérete nem állandó, az előző generáció beltenyésztettségének ismeretében a rekurrencaegyenlet a következő módon alakul (CROW és KIMURA, 1970):

$$F_k = \frac{1}{2N_k} + \left(1 - \frac{1}{2N_k} \right) \cdot F_{k-1},$$

ahol az N_k alatt a k -edik generáció populációméretét értjük. Explicit módon kifejezve az összefüggéseket (CROW és KIMURA, 1970):

$$F_k = 1 - \prod_{i=1}^k \left(1 - \frac{1}{2N_i} \right).$$

A formula egyszerűsíthető, ha a becsült effektív populáció létszámmal számolunk, ami a populáció létszámának harmonikus átlaga k generációra számolva (CROW és KIMURA, 1970):

$$N_e = \frac{k}{\sum_{i=1}^k \frac{1}{N_i}}$$

$$F_k^* = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right)^k. \quad (3)$$

Ez utóbbi becsült érték pontosságát vizsgálta HÜHN és PIEPHO (2004) elméleti megfontolások és sztochasztikus szimuláció segítségével. Megállapításaik a következők voltak. A beltenyésztettség számítása a becsült effektív populációméret felhasználásával (3) torzított becslést ad. Ez a torzítás elhanyagolható, ha nagy az egyedek túlélési valószínűsége az egyes generációkban, ha hosszú időszakot veszünk figyelembe véletlenszerű párosodás mellett, illetve, ha a populációméret kellően nagy.

A beltenyésztettségi koefficiens a heterozigóta egyedek száma segítségével becsülték egy varangypopulációban SCRIBNER és munkatársai (2001). A használt formula:

$$F = 1 - \frac{H_o}{H_e},$$

ahol a H_o a megfigyelt a H_e pedig a Hardy–Weinberg egyensúly alapján várt heterozigotitást jelenti.

A beltenyésztettségi koefficiens kétféle számítási módját hasonlították össze SLATE és munkatársai (2004). Új–zélandi juhállomány 590 egyedénél számították ki a beltenyésztettségi koefficiens egyrészt pedig alapján hét generáció mélységig, másrészt pedig QTL elemzés során 101 egyenletesen elhelyezett mikroszatellit lokuszok segítségével a heterozigotitás alapján. Az elemzések megmutatták, hogy ugyanakkora beltenyésztettségi koefficiensekhez nagyon különböző heterozigotitási értékek tartoztak. Hasonló eredményre jutottak BALLOUX és munkatársai (2004) sztochasztikus szimulációs kísérletükkel. PEMBERTON (2004) szerint a legjobb eljárás a beltenyésztettségi koefficiens meghatározására a Wright-féle pedigre analízis. Szerinte elegendő pontosságot ad, ha 3–5 generáció mélységig keressük a közös őseket.

3. Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata

3.1. Irodalmi áttekintés

A „Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata” című fejezet négyféle genetikai tényező – a populáció létszám, a génhelyek száma, az allélkölcsönhatások és a párosítás módja – a genetikai előrehaladást, genetikai változatosságot és a beltenyésztettséget befolyásoló hatásáról szól. Minél több a lókuszek száma, annál kisebb a hatásuk, és annál kisebb a szelekciós együtttható. Az allél fixálódásának esélye függ a kezdeti génfrekvenciától; minél nagyobb, annál nagyobb valószínűséggel fixálódik. Adott kezdeti génfrekvencia esetén a fixálódás valószínűsége az effektív populációméret és a szelekciós együtttható szorzatának függvénye. Mivel $s = i(2a / \sigma_p)$, ahol s a szelekciós koefficiens, i a szelekciós intenzitást, a a kódolt genotípusos értéket, σ_p pedig a fenotípusos szórást jelöli, a fixálódás valószínűsége az effektív populációméret és a szelekciós intenzitás szorzatának függvényének is tekinthető. Így a genetikai előrehaladásnak nagyobb populációméret és nagyobb szelekciós intenzitás esetén növekednie kell (FALCONER és MACKAY, 1996). A dominancia vizsgálatát azért fontos, mert az alacsony h^2 értékű tulajdonságokban nagyobb mértékű az ilyen allélkölcsönhatás megjelenése, és ezen tulajdonságok (fitness) egyre nagyobb gazdasági jelentőségűek.

A genetikai szimuláció kedvelt módszere a kutatásoknak. Sokan sokféle megközelítésben vizsgálták a témát. Van der WERF és De BOER (1990) egy 40 egyedből álló populációt szimuláltak 10 generáción keresztül ezerszer ismételve. A húsz hím egyedből ötöt választottak ki továbbszaporításra, és ezek mindegyikét 4 – 4 nőivarú egyeddel párosztatták, melyeknek 2 – 2 utódja lett. A szelekció előtt az additív genetikai variancia $\sigma_a^2 = 10$ volt, az örökölhetőségi érték pedig $h^2 = 0,5$. Az egyedek közötti kovariancia-, beltenyésztettség- és kapcsoltsági egyensúlyhiány hatását vizsgálták a genetikai varianciára nézve. A kapott értékeket egy olyan populációhoz viszonyították, ahol 400 egyed volt és a hímek 10%-át választották ki. Megállapították, hogy a genetikai előrehaladás becslése kisebb mértékben torzított, ha a modellbe a rokonsági viszonyokat is bevonják.

FOURNET és mtsai (1995) a következő kiindulási tényezőket használták: négyféle populációs létszám (1000, 100, 40 illetve 20), 100 lókuszt, 40 generáció, nemek szerint eltérő szelekciós intenzitás (a hím egyedek 25%-át és a nő egyedek 50%-át tartották meg). A számított szelekciós hatást és a szimulációs eredményt összehasonlítva vonták le következtetésüket. Megállapították, hogy az elméleti értékek magasabbak voltak, ezt pedig az additív genetikai variancia csökkenésével magyarázták.

A célpárosításra helyezték a hangsúlyt JORJANI és mtsai (1997a). Náluk a populáció méret 1600 egyedből állt, egyedenként pedig 2500 lókusszal számoltak. Véletlen párosodás esetén 200, asszortatív párosításnál 400 párt tartottak meg a következő generáció létrehozására. Összesen 25 generáción keresztül figyelték a populációt. Arra a következtetésre jutottak, hogy ilyen magas lókuszsám mellett a modelljük infinitezimális modellhez hasonlóan viselkedik.

CURIK és munkatársai (2001) szimulációs kísérletükben infinitezimális modellel vizsgálták a különböző allélkölsönhatások (dominancia és többféle episztázishatás) és a párosítási eljárások befolyását a beltenyésztettségre. Céljuk a Wright-féle becslési eljárással számolt beltenyésztettségi koefficiens valamint az autozigóta lókusztok száma és az összes lókuszt számának hányadosaként definiált „valós” beltenyésztettség („true inbreeding coefficient”) összehasonlítása volt. 50 lókuszt, 40 hímivarú és 80 nőivarú ($N_e=107$) egyedet vontak be a modellbe. A kétféle számítási mód között 10 szimulációs ciklusnál jelentős különbségek még nem adódtak. Hosszabb időszakot tekintve a pedigre-módszer kissé alábecsülte a beltenyésztettségeket, kivéve az overdominancia esetét.

A szelekció hosszabb távú hatásának vizsgálata is költségtakarékosabb szimulációval, mint valós kísérletekkel (De BOER és Van ARENDONK, 1994). Értékeléskor azonban csak óvatos következtetések vonhatók le (KOMLÓSI, 2002).

3.2. Anyag és módszer

Céлом különböző genetikai tényezőknek

- populációméret,
- génhelyek száma,

- allélkölsönhatás,
- párosítás módja

a genetikai előrehaladást, genetikai változatosságot és a beltenyésztettséget befolyásoló hatását megvizsgálni. A genetikai előrehaladást az allélértékek átlagos összege alapján, a genetikai változatosságot pedig a populáció egységes homozigótává válásának időpontja alapján kívántam összehasonlítani. A vizsgálatban alkalmazott genetikai tényezők különböző értékei az 1. táblázatban olvashatók.

Populációméret¹	1000 egyed		2000 egyed	
Lókuszok száma (lókuszonként 2 allél)	5 lókusz		10 lókusz	
Párosítás módja	Véletlen párosítás		Célpárosítás	
Allélkölsönhatás	Additív génhatás	Részleges dominancia	Teljes dominancia	

1. táblázat. Az allélkölsönhatás és szelekció együttes vizsgálata során figyelembe vett tényezők és változataik

Az alappopuláció egyedeit lókuszonkénti alléljaik meghatározásával definiáltam. A lókuszonkénti két-két allél kezdeti értéke 50–50% valószínűséggel lehetett -1 vagy $+1$ öt lókusz esetén, illetve $+0,5$ vagy $-0,5$ tíz lókusz esetén, hogy az allélértékek összegének maximuma azonos legyen mindkét esetben. A gének allélpárjai függetlenek voltak, nem volt episztázis és a lókuszok között nem volt kapcsoltság. Az allélkölsönhatásoknál több esetet is megkülönböztettem. A dominancia vizsgálatánál a dominancia foka kétféle lehetett, részleges-, vagy teljes dominancia. Additív génhatás mellett a genetikai érték lókuszonként -2 , 0 , $+2$, részleges dominancia mellett -2 , 1 , 2 , teljes dominancia esetén pedig -2 , 2 , 2 lehetett. A környezeti hatás normális eloszlású nulla várható értékű $0,1$ szórású véletlenszám, a fenotípus pedig a lókuszonkénti genotípusok és a környezeti hatás összege volt. Így a környezeti variancia a teljes varianciának $0,03$ - $0,10$ -a volt a kiindulási populációkban, de ez az arány a genetikai variancia csökkenésével nőtt.

¹ Az Európai Állattenyésztők ajánlása szerint egy fajta veszélyeztetett 1000 egyed alatt, 1000-5000 pedig bizonytalan.

A számítógépes szimulációban a párosítástól az utódok generálásán át az egyedek selejtezéséig tartó időszakot szaporodási időszaknak nevezem, és a populáció történetében az idő múlását szaporodási időszakokban mérem. Átfedő populációt alkalmaztam, minden egyed három szaporodási időszakot élt meg. A korosztályok létszáma megegyezett. Minden nőivarú egyednek egy utódja lehetett párosításonként. Az ivararány 1:4 (hímivar : nőivar) volt. A párosítás során keletkezett egyedeket fenotípusuk alapján rangsoroltam, és a legjobbak közül annyit tartottam meg, hogy a populáció létszáma és az ivararány ne változzon.

A szimulációs program szerkezete a következő volt:

- a., Beállítottam a genetikai tényezőket, az egyedek számát, a lókuszek számát, az allélkölcsonhatásokat és a párosítási módot.
- b., A kiinduló populációt véletlenszámok segítségével állítottam elő. A nőivarú és a hímivarú egyedek adatait külön mátrixba helyeztem.
- c., Célpárosítás esetén az egyedeket fenotípus alapján rendeztem. Célpárosítás alatt azt értem, hogy a legnagyobb fenotípus értékű hímeket a négy legnagyobb fenotípus értékű nőivarú egyeddel, a második legnagyobb fenotípus értékű hímeket a második négy legnagyobb fenotípus értékű nőivarú egyeddel párosítottam. Véletlenszerű párosítás esetén ez a lépés kimaradt.
- d., Létrehoztam az utódokat. Ez a párosítási módszer alapján a szülőegedek kiválasztásával kezdődött. Az ivadékmátrixot a szülők genotípusától függően hoztam létre, az ivadékok alléljait lókuszonkénti meghatározással az öröklődési törvények alapján végeztem, vagyis 50% valószínűséggel az egyik vagy a másik allélt kapta az utód a szüleitől. Az ivadékok neme 50%-os valószínűséggel lett nőivarú vagy hímivarú. Minden nőivarú egyednek csak egy utódja lehetett. Képeztem az egyedek fenotípusát is.
- e., A szelekció két lépésben történt. Először a populáció három szaporodási időszakot megélt egyedeit töröltem, majd az új utódokból választottam ki a legnagyobb fenotípus értékű egyedeket, éppen annyit, hogy a populáció létszáma ne változzon.
- f., A kapott eredményeket fájlokba írtam. Szaporodási időszakonként rögzítettem az egyedek allélértékeit, valamint azt az időpontot, ahol a populáció minden egyede először lett minden lókusznál a kedvezőbb homozigóta, valamint a pedigrát. Genotípus helyett azért az egyedek allélértékeit választottam, hogy összehasonlíthatók legyenek az allélkölcsonhatások.

A c, d, e, pontokban leírt lépések 20 szaporodási időszakon át ismétlődtek.

A fenti tényezők változtatásával 24 féle kísérleti beállítást, 15 ismétlésben, 20 szaporodási időszakon keresztül vizsgáltam. A kísérleteknél a szükséges ismétlések számát a tesztelő szimulációs futások alapján számított variancia segítségével az alábbi formula alkalmazásával számítottam ki (ANTAL és mtsai,1978):

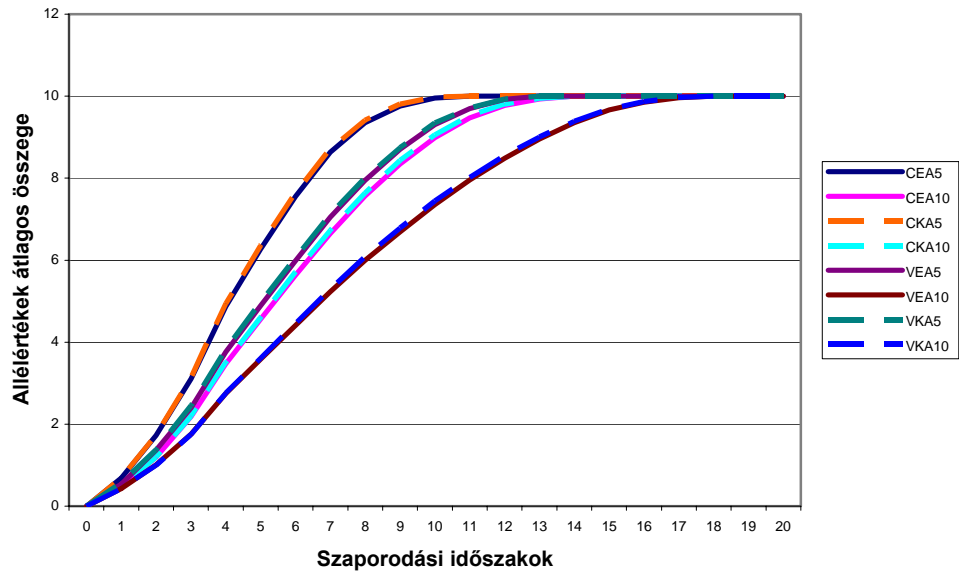
$$n = \frac{t_{p\%}^2 \cdot s^2}{h^2}, \text{ ahol}$$

- $t_{p\%}^2$: táblázatbeli érték
- s^2 : szórásnégyzet
- h : megengedhető becslési hiba (pontosság; a konfidencia intervallum hosszának fele).

A beltenyésztettségi koefficiens számítására WRIGHT (1921) formuláját (2) alkalmaztam. A 10. szaporodási időszak allélértékeit és a beltenyésztettségi koefficienseit hasonlítottam össze. A számítógépes szimulációs programhoz a SCILAB 2.7.2 (DRAKOS, 1997) matematikai szoftvert használtam és a programok egy részét a Nemzeti Információs Infrastruktúra Fejlesztési Program szuperszámítógépén futtattam. A kísérletek eredményeit varianciaanalízissel (SVÁB, 1981), nemparaméteres Kruskal-Wallis (VINCZE és VERBANOVA, 1993) valamint Gehan teszttel (MCGRADY, 2005) és a túlélés analízis modelljeivel – Kaplan-Meier becslés (BOLLA és KRÁMLI, 2005), log-rate modell (VERMUNT és MOORS, 2005) – elemeztem.

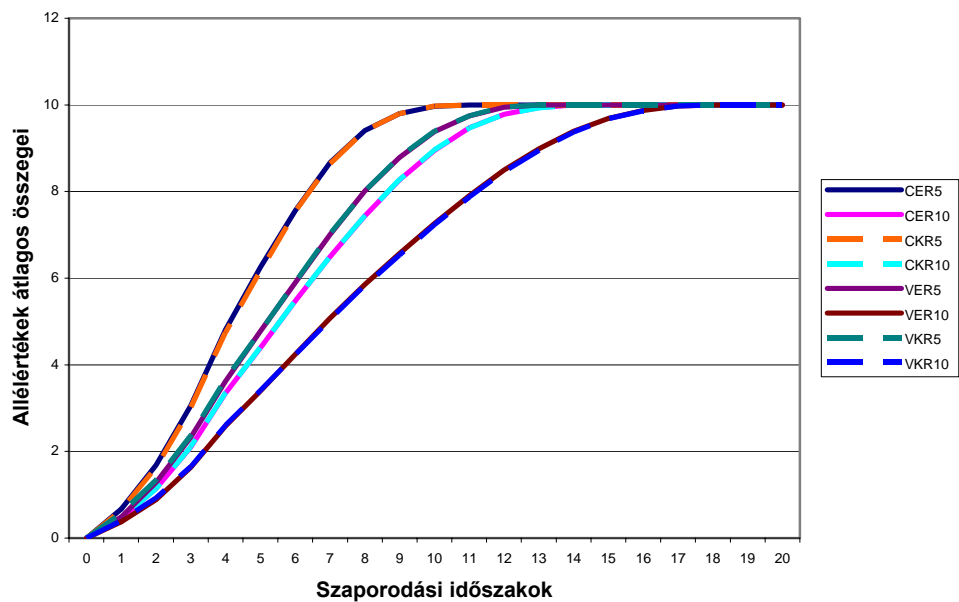
3.3. Vizsgálati eredmények bemutatása és értékelése

A kiindulási allélgyakoriság 0,5 volt. Az A allél értéke +1 a B allélé –1 volt 5 lókuszos esetén, +0,5 és –0,5 pedig 10 lókuszos esetén. Ezzel azt modelleztem, hogy egy lókuszos több illetve kevesebb hatással bírt az adott tulajdonság kifejeződésére. A maximális érték így mindkét lókuszos szám mellett +10 lehetett. Azért nem a genotípus értéket rögzítettem, hogy dominancia hatás esetén is összehasonlíthatóak legyenek a populációk. A maximális 10-es allélérték összeget az additív génhatásnál és a részleges dominanciánál az összes populáció elérte (2. és 3. ábra).



Az ábrán látható rövidítések magyarázatai: C – célpárosítás, V – véletlen párosítás, E – 1000 egyed, K – 2000 egyed, A – additív génhatás, 5 – 5 lókus, 10 – 10 lókus.

2. ábra. A populáció alléltételeinek átlagos összege az idő függvényében additív génhatás mellett

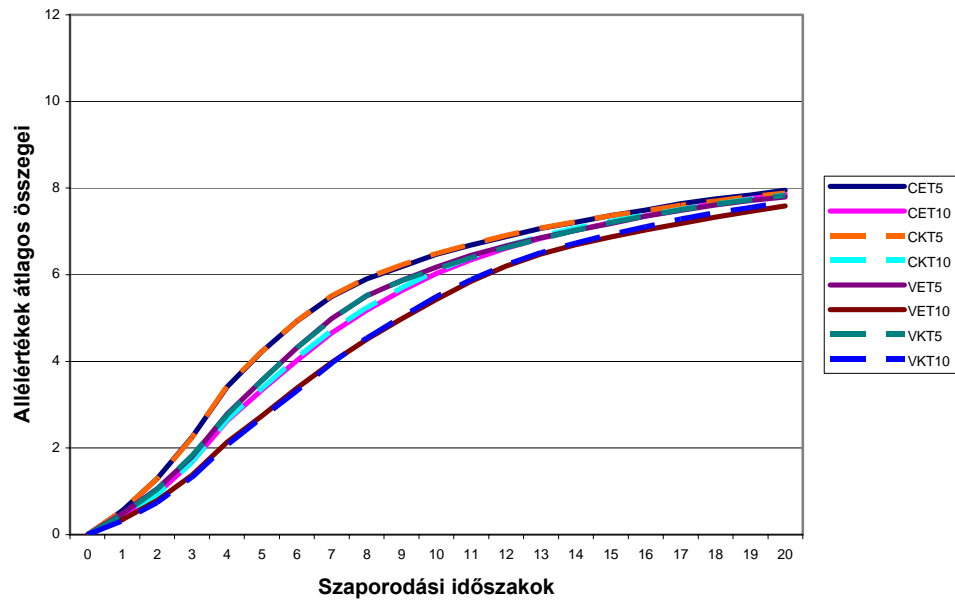


Az ábrán látható rövidítések magyarázatai: C – célpárosítás, V – véletlen párosítás, E – 1000 egyed, K – 2000 egyed, R – részleges dominancia, 5 – 5 lókus, 10 – 10 lókus.

3. ábra. A populáció alléltételeinek átlagos összege az idő függvényében részleges dominancia mellett

A teljes dominancia esetén ez azért nem következett be, mert a szelekciót fenotípus alapján végeztem, és a heterozigóta egyedek fenotípusa megegyezett az egyik

homozigóta fenotípusával. A szelekció során kedvezőtlen allél nem veszett el, heterozigóta alakban megmaradt (4. ábra).



Az ábrán látható rövidítések magyarázatai: C – célpárosítás, V – véletlen párosítás, E – 1000 egyed, K – 2000 egyed, T – teljes dominancia, 5 – 5 lókus, 10 – 10 lókus.

4. ábra. A populáció alléltételeinek átlagos összege az idő függvényében teljes dominancia mellett

Az egyes genetikai tényezők mindegyike hatást gyakorolt a populáció alléltérték összegére. Minden megfelelő összehasonlításban célpárosítás esetén magasabb, véletlenszerű párosításnál pedig alacsonyabb értéket kaptam. A populációméret is befolyásolta a kapott értékeket, nagyobb populációméret mellett hamarabb lett nagyobb az alléltérték összeg. A lókusok számának változtatásakor, ha az adott tulajdonságot 10 lókuszon lévő allélok befolyásolták, akkor ezeknek egyenként kisebb volt a hatásuk, és lassabb volt a genetikai előrehaladás. A allélkölcsonhatások esetén nem mindig volt azonos irányú a változás. Additív génhatásnál és részleges dominanciánál a megfelelő összehasonlításnál nem volt megállapítható azonos irányú változás. Egyértelműen kisebb azonban az alléltérték összeg, amikor teljes a dominancia. A 2. és a 3. táblázat a 10. szaporodási időszak alléltételeinek átlagos összegét mutatja.

Populációméret	Lókuszok száma	Allélkölsönhatás		
		Additív génhatás	Részleges dominancia	Teljes dominancia
1000 egyed	5	9,763	9,798	6,187
	10	8,347	8,267	5,632
2000 egyed	5	9,806	9,801	6,223
	10	8,414	8,278	5,698

2. táblázat. Allélértékek átlagos összege célpárosítás mellett a 10. szaporodási időszakban

Populációméret	Lókuszok száma	Allélkölsönhatás		
		Additív génhatás	Részleges dominancia	Teljes dominancia
1000 egyed	5	8,703	8,797	5,867
	10	6,694	6,570	4,979
2000 egyed	5	8,745	8,804	5,855
	10	6,783	6,533	5,028

3. táblázat. Allélértékek átlagos összege véletlenszerű párosítás mellett a 10. szaporodási időszakban

A beltenyésztettségi értékek összevetésénél is találhatunk egyértelmű hatásokat. A célpárosításnál magasabb, véletlenszerű párosításoknál alacsonyabb beltenyésztettségi mutatókat figyelhetünk meg. A populációméret fordítottan hatott a beltenyésztettségi koefficiensre: nagyobb populációméret mellett kisebb lett a beltenyészttség. A lókuszok számának változása csak célpárosítás mellett mutatott különbségeket. A allélkölsönhatások összehasonlításánál a legnagyobb beltenyésztettségi értékeket az additív génhatásnál, a legkisebbeket pedig a teljes dominanciánál találhatjuk. A 4. és az 5. táblázat a populációk átlagos beltenyészttségét mutatják 10 szaporodási időszak után.

Populációgenetikai kérdések megválaszolására CURIK és munkatársai (2001) is Monte Carlo módszert alkalmaztak. Szimulációs kísérletükben infinitezimális modellel vizsgálták a különböző allélkölsönhatások (dominancia és többféle episztázishatás) és a párosítási eljárások befolyását a beltenyésztettségre. Céljuk a Wright-féle becslési eljárással számolt beltenyésztettségi koefficiens valamint az autozigóta lókuszok száma

és az összes lókuszt számának hányadosaként definiált „valós” beltenyészettesség („true inbreeding coefficient”) összehasonlítása volt. 50 lókuszt, 40 hímivarú és 80 nőivarú ($N_e=107$) egyedet vontak be a modellbe. Pedigrével számolt értékeik 10 szimulációs ciklus után: $F_{\text{additív}}=1,4\%$, $F_{\text{részl.dom.}}=1,4\%$ véletlen párosításnál. Részeredményeiket összevetve sajátommal, hasonló értékeket találtam a beltenyészettességi koefficiensekre. Nálam a hasonló értékek: $F_{\text{additív}}=0,54\%$, $F_{\text{részl.dom.}}=0,48\%$ szintén véletlen párosításnál és 10 szaporodási időszak után, de 1000 egyed ($N_e=750$) és 10 lókuszt mellett.

Populációméret	Lókuszok száma	Allélkölcsonhatás		
		Additív génhatás	Részleges dominancia	Teljes dominancia
1000 egyed	5	1,07%	1,03%	0,42%
	10	1,79%	1,74%	0,51%
2000 egyed	5	0,55%	0,54%	0,21%
	10	1,00%	0,90%	0,25%

4. táblázat. Átlagos beltenyészettesség célpárosítás mellett a 10. szaporodási időszakban

Populációméret	Lókuszok száma	Allélkölcsonhatás		
		Additív génhatás	Részleges dominancia	Teljes dominancia
1000 egyed	5	0,56%	0,53%	0,37%
	10	0,54%	0,48%	0,39%
2000 egyed	5	0,27%	0,25%	0,18%
	10	0,26%	0,25%	0,20%

5. táblázat. Átlagos beltenyészettesség véletlenszerű párosítás mellett a 10. szaporodási időszakban

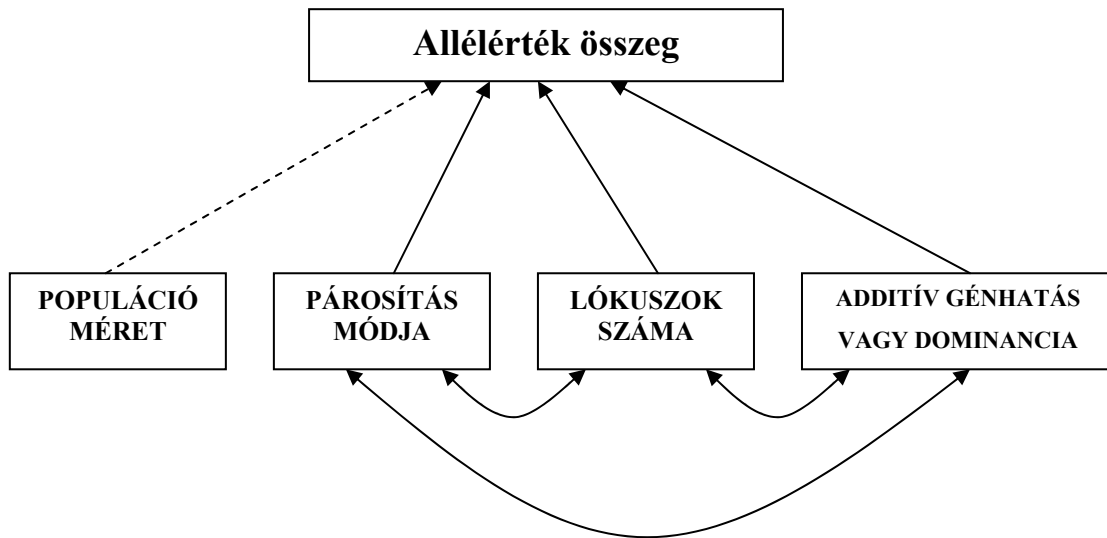
Kísérletemben véletlenszerű párosítás mellett az effektív populációméret 750 illetve 1500 volt. JORJANI és munkatársai (1997b) 1600 és 800 effektív populációméret mellett számoltak beltenyészettességi koefficiens a 25. generációban. Célpárosítás mellett $F_{1600}=1,03\%$, $F_{800}=2,01\%$ volt. Vizsgálatomban a leghasonlóbb esetben célpárosítás mellett $F_{1500}=1,00\%$, $F_{750}=1,79\%$ volt. A két kísérlet közötti különbség egyrészt a generációk számában (25 generáció – 10 szaporodási időszak), a lókuszok számában (2500 lókuszt – 10 lókuszt) volt. Megmutatták azt is, hogy a véletlenszerű és a negatív célpárosítás között nincs szignifikáns különbség a

beltenyésztettségére vonatkozóan semmilyen effektív populációméret ($N_e = 40; 100; 200; 320; 800; 1600$) és semmilyen lókuszszám (100 illetve 2500) mellett.

Ugyanez a kutatócsoport (JORJANI és mtsai, 1997c) végzett tényezőiben az enyémhez igen hasonló szimulációs kísérletet, bár eltérő célokkal. A legfőbb különbségek a kísérletek között a lókuszok számában (ott 2500) és a generációk számában (ott 25) volt. Részeredményeink azonban jól összevethetők, hasonló módon alakult a kedvezőbb allél gyakoriságának változása, vagyis a növekedés görbéje, és a beltenyésztettség mértéke: 1%–3% volt a többi genetikai tényezőtől függően.

Az egyes változatokat varianciaanalízissel is összehasonlítottam. Először ellenőriztem, hogy a varianciaanalízis alkalmazhatóságának feltételei fennállnak-e. A minták függetlensége a kísérleti elrendezésből következett. A normalitás-vizsgálatot Kolmogorov–Szmirnov próbával végeztem, $P=0,399–0,999$ empirikus szignifikancia szint mellett normális eloszlásból származott a mintám. A homogenitáshoz a Levene tesztet alkalmaztam. A teszt eredménye szignifikáns lett ($P<0,001$). Ez azt jelenti, hogy az egyes kísérleti elrendezésekhez tartozó varianciák nem voltak homogének. A gyakorlatban ez nem ritka (GUPTA, 1999) és ebben az esetben a nem egyenlő varianciát feltételező Post Hoc tesztet alkalmazhatjuk, illetve a Tamhane's T2-t (GUPTA, 1999) vagy a Dunnett's C-t (GREEN és mtsai, 1997) választhatjuk. A tesztelt varianciák értékei 0,002–0,098 között voltak.

Az alapmodellben vizsgáltam mind a négy tényező hatását a populáció allélérték összegére, kölcsönhatásokkal. A modell egyszerűsítése érdekében a nem szignifikáns hatásokat töröltem a modelltől, mindaddig, amíg a varianciaanalízis csak az allélérték összeget befolyásoló szignifikáns hatásokat mutatott ($P=0,000–0,023$). Az 5. ábra mutatja a fő hatásokat és a fennálló legjelentősebb interakciókat az allélértékek elemzésénél.



5. ábra. Az allélérték összeget befolyásoló lényeges faktorok a modellben

Kiszámítottam az intraclass korrelációs értékeket, ami megmutatja, hogy a csoporton belüli adatok mennyire hasonlítanak egymáshoz a különböző hatásoknál (kezeléseknél) levő adatokhoz viszonyítva (SVÁB, 1981). Értéke 0 és +1 között változhat. Ha a csoportok között nincs különbség, értéke nulla. Ha a csoporton belüli adatok azonosak, de a csoportok között van különbség, akkor értéke +1. Ezzel a mutatóval az adott hatás erősségét fejezhetjük ki (GREEN és mtsai, 1997). Az intraclass korreláció másik szokásos elnevezése az összetartozási együttható, de ez a kifejezés nem honosodott meg (HAJTMAN és mtsai, 2003). Először tekintsük a befolyásoló tényezőket interakciók nélkül. A legnagyobb hatással az allélkölesönhatás bírt, a hozzá tartozó intraclass korreláció $r_{\text{allélkölesönhatás}}=0,99$ volt. Ez tehát azt jelenti, hogy egy allélkölesönhatáshoz tartozó adatok szinte azonosak voltak, de kétféle génhatás között különbség volt. Utána következett a sorban a lókuszok száma, $r_{\text{lókusz}}=0,97$. A harmadik meghatározó tényező a párosítás módja volt, $r_{\text{párosítás}}=0,95$. A populációméret is szignifikáns eltérést mutatott ($P=0,023$), de az előzőekhez képest csekély hatása volt az allélérték összegre, csupán $r_{\text{populációméret}}=0,01$. A 6. táblázat az egyes hatásokhoz tartozó varianciakomponenseket és intraclass korrelációs értékeket tartalmazza.

Hatások	Intraclass korreláció (r)	Variancia-komponensek	A teljes variancia hány százaléka tulajdonítható az adott hatásnak
Allélkölsönhatás	0,99	1,6681	63,68%
Lókuszek száma	0,97	0,5246	20,03%
Párosítás módja	0,95	0,2963	11,31%
Lókuszsám-allélkölsönhatás interakció	0,81	0,0698	2,66%
Párosítás-allélkölsönhatás interakció	0,71	0,0418	1,60%
Párosítás-lókuszsám interakció	0,53	0,0187	0,71%
Populációméret	0,15	0,0002	0,01%

6. táblázat. Az allélérték összeget befolyásoló faktorokhoz tartozó intraclass korrelációs értékek és varianciakomponensek

Nemparaméteres próbával, a Kruskal–Wallis teszttel hasonló eredmények kaptam. Az egyedüli eltérés az volt, hogy a populációméret gyenge hatása az allélérték összegre itt már nem volt szignifikáns ($P=0,726$).

Az interakciók között is voltak szignifikáns hatások. Az interakciók létéből az következik, hogy az egyes faktorokat nem tekinthetjük függetleneknek, hanem az általuk felfeszített többdimenziós térben kell értelmeznünk (SZÉKELYI és BARNA, 2002). Nem vethetjük össze, az additív génhatást a részleges dominanciával vagy az 5 lókuszesetét a 10 lókuszéval, hanem meg kell különböztetnünk az additív génhatás és 5 lókuszesetét, additív génhatás és 10 lókuszesetét, részleges dominancia és 5 lókuszesetét, részleges dominancia és 10 lókuszesetét. Az interakciók közül a legnagyobb hatásúnak az előbb említett lókuszsám – allélkölsönhatás interakció bizonyult ($r_{\text{lókuszsám - allélkölsönhatás}} = 0,81$), majd a párosítási mód – allélkölsönhatás ($r_{\text{párosítás - allélkölsönhatás}} = 0,71$) és a párosítási mód – lókuszsám következett ($r_{\text{párosítás - lókuszsám}} = 0,53$). A populációméret semmilyen faktorial nem mutatott szignifikáns interakciót.

A populáció allélérték összegének interakciót is figyelembe vevő csoportosítása mellett a következő esetek között nem volt eltérés:

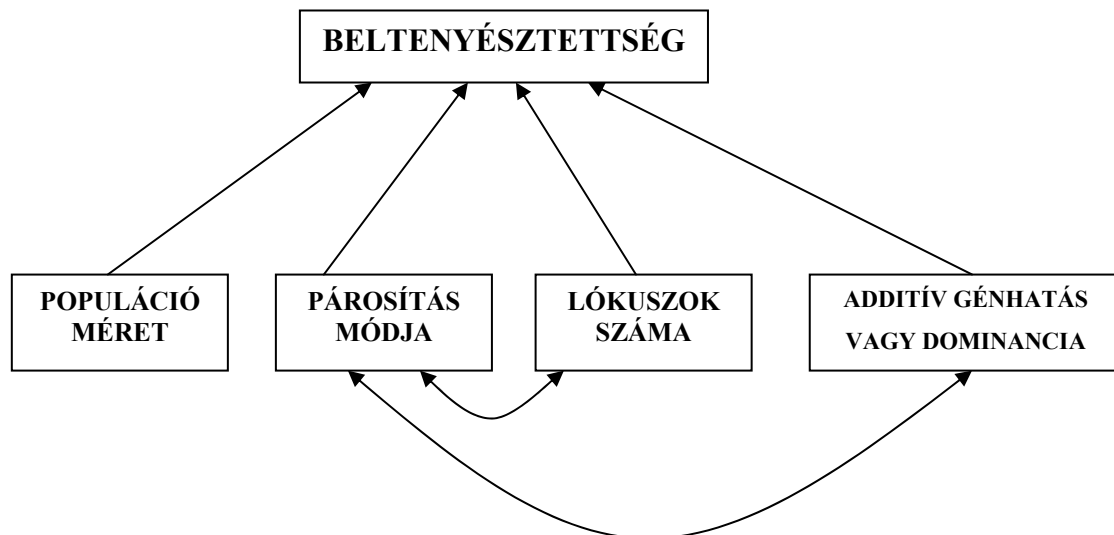
- célpárosításnál, 5 lókusztól mellett az additív génhatás és a részleges dominancia között ($P=1,000$),
- célpárosításnál, 10 lókusztól mellett az additív génhatás és a részleges dominancia között ($P=0,248$),
- véletlen párosításnál 5 lókusztól mellett az additív génhatás és a részleges dominancia között ($P=0,978$).

A statisztikai elemzések megmutatták, hogy az egymást követő generációk genotípus összetételére a legnagyobb befolyással a vizsgált genetikai tényezők közül az allélkölsönhatás volt. Egészen pontosan a teljes dominancia megléte befolyásolta leginkább a genetikai szerkezetet, míg az additív génhatás és a részleges dominancia között nem volt szignifikáns eltérés. A leprogramozott szelekciós eljárás során a fenotípusok szerint rangsorolt egyedek legjobbjait tartottam meg, ennek köszönhetően teljes dominancia esetén fenotípus alapján nem volt megkülönböztethető a heterozigóta és a kedvezőbb homozigóta. Heterozigóta formában a kedvezőtlen allél megmaradt, míg a másik két esetben 20 szaporodási időszakon belül minden esetben kisselektálódott. Teljes dominancia esetén a 20. szaporodási időszakban a kedvezőtlen allél gyakorisága minden esetben 0,1-nél magasabb volt.

A második legfontosabb tényező az allélértékek szempontjából a lókusztól száma volt. Öt lókusztól esetén kevesebb gén egyenként nagyobb hatással, míg tíz lókusztól esetén több, egyenként kisebb hatású gén befolyásolta az adott tulajdonság kifejeződését. Tíz lókusztól mellett a genetikai változatosság későbbi időpontban lett nulla, a populáció átlagos genetikai értéke lassabban emelkedett. Harmadik tényező a párosítás módja volt, célpárosításnál gyorsabban, véletlenszerű párosításnál lassabban növekedett a populáció átlagos genetikai értéke. A populáció létszáma csak kissé befolyásolta az allélértékeket.

A beltenyésztettségénél is hasonló módon kerestem a szignifikáns különbségeket mutató hatásokat. Itt a függő változót több faktor egyenként kisebb erővel befolyásolta. A fő faktorok közül legnagyobb hatást a beltenyésztettség értékekre a párosítás módja ($r_{\text{párosítás}} = 0,62$), a legkisebbet pedig a lókusztól száma ($r_{\text{lókusztól szám}}=0,21$) mutatott (7. táblázat). Az allélkölsönhatásnál $r_{\text{allélkölsönhatás}}=0,53$, a populációméreténél $r_{\text{populációméret}} = 0,51$ volt. Az interakciók közül a párosítási mód – allélkölsönhatáshoz

tartozó volt erősebb hatású ($r_{\text{párosítás} - \text{allélkölsönhatás}} = 0,38$), míg a párosítás – lókuszsám interakcióhoz tartozó intraclass korrelációs érték $r_{\text{párosítás} - \text{lókuszsám}} = 0,22$. A 6. ábra mutatja a fő hatásokat és a fennálló legjelentősebb interakciókat a beltenyésztettségre nézve. A 7. táblázat az egyes hatásokhoz tartozó varianciakomponenseket és intraclass korrelációs értékeket tartalmazza.



6. ábra. A beltenyésztettséget befolyásoló lényeges faktorok a modellben

Az allélérték összegnél, és a beltenyésztettségnél az allélkölsönhatások közül az additív génhatás és a részleges dominancia között nem volt szignifikáns különbség ($P_{\text{allélérték összeg}}=0,979$, $P_{\text{beltenyésztettség}}=0,903$), de mindkettő jelentősen eltért a teljes dominancia hatástól ($P_{\text{allélérték összeg}}<0,001$, $P_{\text{beltenyésztettség}}<0,001$). A zárójelbe tett empirikus P értékek a Tamhane's T2 teszt eredményei. A teljes modell megmagyarázott hányadának torzítatlan értéke (SZÉKELYI és BARNA, 2002) $R^2_{\text{allélérték összeg}}=99,4\%$ $R^2_{\text{beltenyésztettség}}=83,2\%$ volt.

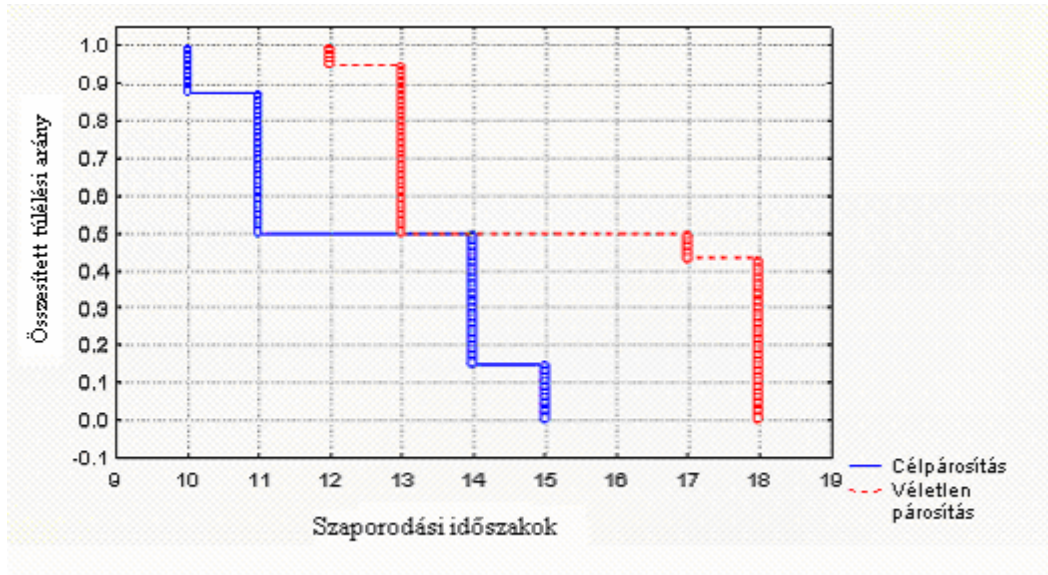
Hatások	Intraclass korreláció (r)	Variancia-komponensek	A teljes variancia hány százaléka tulajdonítható az adott hatásnak
Párosítás módja	0,62	0,0302	32,67%
Allélkölsönhatás	0,53	0,0209	22,65%
Populációméret	0,51	0,0193	20,85%
Párosítás-allélkölsönhatás interakció	0,38	0,0116	12,52%
Párosítás-lókuszsorszám interakció	0,22	0,0054	5,83%
Lókuszosok száma	0,21	0,0051	5,48%

7. táblázat. A beltenyésztettséget befolyásoló faktorokhoz tartozó intraclass korrelációs értékek és variációkomponensek

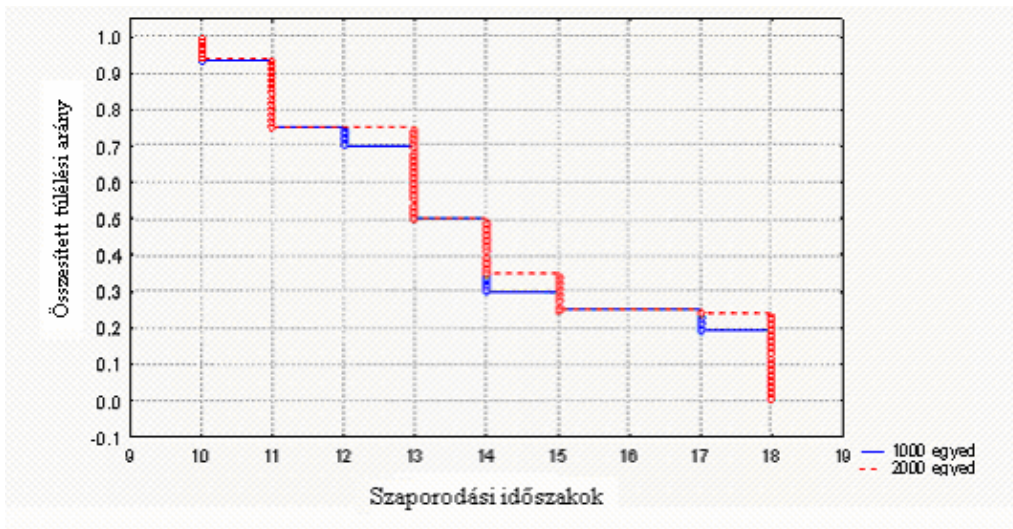
Nemparaméteres próbát alkalmazva (Kruskal–Wallis teszt) minden tényező szignifikáns hatást mutatott a beltenyésztettségre ($P < 0,001$).

A beltenyésztettséget többféle hatás bonyolultabb struktúrában befolyásolta. A legerősebb hatást a párosítás módja gyakorolta a beltenyésztettségre. Célpárosításnál a legjobbakat a legjobbakkal párosítjuk, és ezek között nem ritka a rokonsági kapcsolat. Véletlenszerű párosításnál a rokonok párosításának kisebb az esélye, és ezt a számok is egyértelműen bizonyították: véletlenszerű párosításnál az átlagos beltenyésztettségi koefficiensek a 10 szaporodási időszakban 0,18%-0,56% közötti, célpárosításnál 0,21%-1,79% közötti értékeket vettek fel a többi genetikai tényezőtől függően. A második fő faktor a allélkölsönhatás volt. Itt is a teljes dominancia mellett kaptam az additív génhatás és a részleges dominanciától jelentősen eltérő értékeket. Ennek magyarázata itt is abban keresendő, hogy a heterozigóta és a kedvezőbb homozigóta egyedek fenotípusos megjelenése megegyezik, a párosítás során jelentősen eltérő genotípusú egyedek is párosodhattak. A harmadik legerősebb hatás a populációméret volt. Nagyobb populációméret mellett kisebb a valószínűsége a rokonok párosításának. Végül a lókuszosok száma áll a sorban de ez csak a célpárosítással együtt fejtette ki igazán a hatását.

A kísérlet során rögzítettem, hogy hányadik szaporodási időszakban lett egy populáció genetikai variáciája nulla. Ezeket az eseményeket az esemény-történet analízis modellek közül a Kaplan-Meier eljárással vizsgáltam. A 7. 8. 9. és 10. ábrán láthatók a Kaplan-Meier „túlélést” becslő függvényei. A modellben szokásos terminológiát használva itt a „halál” akkor következett be, amikor a genetikai variancia nulla lett, ez az állapot ugyanis már nem visszafordítható. Ennek értelmében itt a túlélés jelentése, hogy a genetikai variancia még nem nulla. Az ábrákon a függőleges tengelyen olvasható „összesített túlélési arány” úgy értelmezhető, hogy az összes esetet figyelembe véve milyen arányban nem következett be a genetikai értékek maximalizálódása, vagyis, a genetikai variancia nullává válása. A becslés diszkrét valószínűségi változónak tekinti az időt, ezért két időpont között nincs becsült érték. A függőleges irányú rés azt szemlélteti, hogy egy adott pillanatban az egyik csoportnál mennyivel nagyobb a „túlélők” aránya a másik csoporthoz viszonyítva. A vízszintes távolság megfigyelésével azt olvashatjuk le az ábráról, hogy az egyik csoportnál mennyivel később következik be, hogy a túlélők aránya megegyezzen.



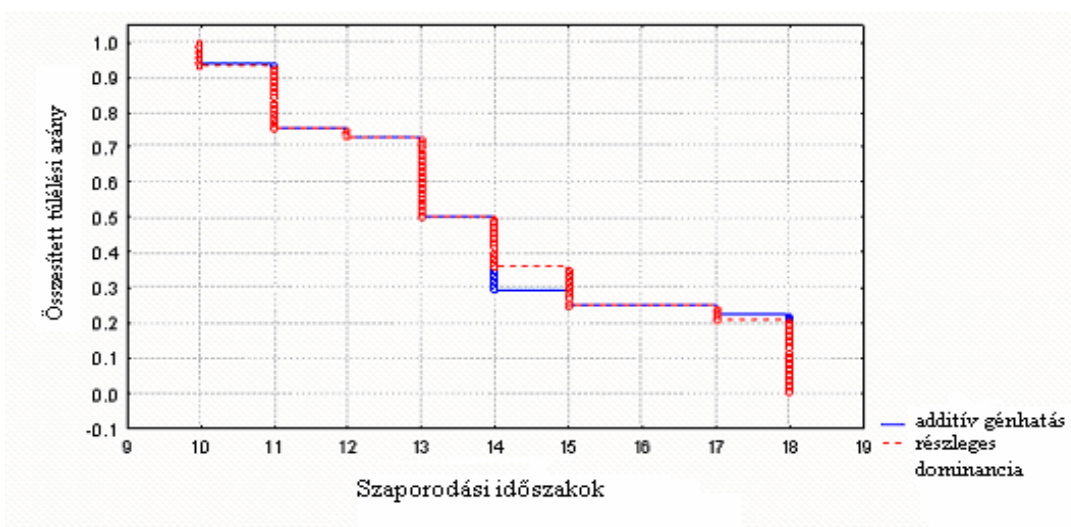
7. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre eltérő párosítási módszerek mellett



8. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre eltérő populációméret mellett



9. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre eltérő lókuszzám mellett



10. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre eltérő allélköcsönhatások mellett

Az ábrákon a görbék közötti távolság az eltérő lókuszszaámok mellett a legnagyobb. Ez azt mutatja, hogy a genetikai variancia nullává válásának időpontja között itt mutatkozott a legnagyobb különbség. Kisebb a távolság, de még nem esnek egybe a görbék a különböző párosítási eljárások esetén. Az additív génhatáshoz és a részleges dominanciához tartozó görbék szinte teljesen egybeesnek, közöttük alig van különbség. Hasonló a helyzet a populációlétszámnál is.

Előbbi megfigyeléseimet, vagyis azt, hogy az egyes genetikai tényezők szignifikánsan befolyásolták-e a genetikai variancia megszűnésének időpontját, az általánosított Wilcoxon próbával (Gehan teszttel) ellenőriztem. Szignifikáns különbség kétszer adódott, az eltérő párosítási eljárásoknál, és az eltérő lókuszszaámánál ($P < 0,001$). Nem volt szignifikáns különbség a populáció létszámanál ($P = 0,58$) és a génhatások közül az additív és a részleges dominancia között ($P = 0,89$). Ebből a vizsgálatból kihagytam azokat az eseteket, ahol teljes dominancia volt az allélkölcsonhatás, mert ezekben az esetekben egyszer sem következett be a figyelt esemény, és a módszer alkalmazhatóságának feltétele volt, hogy a cenzorált (itt a be nem következett) esetek és a vizsgált hatások függetlenek legyenek. Ezt a feltételt csak úgy tudtam biztosítani, hogy a modelltől a teljes dominancia hatást tartalmazó részeket kihagytam.

A log-rate exponenciális modell segítségével becslést készítettem az egyes hatások mellett a genetikai variancia nullává válásának intenzitására a halálozási intenzitás analógjaként. A log-rate exponenciális modell az alábbiak szerint alakult:

$$\ln h_{msla} = u + u_m^M + u_s^S + u_l^L + u_a^A, \quad (4)$$

az egyes hatások betűjele: m -párosítási eljárás, s -populációméret, l -lókuszosz száma, és a -additív génhatás vagy részleges dominancia. A (4)-gyel jelölt formula x_{ij} tervmátrixos (*design matrix*) alakja :

$$\ln h_{msla} = \beta x_{ij} + \beta_m x_{ij} + \beta_s x_{ij} + \beta_l x_{ij} + \beta_a x_{ij}$$

A β paraméterek becsült értéke (8. táblázat):

A táblázatbeli e^β értékek segítségével számíthatók az intenzitási értékek, melyekből képzett hányadosok már tekinthetők két valószínűség arányának is. Ez alapján célpárosításnál 3,522-szer nagyobb a valószínűség a genetikai variancia nullává válásának, mint a véletlenszerű párosításnál, 1000 egyednél kisebb az eltérés a 2000 egyedhez képest, ott csak 1,058-szor nagyobb a valószínűsége a genetikai maximum elérésének. A legnagyobb kockázati különbség a genetikai plató elérésére az 5 és a 10

lókusz között volt, 5,578-szor nagyobb a valószínűség 5 lókusz esetén. Nagyon kicsi az eltérés az additív génhatás és a részleges dominancia hatása között, mindössze 1,011-szer nagyobb a genetikai variancia eltűnésének valószínűsége additív génhatás mellett. A populáció létszám és allélkölsönhatások esetén az eltérések nem szignifikánsak ($P_{\text{populáció létszám}}=0,663$, $P_{\text{allélkölsönhatás}}=0,929$).

Hatások	β	St. hiba	e^β	Szab. fok	P érték
Fő hatás	-0,8502	0,0645	0,4273	1	0,007
Párosítás					
Célpárosítás	0,6295	0,0674	1,8767		
Véletlen párosítás	-0,6295		0,5328	1	0,000
Populációméret					
1000	0,0281	0,0646	1,0285		
2000	-0,0281		0,9723	1	0,663
Lókuszszám					
5	0,8594	0,0674	2,3618		
10	-0,8594		0,4234	1	0,000
Allélkölsönhatás					
Additív génhatás	0,0057	0,0646	1,0057		
Részleges dominancia	-0,0057		0,9943	1	0,929

8. táblázat. Az exponenciális log-rate modell eredménytáblázata

A túlélés analízis használhatósági feltételei miatt a teljes dominancia hatást ezzel a módszerrel nem elemezhettem, mivel az összes eset cenzorált volt. Varianciaanalízissel az allélértékek összegét, túlélés analízissel pedig azt az időpontot vizsgáltam, ahol a genetikai variancia nullává vált, de ez a két tényező szoros kapcsolatban áll egymással. Az eredmények is ezt tükrözték, ami az egyes genetikai tényezők által gyakorolt hatás erősségének sorrendjét illeti.

3.4. Következtetések és javaslat

Következtetések

1. A vizsgált tényezők mindegyike – a populációméret, a lókuszok száma, a párosítás módja, valamint az additív és dominancia génhatás – befolyásolta a populáció allélérték összegét. A tényezők közül a teljes dominancia jelenlétének volt a legnagyobb hatása. Ennek az az oka, hogy a teljes dominancia mellett a heterozigóták és a kedvezőbb homozigóták fenotípus alapján nem voltak megkülönböztethetők, a kedvezőtlen allél nem szelektálódott ki, és így a genetikai variancia nem csökkent nullára. Additív génhatásnál és részleges dominanciánál a kedvezőtlen allél 20 szaporodási időszakon belül kiesett, a genetikai értékek elérték a maximumot, a genetikai variancia pedig nulla lett.

2.a. A dominancia után a lókuszok száma befolyásolta legnagyobb mértékben az allélgyakoriságot. Amikor a tulajdonságot 10 gén határozta meg, a 10. szaporodási időszakban szignifikánsan kisebb volt a populáció allélérték összege, mint az 5 lókuszos esetekben. A genetikai értékek növekedése a populációban lassabban zajlott a 10 gén mellett, mint az 5 gén esetén, mert több kedvezőtlen allélnak kellett kiszelektálnia az állományból.

2.b. A lókuszszám-allélkölsönhatás interakció úgy értelmezhető, hogy az 5 és 10 lókusz közötti hatásbeli különbséget a teljes dominancia mérsékelte.

3.a. A harmadik lényeges tényező a párosítás módja; célpárosítás mellett gyorsabban növekedtek a genetikai értékek, mert így nagyobb volt az esély, hogy homozigóta egyedek keletkezzenek.

3.b. A párosítás-allélkölsönhatás interakció úgy értelmezhető, hogy a célpárosítás genetikai értékek növekedését gyorsító hatását a teljes dominancia tompította.

3.c. A párosítás–lókuszzám interakció következtében 10 lókusz esetén a célpárosítás hatása nagyobb volt, mint 5 lókusz esetén, 10 lókusz mellett erőteljesebben gyorsult a folyamat.

4. A beltenyésztettség alakulásánál a hatótényezők sorrendje: párosítás módja, a allélkölsönhatások, a populációméret és a lókuszok száma volt. Leginkább a párosítás módja befolyásolta beltenyésztettségi koefficiensek alakulását. Célpárosításnál a beltenyésztettség magasabb volt, mint véletlenszerű párosításnál. Ennek oka, hogy a fenotípusosan hasonló egyedek közt több volt a genotípusosan is hasonló és így rokonsági kapcsolatban álló egyed.

5.a. A allélkölcsonhatások közül, a populáció allélérték összegénél leírtakhoz hasonlóan a teljes dominancia tért el jelentősen, akár az additív génhatástól, akár a részleges dominanciától. Ez utóbbi kettő között nem volt szignifikáns különbség. A teljes dominanciánál kisebb beltenyészetttség mutatkozott. Ez azzal magyarázható, hogy a heterozigóta és a kedvezőbb homozigóta egyedek nem voltak megkülönböztethetők a következő nemzedék szüleinek kiválasztásakor, így nagyobb valószínűséggel kerültek párosításra különböző genotípusú egyedek, így kevésbé rokon egyedek.

5.b. A teljes dominancia markánsan elkülönülő hatása még kifejezettebb volt célpárosításnál, mint véletlenszerű párosításnál. Más szóval a célpárosítás beltenyészetttséget növelő hatását jelentősen mérsékelte a teljes dominancia megléte, illetve véletlenszerű párosítás mellett kisebb volt annak a jelentősége, hogy a teljes dominanciánál a kedvezőbb homozigóták és a heterozigóták fenotípusosan nem voltak megkülönböztethetők.

6. A harmadik hatótényező a populációméret volt. A kis populációméret növeli a rokonegyedek párosodási valószínűségeit, ezáltal növeli a beltenyészetttséget.

7. A genetikai változatosság elvesztésének időpontját vizsgáltam túlélés analízissel. Ebbe az elemzésbe a teljes dominancia hatás eseteit nem vontam be, mert a módszer alkalmazhatóságának feltételei ezt nem tették lehetővé, hiszen egyetlen alkalommal sem csökkent a genetikai variancia nullára. A kapott eredmények megerősítik a populáció allélérték összegének varianciaanalízissel történt vizsgálatának eredményeit. Ez nem meglepő, hiszen minél nagyobb volt a populáció allélérték összege a 10. szaporodási időszakban, annál hamarabb következett be az allélvesztés, így módon tehát a két vizsgált tényező kapcsolatban állt egymással. A log-rate modellel vizsgálva az allélvesztés valószínűsége 5,58-szor nagyobb 5 lókusznál, mint 10 lókusznál, és 3,52-szer nagyobb célpárosításnál, mint véletlen párosításnál.

Javaslat

A teljes dominancia megléte nagymértékben befolyásolta a populáció allélérték összegét és a beltenyészetttséget is. Egy modell megalkotásakor ezzel a hatással is számolni kell.

4. Génmegőrzés

4.1. Irodalmi áttekintés

A kihalás szélén álló tenyészet lehet, hogy a jövő számára tartogat valamilyen értékes tulajdonságot. Főleg betegséggel szembeni ellenálló képesség, vagy rosszabb tartási-, takarmányozási körülményekhez való jobb alkalmazkodó képesség (pl. hőtűrés) átörökítésénél lehet szerepük. Azonban elég nehéz előre megjósolni mire lesz szükség és mire nem. Ami a jelenben nem gazdaságos, az a későbbiekben lehet, hogy az lesz, hiszen egy új környezeti körülményhez való alkalmazkodás nagyon hosszú időt vehet igénybe, és főleg őshonos fajták felhasználásával ez a folyamat felgyorsítható. Ha a jelenben érdektelennek tűnő fajokra, fajtákra nem vigyázunk, akkor később az állattenyésztőknek nehezebb lesz az átállítás, hogy az egyre növekvő igényt kielégítő élelmiszeripar számára biztosítsák a kívánt minőségű alapanyagokat.

A génmegőrzés célja a genetikai variabilitás megőrzése. Ha egy populáció létszáma túl kicsi, ott különböző problémák léphetnek fel: beltenyésztettség, és annak következtében genetikai leromlás, vagy a genetikai drift következményeképpen allélvesztés. FRANKHAM (1995) szerint kis populációkban a kezdeti heterozigotitás, a nemzedékek száma és az effektív populációméret befolyásolja a genetikai variabilitást.

A génmegőrzés több módon is történhet. Magánszemélyek hobbiból, valamint egyes állatkertek tartanak ritka állatokat. Már arra is van példa, hogy az állam támogatást fizet a tenyésztőknek, hogy a már nem gazdaságos, de egyedszámát tekintve ritka fajtákat tartsák. A környezet vagy a vásárlói igények megváltozásával később talán újra lehetséges ezen állatok hasznosítása (HODGES, 1990).

Az adott fajtára jellemző változatosság megismerése és fenntartása a cél a génmegőrzési programoknál. Ennek egyik módja lehet olyan tenyésztési program készítése, ahol az effektív populációméretet maximalizálják (GILL és HARLAND, 1992). Hasonló módon történt ez a magyar szürke marha állomány esetében is (BODÓ, 1990). Génmegőrzés céljából fenntartott őshonos magyar tyúkfajták kis populációiban pedig rendszeresen végeztek vércsoport és biokémiai polimorfizmus vizsgálatokat a beltenyésztettség elkerülése érdekében PAPP és munkatársai (1999).

4.1.1. Génmegőrzési kutatások mikroszatellitek alkalmazásával

A mikroszatellitek a ma használt DNS markerek közül a legáltalánosabbak. Ezek 1, 2 vagy több DNS bázis ismétlődései, és az egyes allélek eltérő számú ismételt szekvenciával rendelkeznek. „A genomban rendkívül nagy számú mikroszatellit található és ezek mindegyike eltérő ismétlődést mutat. Ismert biológiai funkcióval nem rendelkeznek” (FÉSÜS, 1997). A mikroszatellitek vizsgálatának elsősorban a MAS – (Marked Assisted Selection) alkalmazásakor van leginkább jelentősége, vagyis amikor markerek segítségével az azzal kapcsoltsági viszonyban álló kvantitatív tulajdonságot meghatározó allélváltozatok meglétét ellenőrzik, és így a szelekció során a legjobb genetikai állománnyal rendelkező egyedeket tarthatják meg. Ezen kívül, azonban alkalmazható még „populációk genetikai szerkezetének vizsgálata, őshonos (génrezerv) állományok fenntartása esetén is” (FÉSÜS és mtsai, 2000).

A „palacknyak” jelenséget vizsgálták mikroszatellitek és szimuláció segítségével MAUDET és társai (2002) védett vadkecske fajtánál (Alpine ibex). A „palacknyak” jelenség akkor lép fel, amikor egy állatpopuláció létszáma nagyon kicsire csökken, majd utána ismét megnövekszik (DOHY, 1999). Namíbiában őshonos Sanga Cattle genetikai diverzitását vizsgálták mikroszatellites technikák segítségével NORTIER és társai (2002). Szintén kis populációnál alkalmazták a mikroszatellit markereket TAKEDA és társai (1995). Ők a kapott információk és számítógépes szimulációk alapján a rokonsági viszonyok alakulását, a beltenyésztettséget tanulmányozták. Számításaik szerint a mikroszatellit markerek alapján a beltenyésztettség mértéke a Wright-féle módszernél pontosabban meghatározható.

In vivo tartani egy állatállományt talán nem a legolcsóbb módja a gének őrzésének, hiszen mélyhűtéses in vitro technikák révén más lehetőségeink is vannak. Kétségtelen előnye azonban, hogy a tenyésztési célok változásakor az élő állatok azonnal rendelkezésünkre állhatnak, és nincs szükség drága és komplikált laboratóriumi technikák alkalmazására.

LACY (1987) megállapítása szerint, ha a tenyészet 100-nál kevesebb nőivarú egyedből áll, a genetikai variancia magas szinten tartása komoly problémát jelent. Számítógép segítségével elemezve a problémát megmutatta, hogy a drift következményeként fellépő véletlen genetikai változás elnyomhat minden más tényezőt ami a variabilitást növeli vagy csökkenti, legyen az mutáció, migráció, vagy szelekció.

4.1.2. Wahlund hatás

Olyan populációkban, amelyek részpopulációs szerkezetűek, a Hardy-Weinberg egyensúlyhoz képest eltéréseket tapasztalhatunk. A részekre osztott populációkban a Hardy-Weinberg egyensúlyhoz képest megnövekedett homozigóta gyakoriságot Wahlund hatásnak nevezzük (RIDLEY, 2005). Ezért tehát ismernünk kell a populáció szerkezetét amikor a Hardy-Weinberg alapelvet alkalmazzuk, más különben úgy tűnhet, hogy homozigóta többlet van a Hardy-Weinberg egyensúlyhoz képest. Esetleg szelekciót vagy más tényezőt sejtethetünk ami a homozigóta egyedeket előnyben részesíti. A Wahlund hatás következménye, hogy amennyiben az előzőleg részekre osztott populációt egybeolvasztjuk, a homozigóták gyakorisága csökkenni fog (RIDLEY, 2005). Emiatt, ha egy előzőleg elzárt populáció egy tőle nagyobb populációval egyesül, akkor csökken a ritka recesszív genetikai betegségek száma, ugyanis a recesszív genetikai betegségek csak homozigóta formában fejeződnek ki. Ha két populációt egyesítünk, akkor csökkenni fog a homozigóta egyedek száma, ez a magyarázat a jelenségre.

4.1.3. Shannon index

Az élet számos területén, így a biológiában is fontos lehet a változatosság mérése. Ha a problémát statisztikai szempontból vizsgáljuk, akkor a változónk típusa szerint két esetet különböztethetünk meg. Amennyiben a változónk magas mérési szintű (intervallum skála vagy arányskála típusú) (KOVÁCS, 2000), úgy leggyakrabban szórással, varianciával jellemezhetjük változónk felvett értékeinek változatosságát. Alacsony mérési szintű változónál (nominális, ordinális típusú) (KOVÁCS, 2000) az előbb említett mutatókat nem alkalmazhatjuk, hiszen mindkettő az átlagszámításra alapul és a minőségi tulajdonságoknak nem értelmezhető a számtani közepe.

A genetikai változatosság mérésére az eredetileg az információelméletből származó Shannon-féle entrópia számítása jelenthet megoldást. SHANNON (1948, 1949) egy $p = \{ p(x); x \in X \}$ eloszlású ξ diszkrét valószínűségi változó által szolgáltatott információ mennyiségének mérésére a

$$H = H(\xi) = - \sum_{x \in X} p(x) \log_2 p(x)$$

mennyiséget vezette be, ahol X egy információ forrás jelkészlete, vagy ábécéje, ennek a halmaznak az elemei x -ek, a jelek, vagy szavak. A ξ értékei a forrás által kibocsátott jelek (BARÓTI és mtsai, 1993). Az eredeti kettes alapú logaritmus helyett használható más alapú logaritmus is, az entrópia tulajdonságai megmaradnak, csak az információ mennyiség „mértékegysége” lesz más. Ezt az értéket nevezte el Shannon formai analógia alapján – Neumann János javaslatára – a $\{p_1, p_2, \dots, p_n\}$ valószínűség-eloszlás entrópiájának (FÜLÖP, 1996).

Amikor a valószínűségek kicsik és az eloszlásban nagy számú változat lehetséges, akkor a statisztikai entrópia a változatosságot méri. A változatosság mennyiségileg analóg a varianciával, ha statisztikailag intervallum mérési szintűek a változóink. Az entrópia nulla, ha az eseményekre igaz, hogy $p(x)=1$ minden x -re, és pozitív egyéb esetekben. Felső határa akkor van, ha egyenletes eloszlású a változó, vagyis $p(x) = \frac{1}{N}$ minden x -re, ahol N a kategóriák száma. A statisztikai entrópia mértéke a legalapvetőbb mértéke az információelméletnek (KRIPPENDORFF, 2004).

A biológiai diverzitás mérésére leggyakrabban a Shannon indexet (H) vagy a Simpson indexet (D) alkalmazzák (ROUTLEDGE, 1979). A számítási módjuk a következő formulák alapján történik (RICOTTA és mtsai, 2004):

$$\text{Shannon index (SHANNON és WEAVER, 1963): } H = -\sum_i^N p_i \ln p_i$$

$$\text{Simpson index: } D = \sum_i^N p_i^2,$$

ahol a p_i jelöli az adott tulajdonság megjelenésének esetleg egy adott helyen lévő fajták (COLLOBERT–LAUGIER és mtsai, 2002) előfordulásának relatív gyakoriságát. Szokás ezeket az indexeket az alábbi módon is számolni (NAGENDRA, 2002):

$$\text{Shannon index: } HI = 1 - \sum_i^N p_i \ln p_i$$

$$\text{Simpson index (SIMPSON, 1949): } DI = 1 - \sum_i^N p_i^2, \quad (5)$$

ahol a p_i jelentése az előzőekben írtakkal megegyezik. Ez utóbbi formulát (5) szokás gén diverzitásnak is nevezni (WEIR, 1990).

A kétféle index közül a Shannon-féle érzékenyebb a Simpson indexnél, így kisebb eltérések is kimutathatók (MCCLANAHAN, 1998). Hazai vonatkozása a kérdéskörnek, hogy az eredeti entrópia fogalmat később RÉNYI Alfréd (1976) és az

egyetemünkön oktató DARÓCZY Zoltán (DARÓCZY, 1969, 1972; ACZÉL és DARÓCZY, 1975) általánosította és tárta fel mértékelméleti összefüggéseit.

Az alábbi táblázatokban feltüntettem, hogyan változik az entrópia (Shannon index) értéke, ha kettő, illetve három allél található egy lókuszon, illetve, ha változik az allélgyakoriság (9. és 10. táblázat).

Az allélváltozatok gyakorisága		Entrópia
p	q	
0,1	0,9	0,325083
0,2	0,8	0,500402
0,3	0,7	0,610864
0,4	0,6	0,673012
0,5	0,5	0,693147

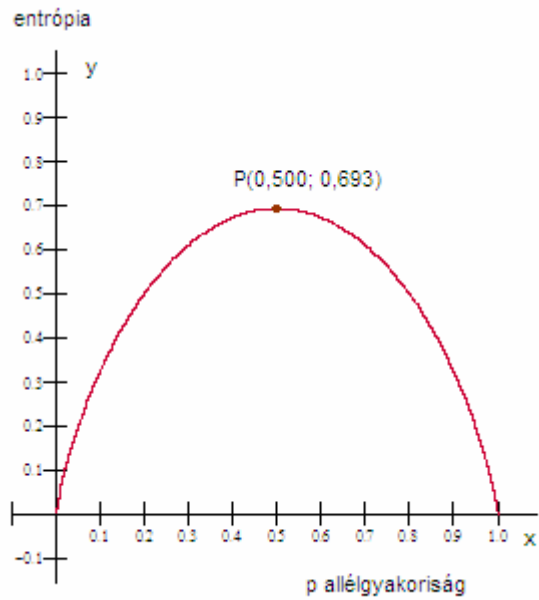
9. táblázat. Entrópia (Shannon index) értékek két allél esetén

Az allélváltozatok gyakorisága			Entrópia
p	q	r	
0,1	0,1	0,8	0,639032
0,1	0,2	0,7	0,801819
0,1	0,3	0,6	0,897946
0,1	0,4	0,5	0,943348
0,2	0,2	0,6	0,950271
0,2	0,3	0,5	1,029653
0,2	0,4	0,4	1,054920
0,3	0,3	0,4	1,088900
0,33	0,33	0,33	1,098612

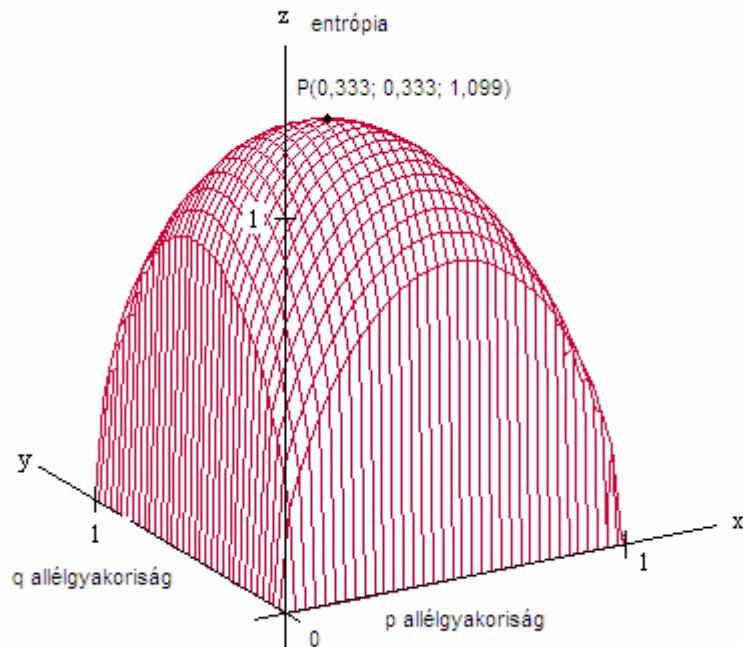
10. táblázat. Entrópia (Shannon index) értékek három allél esetén

A következő két ábra az előző két táblázat szemléletesebb megjelenítése. A 11. ábrán az x tengelyen az egyik allélgyakorisága (p) van feltüntetve, a másik allél gyakorisága ekkor $1-p$. A függvényértékek az entrópia értékek. A 12. ábrán három allél esetén szemléltettem az entrópia értékek változását. Az x és y tengelyen két allél gyakoriságának az értékei vannak feltüntetve, a harmadik már ebből számolható, hiszen

a három gyakoriság összege 1. Mindkét ábrán P pont jelöli a maximális függvényértéket, ami két allél esetén $p=q=0,5$ -nél, három allél esetén pedig $p=q=r=0,33$ -nál van.



11. ábra. Entrópia (Shannon index) értékek két allél esetén



12. ábra. Entrópia (Shannon index) értékek három allél esetén

Az entrópiát, mint az információ változatosságának mértékét sok más területen is alkalmazzák például a pszichoanalízisben (a páciens és a terapeuta közötti kommunikáció folyamatának vizsgálatakor (LANGS és mtsai, 1992) vagy földrengések előrejelzését célzó számításoknál (NICHOLSON és mtsai, 2000).

A génmegőrzési problémák tárgyalásánál azért célszerű az entrópia segítségével jellemezni a populációt, mert jól jelzi az állományban zajló folyamatokat; ha egy allél gyakorisága csökken, akkor csökken az entrópia is. Ha egy populációban sikerül szinten tartani vagy esetleg emelni ezt az értéket, akkor azt jelenti, hogy az allélok kiesésének valószínűségét sikerült lecsökkenteni, illetve tartósan alacsonyan tartani.

4.2. Anyag és módszer

A Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának génmegőrzés céljából fenntartott bronzpulyka populációjánál jelenleg rotációs – véletlenszerű párosítást alkalmaznak. A tenyészpulációt a vizsgálat időpontjában 211 egyed alkotta, a nemek szerinti eloszlása 38 bak és 173 tojó. A populáció létszáma nemzedékről nemzedékre közel azonos szinten áll. Az egyedeket 11 vonalban tartják. Egy vonalban 3 – 4 bak és 12 – 16 tojó található. A vonalból kikelt tojók tenyészállatként a vonal nőivarú egyedeinek utánpótlását, a bakok pedig a szomszédos vonal bakjainak tenyészutánpótlását szolgálják. A tojók megközelítően 40 tojást tojnak. Az egyedeket átlagosan két évig tartják tenyésztésben. Az egy éves szülők utódjait tartják meg a tenyészállomány pótlására, a két éves szülők utódjait értékesítik, illetve biztonsági tartalékként szolgálnak, ha az előző évi szaporulattal valami történne.

A szaporodási időszak során a vonalakon belüli egyedek véletlenszerűen párosodnak. A tojásokat mind kikeltik. Keltetés után a tenyésztésre alkalmasnak talált bakokat a következő voliere-be helyezik, az utolsó voliere bakjai pedig az elsőbe kerülnek. Ezzel a ciklikus mozgattal igyekeznek a tenyésztők a genetikai változatosságot fenntartani.

I. kísérlet

A genetikai variancia nagysága igen fontos kis populációknál. Ezért azt vizsgáltam, hogy a jelenleg alkalmazott párosítási algoritmus elősegíti-e a genetikai változatosság szinten tartását. A gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközponttal közösen vérből nyert DNS alapján mikroszatellit markerek

segítségével felmértük a populáció genetikai állapototát (KOROM és mtsai, 2003). A kapott DNS-vizsgálati eredményekből 144 egyed 8 lókusznál elhelyezkedő géneváltozatainak adatait kaptam meg, ez alapján tudtam következtetni a genetikai variabilitásra, majd számítógépes szimuláció segítségével a következő 100 nemzedék helyzetét vizsgáltam.

A mikroszatellit markerek meghatározása az alábbi módon történt: „58 db olyan tyúk mikroszatellitét választottunk ki előzetes irodalmi adatok alapján (REED és mtsai, 2000), amelyek alkalmazhatóak a pulyka vizsgálatokra is. A kiválasztott markereket először teszteltük 10 véletlenszerűen kiválasztott egyed véréből preparált DNS-mintáján” (KOROM, 2004). A teszt alapján 8 mikroszatellitét találtunk használhatónak.

„A primer párok alkalmazását „touch-down” PCR reakcióban, 3 hőmérsékleti programon (61–51°C, 63–53°C, 65–55°C), és 3 eltérő magnézium koncentráció (2 mM; 2,5 mM; 3 mM) mellett a 96 férőhelyes PTC-200 DNA Engine PCR gépben (MJ Research) vizsgáltuk. A PCR reakciókat 5 µl végtérfogatban (0,1 U Taq polimeráz, x10 puffer, 0,8–0,8 mM dNTP, 0,001 µg BSA, 200–200 nM primerenként és 10ng DNS) végeztünk. Az amplifikáció körülményei a következők voltak: reakciót megelőző denaturáció 95°C 3perc; 95°C 30 másodperc, annealing hőmérséklet 30 másodperc, 72°C 30 másodperc; 35 cikluson keresztül; végső lánchosszabbítás 72°C 5 percig. Az annealing hőmérséklet az első 10 ciklusban 65/63/61°C-ról 55/53/51°C-ra csökkentettük ciklusonként 1°C változtatással, a további 25 ciklusban az annealing hőmérséklet változatlan volt” (KOROM, 2004).

„A kapott termékek elválasztását kapilláris elektroforézissel ABI Prism 310 Genetic Analyser-en végeztük, és az adatok elemzéséhez a GeneScan Analysis és Genotyper Software programokat használtuk. A PCR termékek méretének meghatározásához a TAMRA500-as standardot alkalmaztunk” (KOROM, 2004).

„Az előzetes eredmények alapján a genotípus meghatározáshoz összeállítottunk egy 8 mikroszatellit magában foglaló vizsgálati szettet (ADL0149, ADL0150, DL0266, ADL0272, ADL0292, ADL0293, MCW0018, MCW0080. A szettet használatkor 3 multiplex PCR reakcióban amplifikáltuk a primereket, és egy kapilláris elektroforézist követően határoztuk meg a genotípust” (KOROM, 2004).

Mivel a 2. lókuszon genetikailag egységes homozigóta volt az állomány, ezért a szimulációs programban csak 7 lókuszt szerepelt. A 11. táblázat tartalmazza a kiindulási allélgyakoriságokat.

Lókusz	Allélváltozat	Relatív allélgyakoriság	Megfigyelések száma
ADL0292	118	0,0035	1
	128	0,9444	268
	130	0,0035	1
	132	0,0347	10
MCW0018	200	1,0000	130
ADL0293	81	0,0038	1
	99	0,9923	258
	108	0,0038	1
ADL0272	160	0,7698	214
	168	0,2302	64
ADL0149	222	0,1750	49
	224	0,8214	230
	228	0,0036	1
ADL0266	84	0,0075	2
	96	0,7239	194
	104	0,2686	72
ADL0150	120	0,0074	2
	138	0,9926	270
MCW0080	276	0,9550	212
	280	0,0450	10

11. táblázat. A DNS-minta alapján megállapított allélgyakoriságok

A szimulációs program szerkezete

- a., Első lépésben a DNS-vizsgálat eredményeit tartalmazó mátrixot beolvastattam.
- b., Az input adatokat ivari hovatartozás alapján szétválogattam két mátrixba.
- c., A pároztatásnál a tojókhöz úgy rendeltem hozzá a bakokat, hogy azonos voliereben legyenek, és egy bakhoz 3–4 tojó kerüljön véletlenszerűen.
- d., Az ivadékok létrehozásánál az utódok a mendeli törvények alapján adott valószínűségekkel véletlenszerűen örökölték szüleik alléljait. Nemüket szintén

véletlenszerűen, 50%-os valószínűséggel kapták. Az utódok voliere száma megegyezett a tojó voliere számával.

e., Output adatként rögzítettem lókuszonként és nemzedékenként az allélok előfordulási számát, az allélgyakoriságot, és az allélgyakoriságból származtatott Shannon indexet.

$$H_i = -\sum_{j=1}^5 p_{ij} \ln p_{ij}$$

ahol $i=1,\dots,7$ a lókuszok számát jelenti, $j=1,\dots,4$ a 4 különböző allélra vonatkozik, és p_{ij} a megfelelő allélgyakoriságot jelenti. Ezen kívül rögzítettem, amikor egy lókuszt valamelyik allélja eltűnt, nulla lett a gyakorisága.

f., A populáció létszám megtartása érdekében az utódpopulációt szelektálni kellett. Az utódokat véletlenszerűen választottam ki. Ezután a bakokat az eggyel nagyobb sorszámú volierebe helyeztem át, az utolsóból pedig az elsőbe kerültek. Az így keletkezett populáció lett az új szülőpopuláció.

g., A c., ponttól kezdve ismétlem a lépéseket a kívánt nemzedékszám eléréséig.

A DNS-mintából származtatott adatokból indultam ki, majd a használt párosítási és szelekciós eljárást leprogramozva száz nemzedéken keresztül követtem az állomány változását. A szimulációt 400-szor ismétlem, majd a kapott állományokat összehasonlítottam a jelenlegivel. A szükséges ismétlésszámot a 3.2. fejezetben leírtak alapján számoltam ki. A statisztikai elemzést χ^2 próbával (FALCONER és MACKAY, 1996) végeztem. A χ^2 próbát MS Excel programmal készítettem.

II. kísérlet

Egy másik szimulációs programmal arra kerestem a választ, hogy egy-egy ritka allél milyen gyorsan tűnik el a populációból. Ennél 9 esetet vizsgáltam meg. A 144 egyedből egy, kettő vagy három egyed rendelkezett a ritka alléllal. A ritka allél gyakorisága így 0,0035, 0,007 illetve 0,0105 volt a kiindulási állományban. Ezen belül a hordozó egyedek különböző neműek lehettek, ez azt jelenti, hogy a ritka allélt csak tojók, csak bakok illetve vegyesen hordozhatták. Az első kísérlet kiinduló adatait csak annyiban módosítottam, hogy az említett 9 eset mindegyike fellelhető legyen. Minden kísérleti elrendezést 100 nemzedéken keresztül figyeltem, és mindegyiket 400-szor futtattam le. A szükséges ismétlésszámot a 3.2. fejezetben leírtak alapján számoltam ki.

A statisztikai elemzéseket Kaplan-Meier becsléssel (BOLLA és KRÁMLI, 2005), Gehan próbával (MCGRADY, 2005), és log-rate modellel (VERMUNT és MOORS, 2005) végeztem. Az I. és II. kísérlethez tartozó számítógépes szimulációkat a MATLAB 4.2 matematikai szoftvercsomag matematikai szimulációval foglalkozó részeinek használatával készítettem (MATLAB, 1992). A statisztikai elemzéseket SPSS és LEM programmal készítettem.

III. kísérlet

Egy újabb kísérlettel arra kerestem a választ, hogy mekkora voliere méret – hány egyedből álló családok, szaporodási közösségek – esetén lenne legnagyobb esélye a ritka gének fennmaradásának a teljes populációméret változtatása nélkül.

A III. és a IV. kísérletben egy generált populáció szolgált a szimuláció alapjául. Ez a populáció 360 egyedből állt. (A Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának bronzpulyka populációja 200-400 egyed között változik, a telep 400 pulyka után kap génmegőrzési támogatást.) A vonalba sorolás véletlenszerűen történt. Természetesen ez csak a kiindulási populációra vonatkozik, hiszen a későbbiekben már a rotációs – véletlenszerű párosítás szabályai alapján kerültek a következő nemzedék tagjai a különböző voliereekbe.

A nemek eloszlása 72 bak és 288 tojó volt. Ez 1:4 ivararánynak felel meg. A szimulációban diszkrét populációval számoltam. A kiindulási populáció genetikai szerkezete háromféle lehetett. Az első esetben igen ritka allélok találhatóak, a harmadikban az allélgyakoriságok megegyeznek, míg a második esetben az előbbi értékek közé estek az allélgyakoriságok. Nyolc lókuszon 2, 3 vagy 4 alléllal számoltam. Az allélok gyakoriságai a 12 táblázatban láthatók. A kísérlet során az egyedeket 3-féle voliere szerkezetbe helyeztem el. A volierek száma lehetett: 4, 12, illetve 36, így a családok mérete 90 egyedtől 10 egyedig változott. Az összpuláció mérete azonban mindig változatlan maradt. A háromféle volierebe sorolást a 13. táblázat tartalmazza. Ebben a kísérletben 360 ismétlést végeztem mind a kilenc alappopuláción, így összesen 3240 futás eredményeit rögzítettem. A szükséges ismétlésszámot a 3.2. fejezetben leírtak alapján számoltam ki. A populációt 15 generáción keresztül tartottam a valóságban használt párosítási és szelekciós eljárással. A program rögzítette minden voliereben és a teljes állományban a Shannon index értékeket, valamint azt az első időpontot, amikor egy génváltozat elveszett.

Esetek	Allélok	Lókuszok							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1.	A	0,9750	0,9750	0,9750	0,9528	0,9528	0,9528	0,9806	0,9806
	B	0,0111	0,0111	0,0111	0,0250	0,0250	0,0250	0,0194	0,0194
	C	0,0069	0,0069	0,0069	0,0222	0,0222	0,0222		
	D	0,0069	0,0069	0,0069					
2.	A	0,2917	0,2917	0,2917	0,4167	0,4167	0,4167	0,7500	0,7500
	B	0,2917	0,2917	0,2917	0,4167	0,4167	0,4167	0,2500	0,2500
	C	0,2917	0,2917	0,2917	0,1667	0,1667	0,1667		
	D	0,1250	0,1250	0,1250					
3.	A	0,2500	0,2500	0,2500	0,3333	0,3333	0,3333	0,5000	0,5000
	B	0,2500	0,2500	0,2500	0,3333	0,3333	0,3333	0,5000	0,5000
	C	0,2500	0,2500	0,2500	0,3333	0,3333	0,3333		
	D	0,2500	0,2500	0,2500					

12. táblázat. A III. kísérlethez tartozó kiindulási allélgyakoriságok

A volierek száma		4	12	36
Egy voliereen belüli létszám	összesen	90	30	10
	bak	18	6	2
	tojó	72	24	8

13. táblázat. A III. kísérlethez tartozó alappopuláció elrendezései

A III. és a IV. kísérlethez a Scilab 2.7.2 (DRAKOS, 1997) matematikai szoftvert használtam és a programok egy részét a Nemzeti Információs Infrastruktúra Fejlesztési Program szuperszámítógépén futtattam. A statisztikai elemzéseket varianciaanalízissel, Kolmogorov-Szmirnov próbával (LUKÁCS, 1996), Kaplan-Meier becsléssel (BOLLA és KRÁMLI, 2005) és Gehan próbával (MCGRADY, 2005) végeztem mindkét kísérletben. A statisztikai elemzéseket az SPSS programmal készítettem.

IV. kísérlet

Itt az ivararány változtatásával figyeltem meg, hogyan változik a variancia, illetve a ritka allélok hány nemzedék alatt vesznek el. A kiindulási populáció létszáma ismét 360 egyed volt. Tizenkét vonalba soroltam az egyedeket. A bakok és tojók aránya 1:2, 1:4 és 1:9 volt (14. táblázat).

A bakok és tojók aránya		1:2	1:4	1:9
Voliereen belüli létszám	Összesen	30	30	30
	Bak	10	6	3
	Tojó	20	24	27

14. táblázat. Létszámadatok a negyedik kísérletben (egyed)

A kiindulási populáció allélgyakoriságai megegyeztek a harmadik kísérletben alkalmazottakkal. Összesen ismét kilenc alapesettel 15 nemzedéken át, 360 ismétlést végeztem, így 3240 futás eredményei alapján vontam le következtetéseimet a genetikai változathoz és az allélvesztésre vonatkozóan. A szükséges ismétlésszámot a 3.2. fejezetben leírtak alapján számoltam ki.

4.3. Vizsgálati eredmények bemutatása és értékelése

I. kísérlet

A populáció minden lókuszára nézve Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. A számításokat χ^2 próbával végeztem. A χ^2 értékeket a 15. táblázat tartalmazza.

Lókuszt	Számított χ^2 érték	χ^2 érték 5%-os szignifikancia szintnél	Szabadságfok
1.	0,2764	7,81	3
2.	Ezen a lókuszon a populáció homozigóta volt		
3.	0,0078	5,99	2
4.	0,0918	3,84	1
5.	1,2698	5,99	2
6.	1,6868	5,99	2
7.	0,0075	3,84	1
8.	0,2470	3,81	1

15. táblázat. χ^2 próba a Hardy-Weinberg egyensúly ellenőrzésére

A kapott genotípus adatokból kiszámítottam a várt ($H_e = 0,1598$) és a tényleges heterozigóitási értéket ($H_o = 0,1579$). Ez az alacsony érték a pulyákra jellemző sajátosság (KOROM és mtsai, 2003). A becsült beltenyésztettség 1,19%

$$F = 1 - \frac{H_o}{H_e}, \text{ ahol a } H_o \text{ a megfigyelt a } H_e \text{ pedig a Hardy–Weinberg egyensúly}$$

alapján várt heterozigotizációt jelenti.

A Shannon index segítségével az állomány genetikai változatosságát kívántam számszerűsíteni. A Shannon index számítását lókuszonként végeztem, értéke egy nemnegatív szám lehet, melynek mértéke függ a lókuszon található allélok számától és az egyes allélok relatív gyakoriságától. Minimális, vagyis nulla, ha a lókuszon egyetlen allél szerepel, arra homozigóta a populáció. Maximális az értéke, ha minden allél azonos gyakorisággal szerepel.

Példámban a lókuszek és az allélok számát figyelembe véve a lókuszonkénti Shannon indexek összege akkor lett volna maximális, ha az első lókuszon minden allél gyakorisága 0,25, a harmadikon, az ötödiken és a hatodikon 0,33, a negyediken, a hetedikén és a nyolcadikon 0,5 lett volna. Ezekhez az allélgyakoriságokhoz tartozó Shannon index összeg 6,76. A kapott adatok alapján ebben az adott populációban a szimulációs futások során a 100. nemzedékben 1,6-2,9 közötti értékeket vett fel. Egy-egy futás során erősen ingadozott az értéke, de az összes futtatás átlagértéke 2,17 körül állandósult. A kiindulási pillanatban 2,14 volt.

E kísérlet célja a jelenlegi párosítási eljárás genetikai változatosságra való hosszú távú hatásának elemzése volt. Az állapotfelmérés eredményét, miszerint a kis populációméret ellenére (144 egyed) a populáció Hardy-Weinberg egyensúlyban volt, biztató jelként értékeltem. Mivel nem tapasztaltam sem heterozigóta hiányt sem többletet, ez azt sugallta, hogy az állomány párosítása közel áll a véletlenszerű párosodáshoz. Ha egy szubpopulációs szerkezetből származó mintában általános heterozigóta hiányt észlelünk, akkor a Wahlund hatást tapasztaljuk MCDONALD (2004). PARDUCCI és munkatársai (1996) heterozigóta hiányt tapasztaltak az általuk vizsgált fehér lúcfenyő populációkban. A jelenséget a pollenek korlátozott szétszóródása okozta Wahlund hatással magyarázták.

Vadmacska populációkat vizsgáltak RUIZ-GARCIA és KLEIN (1997) Spanyolországban és az Egyesült Államok középnyugati területének északi részén. A két populációban eltérő eredményeket kaptak. A Katalán vidéken Hardy-Weinberg egyensúlyi állapotot, míg az észak-amerikai populációban általános heterozigóta hiányt találtak, amit a részpopulációs szerkezetnek köszönhető Wahlund hatással indokoltak. Annak oka, hogy a pulykapopulációban nem találtam nyomát a Wahlund hatásnak, a vonalak közötti folyamatos migrációnak tulajdonítottam.

PALA (2004) eredményei szerint rotációs tenyésztési eljárással a legcélszerűbb a kis populációk genetikai változatosságát megőrizni. Javaslatára alapján az egyes vonalakhoz tartozó egyedeket faktoranalízissel kell kiválasztani, hogy egy-egy szubpopulációba minél jobban hasonlító egyedek kerüljenek. Így egy csoportba kerülhetnek hasonló temperamentumú, vagy teljesítményű állatok, de lehet egy-egy csoport jellemzője valamely betegséggel szembeni rezisztencia vagy akár a rossz tartási feltételek tolerálása is. A vizsgált génrezerv pulykapopuláció megfelel PALA (2004) javaslatának, hiszen a vonalakba sorolás alapja földrajzi értelemben vett szármásuk volt, mivel az azonos helyeken vásárolt pulykákat azonos volierekben helyezték el.

II. kísérlet

A számítógépes szimulációk során rögzítettem, hogy egy ritka allél hányadik nemzedékben vész el. Megvizsgáltam, hány nemzedék kell az allélgyakoriság nullává válásához, ha a populációban egy, kettő illetve három egyed rendelkezik ezzel a ritka géneváltozattal. Külön kellett kezelni a nemeket, hiszen a szelekció miatt eltérő esélye van egy baknak illetve egy tojónak génjei továbbadására. Annak a valószínűségét, hogy egy bak ritka (kezdeti allélgyakoriság 0,0035) allélját a szelekció során kiválasztott valamely azonos vonalbeli egyed örökli egy adott nemzedékben a következő módon számítottam ki.

A szimulációban 144 pulyka szerepelt összesen 12 vonalban. Minden vonalban 3 bak és 9 tojó volt. A tojók egyenként 40 tojást tojtak, így vonalanként 360 utóddal számolhattam. A ritka géneváltozatot minden utód 50%-os valószínűséggel örökölte, így várhatóan az utódok fele rendelkezett vele. Egy hordozó bak esetén várhatóan 60 utód rendelkezett a ritka géneváltozattal az adott vonalban, 300 pedig nem. Egy hordozó tojó esetében várhatóan 20 utód rendelkezett a ritka géneváltozattal az adott vonalban, 340 pedig nem.

Legyen az A esemény az, hogy 1 hordozó bak esetén a vonalból 1 utódot véletlenszerűen kiválasztva az éppen hordozó lesz, vagyis egy bak ritka (kezdeti allélgyakoriság 0,0035) allélját a szelekció során kiválasztott valamely azonos vonalbeli egyed örökli egy adott nemzedékben. Ekkor

$$P(A) = \frac{k}{n} = \frac{\binom{60}{1}}{\binom{360}{1}} = \frac{60}{360} = \frac{1}{6} \approx 0,166,$$

ahol k a vizsgált esemény szempontjából bekövetkező kedvező esetek számát, n pedig az összes eset számát jelenti.

Ugyanez egy tojó esetében a következő módon alakul: legyen a B esemény az, hogy 1 hordozó tojó esetén a vonalból 1 utódot véletlenszerűen kiválasztva az éppen hordozó lesz, vagyis egy tojó ritka (kezdeti allélgyakoriság 0,0035) allélját a szelekció során kiválasztott valamely azonos vonalbeli egyed örökli egy adott nemzedékben. Ekkor

$$P(B) = \frac{k}{n} = \frac{\binom{20}{1}}{\binom{360}{1}} = \frac{20}{360} = \frac{1}{18} \approx 0,055,$$

ahol k és az n jelentése az előzőekben leírtakkal megegyezik.

A szimulációs kísérlet eredménye jól igazolta azt a feltevésemet, hogy a nem jelentősen befolyásolja egy ritka allél elvesztésének a valószínűségét a jelenlegi párosítási rendszerben (16. táblázat).

		Az allélvesztések időpontjainak mediánja	Az esetek hány százalékában következett be az allélvesztés az első 5 nemzedékben	Az esetek hány százalékában maradt meg a gén 25 nemzedéken túl	Az esetek hány százalékában maradt meg a gén 100 nemzedéken túl	Szórás
Kezdeti allélgyakoriság: 0,0035	1 tojó	1	85,5%	2,8%	0,0%	11,2
	1 bak	23	21,5%	48,5%	6,5%	37,1
Kezdeti allélgyakoriság: 0,007	2 tojó	3	71,0%	6,8%	0,3%	14,4
	1 tojó	31	19,8%	53,3%	7,8%	38,1
	1 bak	59	5,5%	72,0%	1,3%	34,4
Kezdeti allélgyakoriság: 0,0105	3 tojó	7	43,5%	30,5%	1,0%	30,8
	2 tojó	39	15,3%	60,0%	5,3%	34,9
	1 bak	75	6,3%	76,0%	24,0%	36,6
	2 bak					
	3 bak	96	1,0%	88,0%	33,8%	29,9

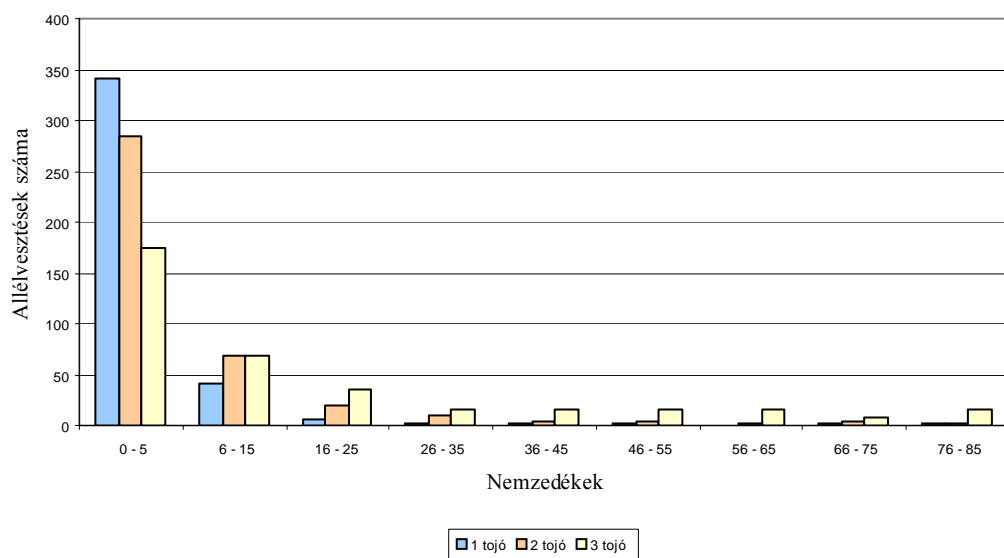
16. táblázat. Az allélvesztéssel kapcsolatos számítások eredményei 400 ismétlés után

Ha 144 egyedből csak egy tojó rendelkezett a ritka alléllal, az esetek 85,5%-ban az első 5 nemzedék alatt elvesztett az allél és csak 2,8%-ban maradt meg tartósan, 25

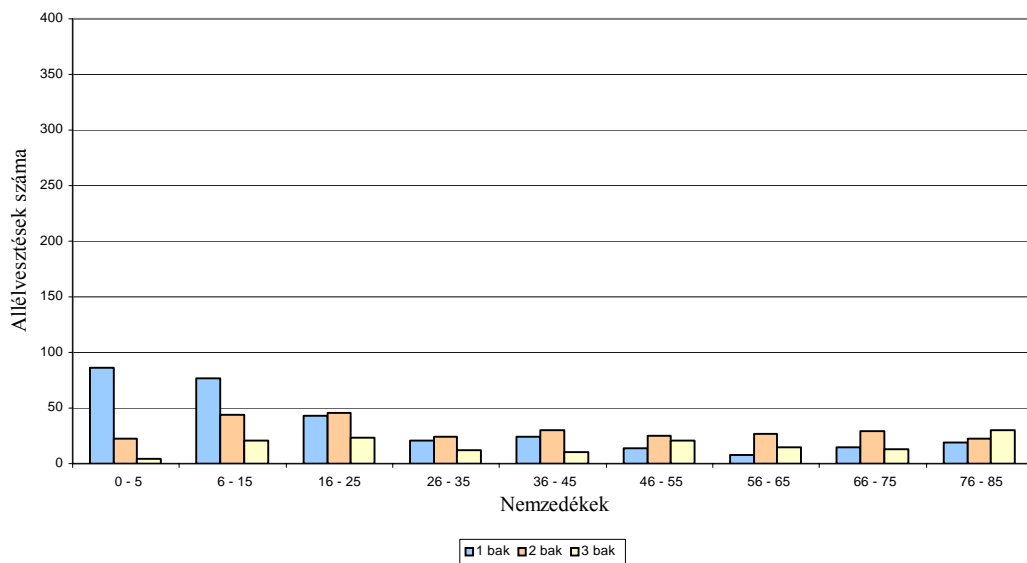
nemzedéken túl. Egy bak esetében 21,5%-os relatív gyakorisággal veszett el az allél, és 48,5%-ban maradt meg.

A 16. táblázat második oszlopában az allélvesztések időpontjainak mediánját adtam meg. Átlaggal azért nem lehetett jellemezni az egyes eseteket, mert több alkalommal (főleg bakoknál) nem következett be allélvesztés 100 nemzedéken belül. Ebből tehát nem derült ki, hogy az a bizonyos allél a 101-dik nemzedékben vagy a 149. nemzedékben elveszett-e. Azonban 400 ismétlés mellett a medián jól használható mutató az egyes kísérleti elrendezésekhez kapott nemzedékszámok összehasonlításához.

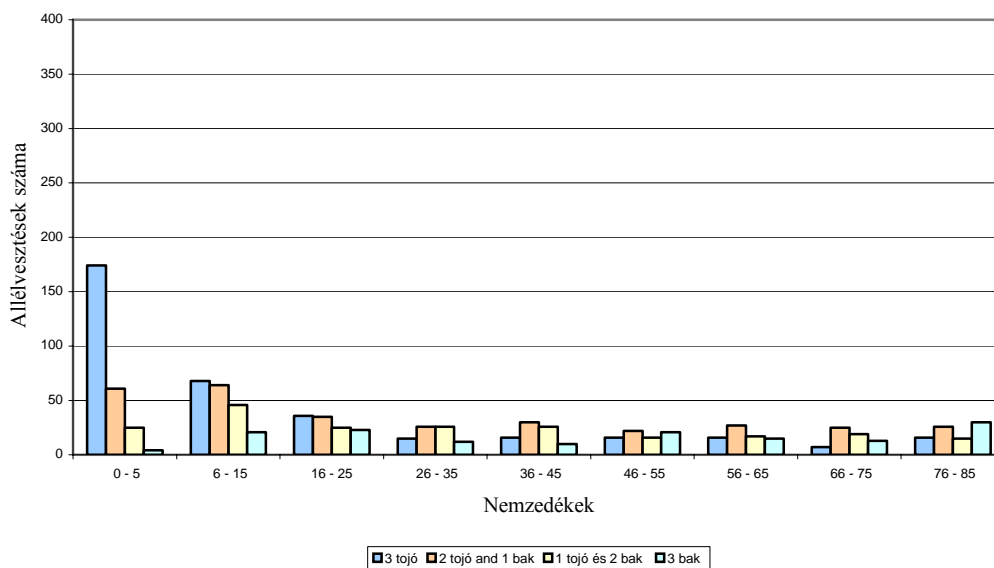
A 13., 14., és a 15. ábrák az allélvesztések számának változását szemléltetik.



13. ábra. Allélvesztések száma a nemzedékek függvényében, ha a ritka allélt tojók hordozzák

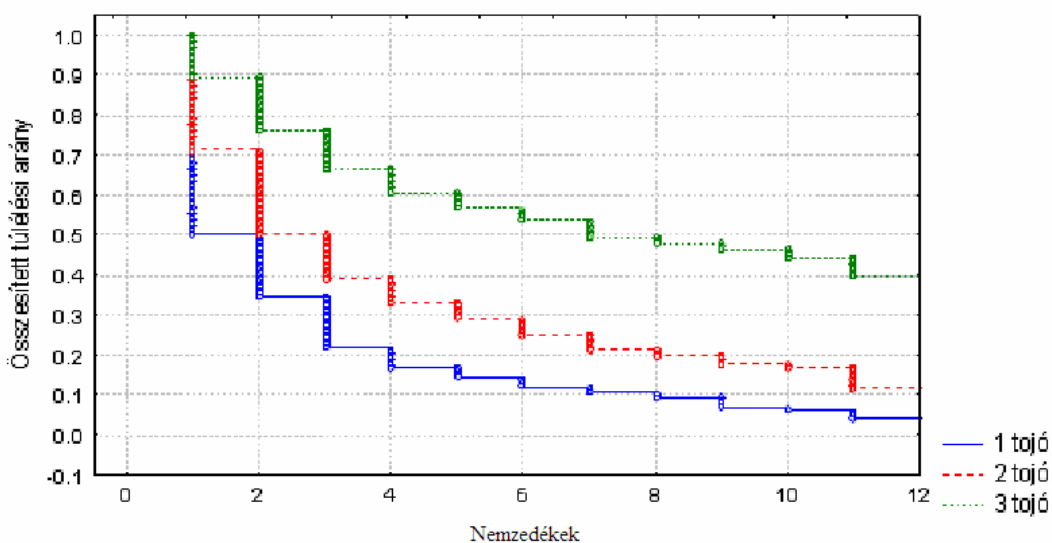


14. ábra. Allélvesztések száma a nemzedékek függvényében, ha a ritka allélt bakok hordozzák



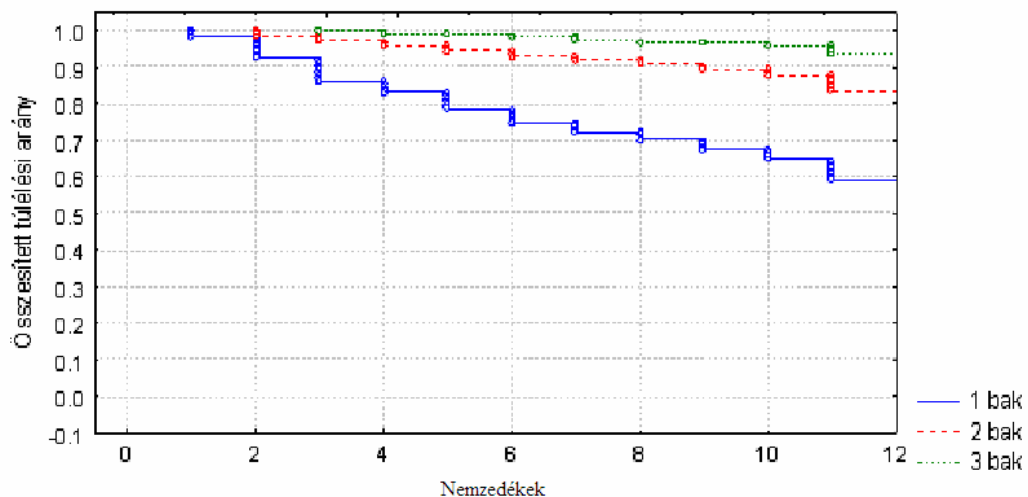
15. ábra. Allélvesztések száma a nemzedékek függvényében, ha a populációban három egyed hordozza a ritka allét

Az allélvesztések módszeresebb áttekintése érdekében itt is alkalmaztam a túlélés analízis két eljárását, a Kaplan–Meier becslést, és a log-rate modellt, ezen belül az exponenciális túlélési modellt. Az alábbi ábrákon a vizsgált esetek Kaplan–Meier becslőfüggvényei láthatók. Minden ábrához tartozó bármely két eset között szignifikáns eltérés mutatkozott (Gehan próba, $P < 0,001$), hogy melyik nemzedékben következik be az allélvesztés. Ebben a problémában a túlélés a ritka allél megmaradását jelenti (16–19. ábra).



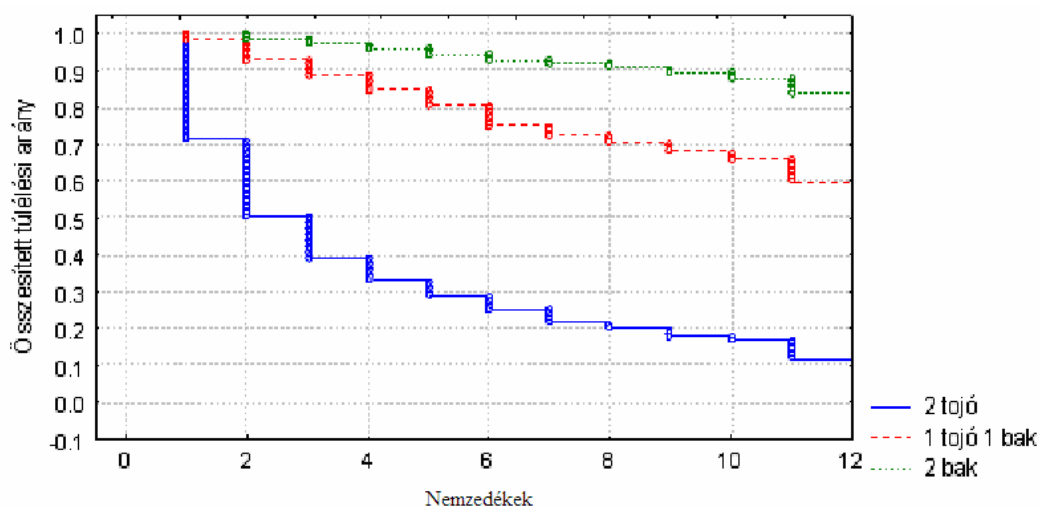
16. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre. A ritka allét tojó hordozzák

A 16. ábrán kék görbe jelzi az 1 tojó allélvesztéséhez tartozó Kaplan-Meier becslést. Az esetek 50%-ában már az első nemzedékben nulla lett az allélok gyakorisága. Ha a ritka allélnak nem egy, hanem kettő vagy három reprezentánsa van a populációban és a hordozók nőivarúak, akkor az első nemzedékben csak az esetek 29%-ában illetve 10%-ában vész el az allél. Az ábráról a későbbi nemzedékek történései is leolvashatók. A függőleges távolság arról ad tájékoztatást, hogy egy adott időpillanatban az egyes esetek között milyen eltérések mutatkoznak a vizsgált esemény bekövetkeztenek arányát illetően. A 8. nemzedéket tekintve a 16. ábráról leolvasható, hogy egy tojó esetében az esetek 90%-ban az allél már nincs jelen a populációban. Ha kezdetben két tojó rendelkezett a megfigyelt alléllal, akkor ez az arány már csak 80%-os, három tojó esetén pedig 52%. A vízszintes távolság azt szemlélteti, hogy ugyanolyan arányú allélvesztés mennyivel később következik be egyik-másik esetben. Tekintsük, hogy hányadik nemzedékben következett be fele arányban az allélvesztés. Egy tojó hordozónál ez már az első nemzedékben bekövetkezik, két tojó mellett a 2. nemzedékben, és ugyanez három tojó mellett, csak a 7. nemzedékben történik meg.



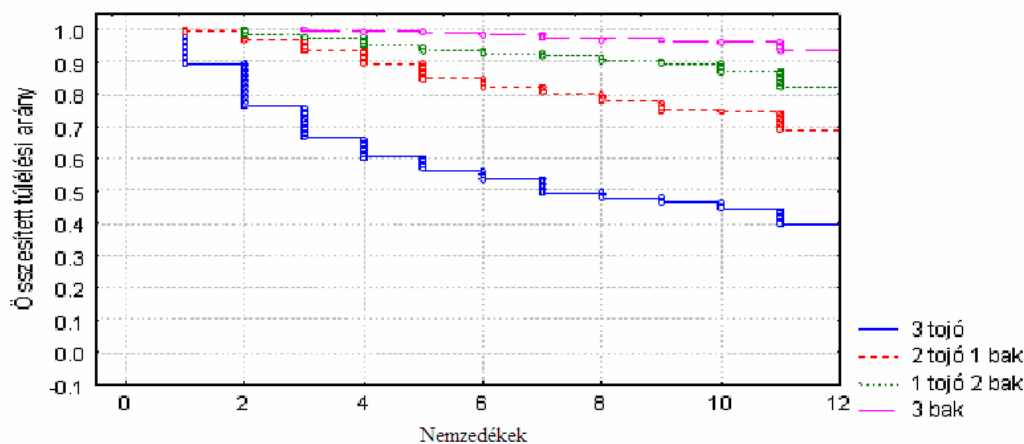
17. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre. A ritka allélt bakok hordozzák

A 16. és a 17. ábrán látható Kaplan-Meier becsléseket is összevethetjük. Jól látható, hogy a nemek között az allélvesztések szempontjából nagy eltéréseket tapasztalunk. Bakok esetén 12 nemzedéken belül nem történik meg, hogy az esetek felében a megfigyelt allél gyakorisága nulla legyen.



18. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre. A ritka allélt 2 egyed hordozza

A 18. ábrán azokat az eseteket ábrázoltam, amikor a ritka alléllal kezdetben két egyed rendelkezett. Ezek közül a kék színnel jelölt két tojó esete a 16. a zöld színnel jelölt két bak esete a 17. ábrákon már szerepelt, csak a jobb szemléltetés érdekében helyeztem ezeket egy ábrára. A két tojó és a két bak között helyezkedik el, de a két bakhoz közelebb az a változat, ahol egy tojó és egy bak volt a ritka allél hordozója.



19. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre. A ritka allélt 3 egyed hordozza

A 19. ábrán az előzőhöz hasonlóan találhatunk ismétlődő görbéket a 16. és a 17. ábráról. A három tojó és a három bakhoz tartozó görbék szerepeltek az előzőekben is. Ha a hordozók vegyesen kerülnek ki mindkét nemből, a görbék a három bak esetéhez vannak közelebb. A 18. és a 19. ábra is szemléletesen mutatja a bakok előnyét génjeik átörökítése szempontjából.

Az exponenciális log-rate modell alapján kiszámoltam, hogy hányszor nagyobb a valószínűsége a ritka allél elvesztésének néhány összehasonlítható esetben. A rész- és végeredményeket a 17. és 18. táblázat tartalmazza. Az alkalmazott matematikai modell:

$$\ln h_{\text{típus}} = \beta x_{ij} + \beta_{\text{típus}} x_{ij}$$

Hatások	β	St. hiba	e^{β}	Szab. fok	P érték
Fő hatás	-2,206	0,0177	0,1101	1	0,007
Típusok					
1 tojó	1,3274	0,047	3,7714		
1 bak	-0,1523	0,0489	0,8588		
2 tojó	0,8291	0,0476	2,2913		
1 tojó 1 bak	-0,1854	0,0489	0,8308		
2 bak	-0,4239	0,0503	0,6545		
3 tojó	0,2043	0,0477	1,2266		
2 tojó 1 bak	-0,2275	0,0486	0,7965		
1 tojó 2 bak	-0,5783	0,0536	0,5609		
3 bak	-0,7935		0,4522	8	0,000

17. táblázat. Az exponenciális log-rate modell eredménytáblázata

A $h_{\text{típus}}$ a halálozási intenzitást jelenti az egyes vizsgált esetekben (típusoknál). Minél nagyobb az értéke annál nagyobb az allélvesztés lehetősége az egyes típusoknál. Értéke az alábbi módon számítható ki:

$$h_{\text{típus}} = e_{f\ddot{o}}^{\beta} \cdot e_{\text{típus}}^{\beta}$$

Például $h_{1\text{tojó}} = e_{f\ddot{o}}^{\beta} \cdot e_{1\text{tojó}}^{\beta} = 0,1101 \cdot 3,7714 = 0,4152$. A halálozási intenzitási értékektől informatívabb, ha két halálozási intenzitás hányadosát számítjuk, így az összehasonlításban levő eseteknél megtudhatjuk, hogy hányszor nagyobb az allélvesztés valószínűsége egymáshoz viszonyítva. Ezeket a hányadosokat tartalmazza a 18. táblázat, mely a következő módon értelmezhető. A cellákban található számok azt mutatják, hogy hányszor nagyobb a valószínűsége egy ritka allél elvesztésének, ha a felső sorban olvasható a hordozók neme és száma, a bal szélső függőleges oszlopban olvashatókkal szemben. Például 4,392-szer nagyobb az allélvesztés valószínűsége, ha az egyetlen hordozó tojó, mintha az egyetlen hordozó bak volna. Egy másik esetet nézve: ha a kiindulási populációban volt egy allélunk, amit csak két egyed, egy tojó és egy bak hordozott, összehasonlítjuk azzal az esettel, amikor a hordozó két bak volt. Ekkor a

18. táblázat 5. oszlopában és 5. sorában lévő 1,269-es szám azt jelenti, hogy a vegyes hordozók esetén 1,269-szer nagyobb a valószínűsége a ritka allél elvesztésének.

	1 tojó	1 bak	2 tojó	1 tojó 1bak	2 bak	3 tojó	2 tojó 1 bak	1 tojó 2 bak
1 bak	4,392					1,428		
2 tojó	1,646							
1 tojó 1 bak			2,758					
2 bak		1,312	3,501	1,269				
3 tojó	3,075		1,868					
2 tojó 1 bak						1,54		
1 tojó 2 bak						2,187	1,42	
3 bak		1,899			1,447	2,712	1,761	1,24

18. táblázat. Az allélvesztés valószínűségének arányai

A 18. táblázatban a 7.oszlop 2. sorában 1,428-et kaptam, 3 tojónál 1 bakhoz viszonyítva ennyiszor nagyobb valószínűséggel következik be allélvesztés. Tekintve az 1:3 (bak:tojó) ivararányt, ez első pillanatban meglepőnek tűnhet. Azonban a számítógépes szimulációban a 3 tojó nem egy vonalban volt. Így ha kiszámítjuk, hogy 1 hordozó bak esetén mennyi a valószínűsége annak, hogy a ritka géneváltozat nem öröklődik tovább a következőt kapjuk. A szimulációban 144 pulyka szerepelt összesen 12 vonalban. Minden vonalban 3 bak és 9 tojó volt. A tojók 40 tojást tojtak, a kikelő utódokból azonban vonalanként csak 12 utódot tartottam meg továbbtenyésztésre. A ritka géneváltozatot minden utód 50%-os valószínűséggel örökölte, így várhatóan az utódok fele rendelkezett vele. Legyen a B esemény az, hogy 1 hordozó bak esetén a ritka allél elvész:

$$P(B) = \frac{\binom{300}{12}}{\binom{360}{12}} = 0,108.$$

Legyenek most A_1 , A_2 és A_3 azok az események, hogy az 1. 2. illetve 3. tojó alléljai elvesznek. Ekkor a T esemény – ami azt jelenti, hogy a tojók után nem marad olyan utód, aki hordozná a ritka allélt – az A_1 , A_2 és A_3 együttes bekövetkezésével egyenlő.

$$P(T) = P(A_1 \cdot A_2 \cdot A_3)$$

Az A_1 , A_2 és A_3 azok az események független események, így az események szorzatának valószínűsége az események valószínűségének szorzatával egyenlők:

$$P(A_1 \cdot A_2 \cdot A_3) = P(A_1) \cdot P(A_2) \cdot P(A_3) = \frac{\binom{340}{12}}{\binom{360}{12}} \cdot \frac{\binom{340}{12}}{\binom{360}{12}} \cdot \frac{\binom{340}{12}}{\binom{360}{12}} = 0,123$$

Tehát a hordozó bak esetén 0,108 a valószínűsége annak, hogy a ritka génaváltozat nem öröklődik tovább. Amennyiben 3 hordozó tojó van, annak a valószínűsége, hogy a ritka génaváltozat nem öröklődik tovább: 0,123. Ez a kicsi különbség minden nemzedékben fennáll, tehát ezzel magyarázható, hogy a bakok nagyobb eséllyel örökítik át alléljaikat. Ha a tojók egy vonalból származtak volna, akkor a táblázat megfelelő helyén 1,428 helyett 1-et vártunk volna.

DIETL és LANGHAMMER (1997) szimulációs kísérleteikben különböző szelekciós eljárásokat teszteltek. Véletlenszerű párosítást, negatív- és pozitív célpárosítást, és olyan eljárást hasonlítottak össze, ahol minimális a beltenyésztettségi ráta. Programjukban csak egy lókuszon vizsgáldtak, de 80 alléllal dolgoztak. Cikkükben leírták, hogy az allélok 79%-94%-át veszítették el 15 nemzedék alatt a párosítási eljárástól függően. Esetemben ez az arány nem volt több, mint 0%-36%, bár számításaimban összesen 25 allél szerepelt 8 lókuszon.

Egy másik szimulációs tanulmányban PRIKRYL és munkatársai (1987) szintén az allélvesztést vizsgálták. Öt nemzedéken át minden párosításból 5-25 egyed alapján választották ki a következő nemzedék szülő egyedeit. A kezdeti allélgyakoriság 2 vagy 5 lókuszon 0,01-0,99 között alakult. Megállapították, hogy az allélvesztés különösen nagy volt az F1 nemzedékben, amikor az allélgyakoriság 0,3 alatt volt, de jelentősen csökkent a későbbi nemzedékekben. A legtöbb allélvesztés 0,01 allélgyakoriság mellett következett be. Ez az allélgyakoriság nem sokkal magasabb, mint az általam számolt legritkább allél esetén (0,0069), így nem meglepő a tapasztalt nagymértékű allélvesztés.

A szimulációs kísérlet igazolta, hogy a vizsgált tenyésztés eljárásban az ivar jelentősen befolyásolja egy ritka allél elvesztésének valószínűségét. A tojóknál kisebb az esély, hogy egy adott allél megmaradjon a populációban. Ennek jelentősége abban áll, ha ismert hogy egy génaváltozatot csak kevés számú tojó hordozza, akkor célszerű ezektől a tojóktól több utódot tenyésztésre megtartani.

Újabb kérdésként felmerült, hogy hány évenként célszerű mikroszatellit marker vizsgálatot végezni a populáció genetikai állapotának ellenőrzése céljából. Ennek időpontja sok mindentől függhet: pénzügyi lehetőségek, a populáció genetikai állapota és szerkezete. Csupán a jelenlegi szerkezetet és a genetikai adottságokat tekintve az ajánláshoz, kiválasztottam 288 olyan esetet, ahol az allélgyakoriság 0,05 volt, és a hordozók részben vagy teljesen tojók.

Szerintem rotációs vonal párosítás mellett négy nemzedékenként célszerű, amennyiben a populációban ritka 0,05 vagy ez alatti gyakoriságú allélok vannak, és ezek hordozói nagy részben vagy teljességgel tojók. Számításaim szerint beavatkozni, vagyis az ilyen tojóktól a szokásosnál több utódot megtartani ebben a populációban akkor kell, ha az allélgyakoriság 0,03 alá csökken. A génsodródást 288 esetben követve, ez alapján végzett számításaim szerint négy nemzedékenként végezve a genetikai vizsgálatot szinte teljes biztonsággal elkerülhetjük az allélvesztést. Öt nemzedékenként ismételve a genetikai vizsgálatot, már csak 84,6 %-os a siker a génmegőrzés terén. Hat nemzedékenként tovább csökken ez az érték, ekkor már csak 76,9% volt. Az összes allélvesztést tekintve, az azt megelőző 2 nemzedéken belül 0,02 vagy annál kisebb volt az allélgyakoriság.

Mivel nem tudjuk, hogy ezek a markerek milyen lókuszzal állnak kapcsolatban, előfordulhat hogy egy előnytelen tulajdonságot meghatározó lókuszmegőrzésén fáradoztunk. De a génmegőrzésnél még nem ismertek a jövőbeli előnyös tulajdonságok, ezért minden génváltozatot érdemes megőrizni.

III. kísérlet

Az effektív populációméret minden populációtípusnál 230,4 volt. A számításhoz az alábbi formulát használtam:

$$N_e = \frac{4 \cdot N_m \cdot N_f}{N_m + N_f},$$

ahol N_m és N_f a populáció hím és nőivarú egyedeinek számát jelenti (FALCONER és MACKAY, 1996). Ez alapján becsültem a beltenyészettségi koefficiensét:

$$\Delta F = \frac{1}{2 \cdot N_e} = 0,00217$$

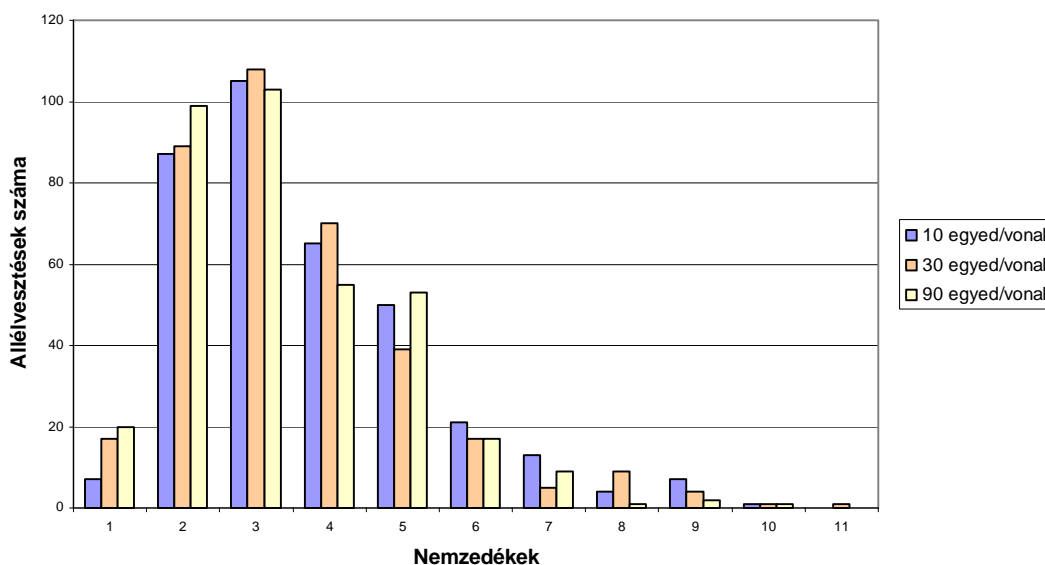
(FALCONER ÉS MACKAY 1996). A 15. nemzedékben az $F=0,03255$, amennyiben a kiinduláskor nem volt beltenyészett a populáció.

Amikor több lókuszon ritka allélok voltak az alappopulációban, a genetikai változatosság mért értékei között nem mutatkozott szignifikáns eltérés. A második esetben, amikor az alappopulációban az allélgyakoriságok 0,125–0,75 közöttiek voltak a kis családok bizonyultak előnyösebbeknek, ott volt szignifikánsan magasabb ($P < 0,001$) a genetikai változatosságot mérő Shannon index; a közepes- és nagy családok esetén nem volt különbség. Hasonlóan a harmadik esetben is, amikor az alappopulációban az allélgyakoriságok megegyeztek, a kis családok (10 egyed/vonal) mutatkoztak a legkedvezőbbeknek ($P < 0,001$). Ekkor azonban a nagy (90 egyed/vonal) és közepes családok között is jelentős volt az eltérés, a közepes méretű családok (30 egyed/vonal) javára ($P < 0,001$) (19. táblázat). Az elvileg lehetséges maximális Shannon index itt 8,838 lehetett.

Családméret		Allélgyakoriság		
		0,0069–0,9806	0,1250–0,7500	0,2500–0,5000
90 egyed/vonal	Átlag	1,48	7,93	8,53
	Szórás	0,33	0,19	0,10
30 egyed/vonal	Átlag	1,50	7,94	8,57
	Szórás	0,34	0,19	0,09
10 egyed/vonal	Átlag	1,50	8,02	8,64
	Szórás	0,32	0,16	0,07

19. táblázat. Az egyes populációtípusokhoz tartozó átlagos Shannon index értékek a 15. nemzedékben

Az első esetben – ahol igen ritka gének is előfordultak a kiindulási populációban – vizsgáltam azt is, hogy melyik az az első nemzedék, ahol valamelyik génváltozatot elveszítjük a genetikai sodródás következtében. Ennek értéke 1 és 11 között változott, tehát ilyen alappopuláció és tenyésztési eljárás esetén biztosan bekövetkezett valamely lókuszon valamelyik allél elvesztése (20. ábra).



20. ábra. Az első allélvesztés időpontja nemzedékekben mérve eltérő családméretek esetén. A kezdeti allélgyakoriság 0,0069-0,9806 közötti

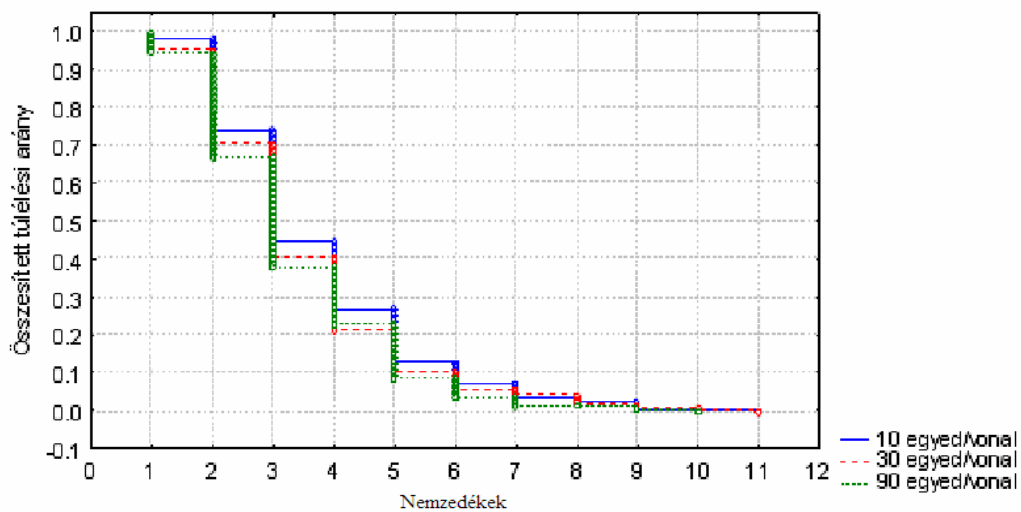
A hisztogramok kevésbé térnek el egymástól, és ezt igazolta a varianciaanalízis vizsgálat is, mellyel kimutattam, hogy szignifikáns különbség csak a legkisebb és a legnagyobb családméret között ($P < 0,001$) volt. Itt is a kis családok bizonyultak előnyösebbnek (20. táblázat).

Családméret	Átlag	Szórás
90 egyed/vonal	3,37	1,53
30 egyed/vonal	3,50	1,68
10 egyed/vonal	3,69	1,69

20. táblázat. Az első allélvesztés átlagos ideje nemzedékben megadva.

Az alappopulációban ritka génaváltozatok vannak

Az eredményt megerősítette a Gehan próba is, mely a becsült túlélési függvényeket hasonlítja össze. Csak a legnagyobb és a legkisebb családméret között volt meghatározó különbség ($P = 0,04$). A 21. ábrán láthatók a túlélési függvényekre vonatkozó Kaplan-Meier becslések. Az ábrán kék szín jelzi a kis családok (10 egyed/vonal) esetét, és ez a görbe fut a legmagasabban. Mivel itt a túlélés az allél megmaradását jelenti, itt ez a kék színnel jelölt eset a legkedvezőbb. Ez az ábra is jól szemlélteti, hogy csak kis különbségek vannak az egyes esetek között.



21. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre. A vizsgált esetek különböző méretű szaporodási közösségek

A harmadik kísérlet eredménye – miszerint az azonos populációméret esetén több szubpopuláció egyenként kisebb egyedszámmal ciklikus rotációs eljárással való tenyésztése kedvezőbb, mint ugyanezzel az eljárással tenyésztett de kevesebb szubpopuláció egyenként nagyobb egyedszámmal történő alkalmazása – arra enged következtetni, hogy az új nemzedék bakjainak következő volierbe helyezése jobban biztosítja a gének keveredését, a változatosság minél magasabb szinten való tartását, mint ami a véletlenszerű párosodással nagyobb vonalakban elérhető volna. Tehát egy adott méretű populációnál célszerű több kisebb részpopulációra osztani az egyedeket. A szubpopulációk optimális méretének meghatározásához további vizsgálatok szükségesek.

IV. kísérlet

A negyedik kísérletben a nemek arányát változtattam az egyes vonalakban, de a teljes populáció létszáma állandó volt.

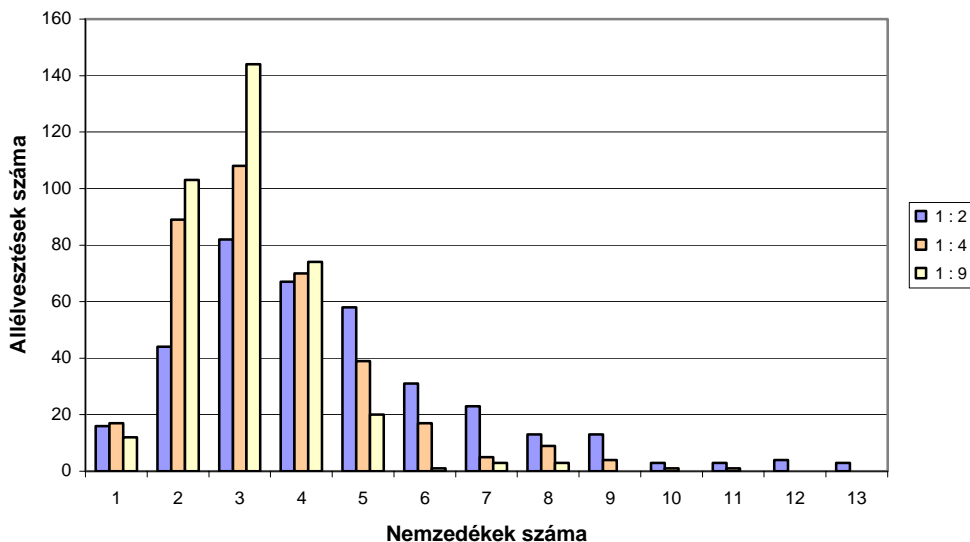
A genetikai változatosságot vizsgálva a 15. nemzedékben megállapítható, hogy az első két esetben, vagyis amikor az alappopuláció allélgyakorisága 0,0069–0,98 között vagy 0,125–0,75 között volt, akkor a nemek aránya nem gyakorolt hatást a genetikai változatosság mértékére az adott körülmények között. A nemek aránya közötti különbségek kimutatható hatása a genetikai változatosságra csak egy esetben jelentkezett, amikor az allélgyakoriságok megegyeztek az alappopulációban ($P < 0,001$).

Ekkor legkedvezőbbnek az 1:2 bak-tojó arány mutatkozott, míg a legkisebb genetikai változatosság az 1:9-es bak-tojó aránynál volt (21. táblázat). Az elméletileg lehetséges maximális Shannon index érték itt is 8,838 lehetett.

		Allégyakoriság		
Ivararány (bak:tojó)		0,0069–0,9806	0,1250–0,7500	0,2500–0,5000
1:2	Átlag	1,47	7,95	8,59
	Szórás	0,33	0,18	0,08
1:4	Átlag	1,50	7,94	8,57
	Szórás	0,34	0,19	0,09
1:9	Átlag	1,52	7,99	8,32
	Szórás	0,39	0,19	0,16

21. táblázat. Átlagos Shannon indexek az egyes populációtípusokhoz a 15. nemzedékben

Az allélvesztések számát illetően csak a ritka allélok esetét vizsgálhattam (5 hordozó egyed a 360-ból), hiszen csak itt következett be jelentős számban, hogy valamely allél gyakorisága nulla lett. Az első allél elvesztése átlagosan a 4,52; a 3,5 és a 3,05-dik nemzedékben következett be 1:2, 1:4 illetve az 1:9 bak-tojó arányoknál (22. ábra és 22. táblázat).



22. ábra. Az első allélvesztés időpontja nemzedékben mérve eltérő ivararányok (bak:tojó) esetén.

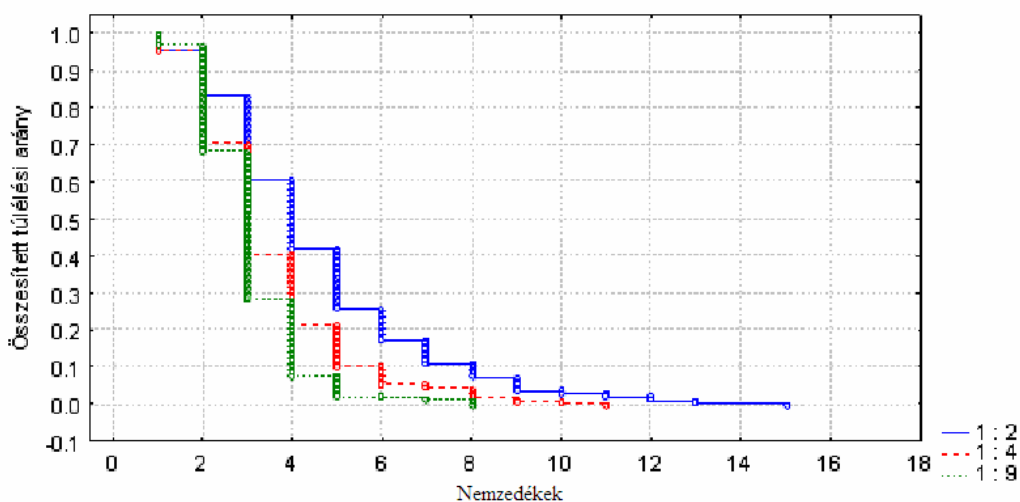
A kezdeti allégyakoriság 0,0069-0,9806 közötti

Ivararány (bak:tojó)	Átlag	Szórás
1:2	4,52	2,37
1:4	3,50	1,68
1:9	3,05	1,10

22. táblázat. Az első allélvesztés átlagos ideje nemzedékben megadva. Az alappopulációban ritka géneváltak vannak

Varianciaanalízissel az említett különbségek szignifikánsnak bizonyultak ($P=0,00$). Ezekon az eseteken kívül csak egy alappopulációt tekintve tapasztalható allélvesztés, ez az 1:9 arány mellett és 0,125–0,75 közötti kezdeti allélgyakoróság esetén ötször következett be a 360 ismétlésből. Egyszer a 12., egyszer a 14. és háromszor a 15. nemzedékben.

A Gehan teszt itt is megerősítette a varianciaanalízis eredményeit, bármely két eset között szignifikáns volt az eltérés ($P=0,00$). A 23. ábrán látható a túlélési függvényre vonatkozó Kaplan-Meier becslés eredménye. A családméret vizsgálatánál készült 23. ábrával összehasonlítva, szembetűnő, hogy itt nagyobbak a távolságok az egyes esetek között.



23. ábra. Kaplan-Meier becslés a túlélési függvényre. A vizsgált esetek különböző effektív populációméretek, az eltérő ivararánynak köszönhetően

Az egyes arányokhoz tartozó effektív populációméret: $N_{e1:2}=320$, $N_{e1:4}=230,4$, $N_{e1:9}=129,6$ volt. Mivel itt eltérők voltak az effektív populációméretek, ezért a becslt beltenyésztettség is eltérő mértékben változott nemzedékről nemzedékre. A

15. nemzedékben a beltenyésztettségi együttható értékei a következők amennyiben a nulladik nemzedék még nem volt beltenyésztett: $F_{1:2}=0,02344$, $F_{1:4}=0,03255$, $F_{1:9}=0,05787$.

A III. és a IV. kísérletben minden populációtípushoz vizsgáltam a 15. nemzedékben mért Shannon index értékeket. Kolmogorov–Szmirnov próbát végeztem normalitásvizsgálathoz. A kapott számítások alapján megállapítottam, hogy minden populációban a 15. nemzedékhez tartozó Shannon indexértékek normális eloszlásból származnak ($P=0,052-0,9$).

Az első allélvesztés nemzedékszámja diszkrét eloszlású valószínűségi változó. Minden populációhoz megvizsgáltam, hogy származhat-e valamilyen nevezetes eloszlásból. Legközelebbi rokonságot a binomiális és Poisson eloszlással mutatta, de ezek statisztikailag nem voltak igazolhatók.

A negyedik kísérletnél, ahol az ivararányt változtattam, a genetikai változatosság szempontjából azok az esetek bizonyultak kedvezőbbnek, amikor az effektív populációméret nagyobb volt. Amikor azonban igen ritka allélok (0,01 alatti) vannak a populációban ezek a különbségek nem voltak szignifikánsak. Ez azt jelenti, hogy csupán a bakok arányának növelésével nem javul jelentősen a genetikai változatosság hosszú távon. Az első allél elvesztésének időpontját tekintve azonban már szignifikáns különbségek mutatkoztak, és az 1:2 ivararány volt a legkedvezőbb.

A beltenyésztettségi leromlás a fitness tulajdonságok rovására mehet, és kihalással járhat kis, elszigetelt populációk esetén. Különösen nagy a veszély egy unikális tenyésztésben a betegségek miatt főleg baromfik esetében (PROVINE, 1986). SMITH (1984) becslést végzett hogy háziállatok esetén mekkora az a minimális egyedszám, aminél az éves beltenyésztettségi szint emelkedés 2% körül van. Baromfik esetére 72 egyedet állapított meg mindkét ivarban. A Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának bronzpulyka populációja ettől lényegesen nagyobb. A heterozigotitás alapján becsült beltenyésztettségi koefficiens 1,19% volt, míg a IV. kísérlet során generált mintapopulációban is csak 2%-5%-kal emelkedett 15 nemzedék alatt. Ez igen kedvező értéknek mutatkozik, összehasonlítva KOMLÓSI (2002) munkájával, ahol szelekciós eljárásokat tesztelve az 5. nemzedékben 0,02–0,22 közé esett a beltenyésztettségi együttható 33–60 egyedszám mellett.

4.4. Következtetések és javaslatok

Következtetések

1. A Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának génmegőrzés céljából fenntartott bronzpulyka populációja részpopulációs szerkezetű. A kis populációméret ellenére az állomány a vizsgált lokuszokra nézve Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. Nem tapasztaltam heterozigóta hiányt, a Wahlund hatás nem érvényesült. Ebből arra következtettem, hogy a rotációs tenyésztési eljárás ellensúlyozza a részpopulációs szerkezetet. A populáció ahhoz hasonló jellemzőkkel bír, mintha véletlenszerű párosítással tartanánk.

2. Az entrópiával (Shannon index) kapcsolatos számítások azt igazolják, hogy a gyakorlatban használt rotációs vonalpárosítás algoritmus megfelelő a genetikai egyensúly és a beltenyésztettség szempontjából, amennyiben a tenyésztési cél a genetikai változatosság fenntartása. Az entrópia a kezdeti értékhez közel stabilizálódott. Fontos hangsúlyozni, hogy ez statisztikailag érvényesül, hiszen nagy egyéni eltérések mutatkoznak. A folyamatban igen nagy a véletlen szerepe, és ez adott esetben óhatatlanul is együtt jár a gének elvesztésével. A kapott adatok szórásainak vizsgálata is ezt erősíti, hiába magas viszonylag a valószínűsége egy ritka allél megmaradásának bakok esetén, a szimulációs eredmények szerint az allélvesztések időpontjainak szórása több, mint háromszoros volt az egy tojó esetéhez képest, így a valóságban a véletlen szeszélye folytán az egyetlen populációnk ritka allélje az első nemzedékben is elveszhet.

3. Azonos populációméret (360 egyed) mellett megvizsgáltam a genetikai változatosságot 4, 12 illetve 36 alpopulációra bontás után. A Shannon indexek nagyobbak voltak, tehát a genetikai változatosság eredményesebben fenntartható volt, ha több kisebb méretű szaporodási közösségre bontottam az állományt (36-szor 10 egyed/vonal), bár ezek a különbségek nem voltak szignifikánsak, ha a kiindulási populációban az allélok, 0,01-nél kisebb gyakoriságúak voltak. Általános esetben, ha az allélgyakoriságok kezdeti értékében nem voltak kirívó eltérések, 36 kis közösség eredményesebb volt, mint 4 nagy szaporodási közösség. Ebből arra következtettem, hogy a rotációs vonalpárosításnál a bakok ciklikus áthelyezése hatékonyabb eszköz a változatosság fenntartása érdekében, mintha a populációt véletlenszerűen párosítanánk. A nagyon ritka, 0,01-nél kisebb gyakoriságú allélok elvesztésének időpontját vizsgálva csak a legkisebb és a legnagyobb családméret (10 és 90 egyed/vonal) között volt

szignifikáns különbség. A Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának bronzpulyka populációja megfelelő családméretű (15-20 egyed/vonal).

4. Az ivararány változtatásával az effektív populációméret is változott. Természetesen a nagyobb effektív populációméret mellett a genetikai változatosságot mérő Shannon indexek is nagyobbak voltak. Jelentős különbségek azonban csak akkor mutatkoztak, amikor a kiindulási allélgyakoriságok megegyeztek. Ebből a tényből az következik, hogy pusztán a bakok számának növelésével, de a populáció létszám szinten tartásával a genetikai változatosság számottevően nem növelhető. Ha a populációban igen ritka gének vannak, ezek megmaradása szempontjából viszont lényeges különbség volt az egyes ivararányokhoz tartozó esetek között. Itt is az 1:2 ivararány volt a kedvezőbb. Az alkalmazott tenyésztési eljárásban az 1:4 ivararány megfelelő génmegőrzési szempontból.

Javaslat

Tapasztalataimat összegezve megállapítottam, hogy a jelenleg alkalmazott rotációs – véletlenszerű párosítás megfelelő eljárás génrezerv baromfi populációk számára. Ezt azonban érdemes kiegészíteni rendszeresen DNS-vizsgálattal, amelyből egzakt adatokat nyerhetünk a populáció genetikai összetételére vonatkozóan. Ennek gyakorisága sok tényezőtől – pénzügyi lehetőségek, a populáció genetikai állapota – függ. Pontosabb értékelést a DNS-vizsgálat javasolt gyakoriságának megállapítására csak populációra szabottan, a konkrét DNS-vizsgálati eredmény elemzése után lehet adni. Az eredmények alapján ezt a DNS-vizsgálatot ilyen szerkezetű populációnál négy nemzedékenként javaslom, amennyiben a populációban ritka 0,05 vagy ez alatti gyakoriságú allélok találunk, és ezek hordozói nagy részben vagy teljességgel tojók. Számításaim szerint beavatkozni, vagyis az ilyen tojóktól a szokásosnál több utódot megtartani ebben a populációban akkor kell, ha az allélgyakoriság 0,03 alá csökken.

5. A klónozás tömeges alkalmazásának hatásai a tejelő szarvasmarha populációban

5.1. Irodalmi áttekintés

5.1.1. Biotechnikai és biotechnológiai eljárások

„Biotechnikai eljárás alatt azt a műveletet értünk, amelyben valamilyen gazdasági cél érdekében biológiai módszerrel beavatkozunk az életfolyamatokba, időlegesen felfüggesztjük azok egy részét, időzítjük a történéseket, a természetes úttól eltérően befolyásoljuk a lefolyását, vagy éppen beavatkozásunkkal teremtjük meg egy élettani működés feltételét, ezzel felgyorsítjuk az életfolyamatot, biotechnikai beavatkozást végzünk” (GERGÁTZ, 1998). Ide tartozik például a mesterséges termékenyítés és az embrióátültetés. A biotechnológiai eljárások az örökítőanyag megváltoztatására irányulnak, és sejtszinten végezhetőek. Ebbe a csoportba sorolható az embriók mélyhűtése és a klónozás is.

5.1.2. A klónozás fogalma és típusai

A klón szó görög eredetű, eredeti jelentése rügy, vessző (VAJTA és MACHÁTY, 1994), jelenleg azonban többféle értelemben használják a biológiában. PALESS (1997) szerint a klónozás fogalmán az emlősöknek zigóta vagy zigótaszerű sejtek felhasználásával való ivartalan szaporítását kell érteni. Egy másik megfogalmazás szerint „klónoknak nevezzük az ugyanazon őstől ivartalanul előállított, genetikailag azonos utópopulációt” (SOLTI, 2004). Míg a növénytermesztésben a klónozás régóta alkalmazott tevékenység, addig az állattenyésztésben ez a módszer csak mostanában indult fejlődésnek.

Embriódarabolás

Ebben az eljárásban egy petesejtet mesterségesen termékenyítenek meg (IVF, in vitro fertilization), majd az így létrejött zigótát osztódni hagyják, egészen a nyolc

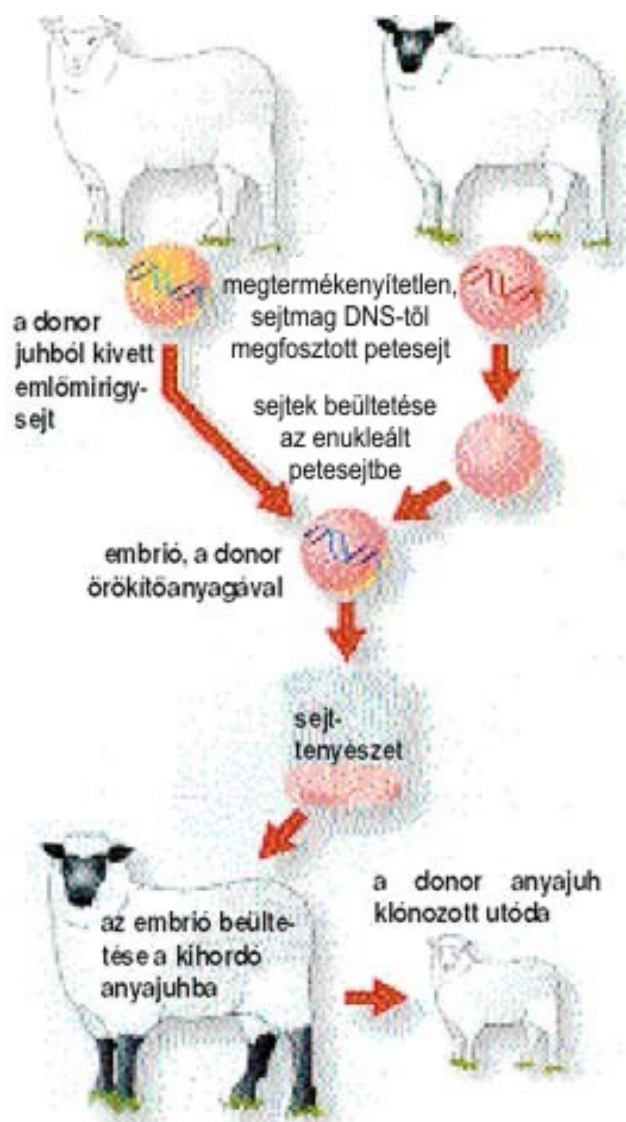
sejtből álló embrionális állapotig. Ekkor az embriót több részre hasítják (embryo splitting), leggyakrabban négy, két sejtből álló darabra. A nyolcsejtes állapotig még nem indul meg a sejtek differenciálódása, s az így kapott embriók genetikailag teljesen azonosak lesznek egymással. Az eddigi kutatások alapján úgy tűnik, hogy az embriókat legfeljebb négy részre lehet osztani, hogy elegendő számú embrionális sejtből álló életképes embriókat lehessen később beültetni (BARANYAI és mtsai, 2000; GÓCZA, 1997). WILLADSEN nevéhez fűződnek az első olyan kísérletek, melynek végeredményeként egy embriót négyfelé vágtak, s ebből három bárány jött világra (WILLADSEN, 1979, 1986).

Sejtmag-átültetési technológia (nuklear transfer)

Ebben a módszerben a megtermékenyített sejt magját olyan zigótába vagy petesejtbe injektálják, amelynek saját sejtmagját előzőleg eltávolították. Gyenge elektromos áram segítségével egyesítik, és így életképes zigóta nyerhető. A sejtmagokban található DNS minden embrióban megegyezik, azonban a befogadó (recipiens) petesejt citoplazmája is tartalmaz öröklődő anyagot. Ez kis eltérést jelent a klonembriók között. Az első sejtmagátültetés kísérletet békaembriókon végezték el (BRIGGS és KING, 1952).

Testi sejtes klónozás

Az előzőekben leírt sejtmag-átültetési eljárástól abban különbözik, hogy itt szomatikus sejt sejtmagját ültetik be egy sejtmagjától megfosztott petesejtbe. A híressé vált WILMUT és munkatársai (1997) számoltak be az első sikeres kísérletről, melynek eredményeképpen született meg Dolly (24. ábra). Ennek jelentősége és nehézsége abban áll, hogy a testi sejtek már differenciálódtak, specializálódtak valamilyen feladat ellátásához. Ahhoz, hogy egy új élet fejlődhessen belőle, vissza kell állítani a sejt „belső óráját”, hogy újra bármilyen sejt fejlődhessen belőle.



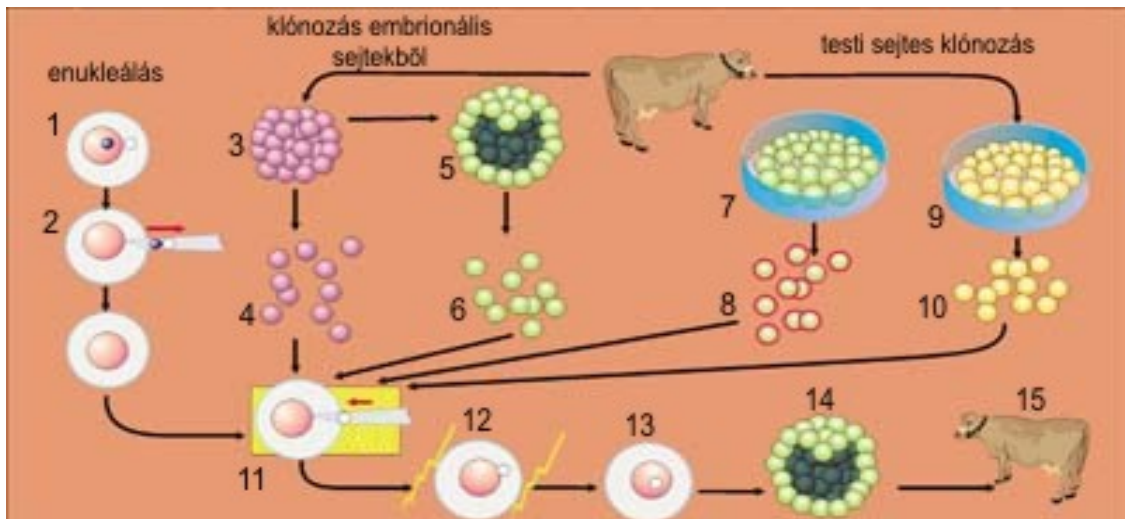
24. ábra. Testi sejtes klónozás menete¹

5.1.3. Össejtek a klónozásnál

Egy embrióból kevés sejtmag nyerhető a sejtmag-átültetéshez, ezért csak kis számú genetikailag azonos egyed hozható létre belőle. Ez a tény fordította a kutatók figyelmét az embrionális össejtek felé. A cél az volt, hogy sejttenyészetből származó embriót tudjanak eredményesen beültetni, így tetszés szerinti létszámban lehessen genetikailag identikus egyedeket előállítani. „Ennek feltétele, hogy a sejtek pluripotensek és sejttenyészetben (in vitro) korlátlanul fenntarthatók legyenek

¹ Az ábra forrása: http://www.sulinet.hu/cgi-bin/db2www/ma/et_tart/1st?kat=Acam&id=119971321&url=/eletestudomany/archiv/1997/9713/tudvil/ujra/ujra.html, (2005. február 14.)

(BARANYAI és mtsai, 2000)”. „Erre a legalkalmasabb megoldást az ún. embrionális eredetű őssejtek (ES-sejtek: embrionic stem cells) használata jelent, mert pluripotensek² és tenyészetben differenciálódás nélkül fenntarthatók (GÓCZA, 1997, 1998)”. Először CAMPBELL és munkatársai (1996) publikálták, hogy embrionális eredetű ősejt vonalat, illetve embrionális eredetű fibroblaszt sejtekből klónozott bárányt állítottak elő. Ez volt az első eset, hogy klónozáshoz sejttenyészetből származó sejtet használtak fel. Azóta már sok más fajban is sikerült élő utódokat nyerni testi sejtekből; egérben, szarvasmarhában, kecskében, sertésben, macskában, nyúlban, muflonban, öszvérben, lóban, afrikai vadmacskában (DINNYÉS és mtsai, 2002). Így, tehát megvan a gyakorlati lehetősége annak, hogy genetikailag azonos egyedeket tetszőleges számban állítsanak elő bizonyos állatfajok esetén (25. ábra).



1. Érett petesejt, 2. A petesejt sejtmagjának eltávolítása, 3. Szedercsira, 4. Az embrió szétválasztás sejtjeire, 5. Hólyagsíra, 6. A hólyagsíra embriócsomójának szétválasztása sejtekre, 7. Embriionális őssejt-tenyészet indítása a hólyagsíra embriócsomójának sejtjeiből, 8. Embriionális őssejtek, 9. Sejttenyészet indítása testi sejtekből, 10. Sejttenyészet-eredetű testi sejtek, 11. Új (idegen, vendég) sejt-átültetése, 12. A klónkonstrukció membránjának elektrofúziója, 13. Mesterséges zigóta, 14. Klónozással előállított hólyagsíra, 15. Embrióbeültetés

25. ábra. A sejt-átültetési klónozás lehetőségei³

² Pluripotens sejtek: az embrionális fejlődés során szükséges majdnem minden információt tartalmazó sejtek (GÓCZA, 1997)

³ Az ábra forrása BODÓ és GERENCSÉR, (2000b)

Az embrionális őssejtek alkalmasak arra is, hogy genetikailag módosítsák, így genetikai állományában átalakított állatok hozhatók létre. Ezeket GMO-nak (genetically modified organism) vagy transzgenikus állatoknak is nevezzük.

5.1.4. Rokonsági viszonyok

Az embriódarabolással létrehozott állatok (identikus ikrek) valódi szülei a petesejtet és a hímivarsejtet adó donorok. Ezeknek az ikreknek éppúgy átlagosan 50-50%-os a szülőkkel való genetikai azonossága, mint bármely természetes úton létrejött egyednek. A vendégembriót kihordó nőtény csak béranya, vagy más szóhasználattal dajkaanya, az embriónak genetikai értelemben nem rokona. Az embriódarabolással létrejött ikrek, csakúgy mint a természetben az egypetűjű ikrek, egymással teljesen egyforma génekészlettel rendelkeznek, így 100%-os a rokonság mértéke. Az életük folytán apró mutációk keletkezhetnek, ezek eltéréseket indukálhatnak, de ezeknek a mértéke nem jelentős.

A sejtmag-átültetési technikánál más a helyzet. „Egy állati sejtben nemcsak a sejtmag, hanem a mitokondriumok is hordoznak genetikai információt. Az ivarsejtek kialakulásukat követően a megtermékenyítésig rendelkeznek sejtmag- és mitokondriális DNS-sel. Amíg egyesülésük után az apai és az anyai sejtmagok együttesen irányítják az újonnan létrejövő állat fejlődését, addig a hímivarsejttel a petesejtbe bejutott apai eredetű mitokondriumok az emlősöknél az egyedfejlődés kezdetén kiküszöbölődnek. Ezért az utód csak az anyai eredetű mitokondriumokat, illetve mitokondriális géneket örökli mindkét ivarban és csak a nőivarban örökíti tovább” (BODÓ és GERENCSÉR, 2000a). A sejtmag átültetése során azonban a recipiens sejt mitokondriuma öröklődik tovább, így az embriónak van egy harmadik – genetikai értelemben vett – szülője is. Ezen kívül, itt is számolhatunk dajkaanyával, de természetesen rokonsági viszony nincs a klón és a dajkaanya között.

GIBSON és munkatársai (1997) szarvasmarhánál vizsgálták a mitokondriális hatást a tejsírszázalékra nézve. Megállapították, hogy az általuk nézett különböző populációknál az összes variancia 2,9–5,6%-a a mitokondriális eltéréseknek köszönhető. Más szerzők szerint (BELL és mtsai, 1985) ez az érték nem több 1,2%-nál. A 4%-os zsírtartalomra korrigált tejmenyiséget vizsgálták FAUST és munkatársai (1990). Itt a mitokondriális hatást 0–5% közöttinek találták a teljes varianciához viszonyítva. ONKEN és SWALVE (1993) tej-, zsír-, fehérjemennyiség és tejsír

százalék adatokat vizsgálva holstein-fríz szarvasmarhánál a teljes variancia 6,8; 0; 2,4; illetve 1,2%-át tulajdonították a citoplazmában található géneknek. SCHUTZ és munkatársai (1994) a mitokondriális DNS egy génszakaszán előforduló báziscsere következtében 842 kg-mal több tej és 37 kg-mal több zsírhozamot tapasztaltak laktációnként.

5.1.5. Alkalmazási lehetőségek

Az állattenyésztésben dolgozó kutatók számára nagyon fontos az egypetűjű ikrek vizsgálata, hiszen genetikai állományuk azonosnak tekinthető, így jól vizsgálhatók rajtuk a környezeti tényezők hatása, legyen az akár eltérő takarmányozás vagy különböző tartási körülmény. Egypetűjű ikrek, vagy akár egypetűjű hármastestű ikrek alkalmazásával kevesebb kísérleti állat használatával lehetne ugyanolyan megbízható kutatási eredményekhez jutni, hiszen az egyik egyednek kontrollállatnak lehetne használni. Klónozással előállított egypetűjű ikrek segítségével genetikai betegségek is jól vizsgálhatók.

Gazdasági előnyei is vannak az embriódarabolásos technikai eljárásnak. A darabolás során keletkezett egyik embriófelet „feláldozva” előre meg lehet vizsgálni az embriók nemét és esetleges genetikai terhelttségét. Sajnos a módszer hátránya, hogy csak korlátozott számban nyerhetők utódok.

A testi sejtes klónozásnak leginkább a gyógyászat láthatja hasznát. Módosított génállományú őssejtek klónozásával tejükben speciális fehérjéket termelő „transzgenikus állatok állíthatók elő a korábbinál nagyobb hatékonysággal” (SOLTI, 2004). „A kívánt fehérjét bioreaktorként termelő klónozott állományok kialakítása (biopharming) jelentős haszonnal kecsegtet a gyógyszerpiacon” (BARANYAI és mtsai, 2000). A tejben ezek a gyógyszer alapanyagok nagy mennyiségben kis költséggel állíthatók elő. Ilyen például a skóciai Roslin Intézetben végzett (SCHNIEKE és mtsai, 1997), az emberi IX. véralvadási faktor pótlását célzó kísérlet, aminek során egy juh genetikai állományát úgy módosították, hogy tejében előállítsa a hemofiliában szenvedő betegek gyógykezeléséhez szükséges fehérjét. A transzgenikus állatoknak a szervátültetések területén is nagy lehet a szerepük. Az emberi gyógyászatban egyre kevesebb az átültetésre alkalmas szerv, így lehetséges alternatív forrás a módosított génállományú sertések szerveinek felhasználása.

A mezőgazdaságban különösen jól lehetne hasznosítani a testi sejtes klónozással létrehozott állatokat, bár a jelenlegi alacsony hatékonyság és nagy költségek miatt még nem teremtődtek meg a feltételek a tömeges alkalmazásának. Egyrészt a kiváló genotípusú haszonállat előállítására a tetszőlegesen sokszor megismételhető. Másrészt bizonyos betegségek ellen védekezést élvezhetnének az állatok, ha egy génmódosított egyed klónozással elszaporítanának. „A transzgenikus állatok mezőgazdasági hasznosítása elsősorban fertőző, vírusos ágensekkel szembeni rezisztenciagének beültetésével képzelhető el. Így állataink bizonyos betegségekkel szembeni védekezést élvezhetnének” (GERGÁTZ, 1998).

A természetvédelemben lehetséges megoldást jelenthet a veszélyeztetett vagy kihaltfélben levő fajok megmentésére csakúgy, mint a mezőgazdaság számára fontos, de ritka fajták megőrzésére (BODÓ és GERENCSÉR, 2000b , SOLTI és mtsai, 2000).

5.1.6. Magyar vonatkozások

Hazánkban a mosonmagyaróvári Sejtbiológiai Laboratóriumban folytak klónozási témájú kutatások. GERGÁTZ professzor vezetésével. 1993-ban és 1994-ben összesen négy bárány született sejtmagátültetéssel. (Kerekasztal beszélgetés a klónozásról a Magyar Tudományos Akadémia székházában, 1997.)

A gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban a sejtmagátültetéssel kapcsolatos kísérleteket szarvasmarha embriók felhasználásával végeztek (DINNYÉS és mtsai 1997). Szarvasmarha petesejtek *in vitro* parthenogenetikus aktivációjával foglalkoztak többen is – Bodó, Dinnyés, Baranyai, Solti – mely végül hozzájárult a sejtmagátültetéses klónozás megvalósításához (DOHY, 2000).

A klónozás technikai lebonyolításának fejlesztésében elvülhetetlen érdemeket szerzett egy Dániában élő magyar embriológus Vajta Gábor. Az ő nevéhez fűződik az ún. kézi klónozás (handmade cloning – HCM) módszere. Lényege, hogy a petesejteket és a korai embriókat körülvevő rugalmas burkot, a zona pellucidát nem őrzik meg, és így mikromanipulátor használata nélkül olcsón és egyszerűen lehet klónozni. A vemhesülési eredmények jobbak, mint a hagyományos eljárással. Dél–Afrikában már meg is született az első borjú ezzel a technológiával klónozva (VAJTA és mtsai, 2004).

5.1.7. Szimulációs kísérletek a klónozással kapcsolatosan

Molekuláris klónozással kapcsolatos számítási problémák megoldásához számítógépes szimulációs programot készítettek ALDEA és KUSHNER (1988). Ez a program főleg a kísérletek tervezéséhez nyújtott vizualizációs segítséget.

Olyan szimulációs kísérlet, amelyben a klónozásnak a beltenyésztettségre gyakorolt hatását vizsgálták volna, a szemlézett irodalomban nem volt fellelhető.

5.2. Anyag és módszer

Számítógépes szimuláció segítségével összehasonlítottam a testi sejtes klónozás, és az embriódarabolási technológia tömeges alkalmazásának lehetséges hatását egy szimulált tejelő szarvasmarha populációra nézve. Az alappopuláció több, mint 260000 egyedből állt, közelítve a hazai tehénlétszámhoz. Vizsgáltam a genetikai értékek változását, a genetikai variancia változását, valamint a tejelő állomány átlagos beltenyésztettségét.

Az alappopuláció generálása

Az alappopuláció létszáma 200 000 tehén, 60 000 üszőborjú, a bikák száma pedig a kísérleti beállítástól függően 500 tenyészbika és 400 bikaborjú, vagy 667 tenyészbika és 600 bikaborjú vagy 1000 tenyészbika 800 bikaborjával. A borjak száma úgy értendő, hogy ennyi született szaporodási ciklusonként.

A klónozási kísérlet során az infinitezimális modellt alkalmaztam. Nem számoltam dominancia és episztázis hatással, így az összes genetikai érték az additív genetikai értékkel egyezett meg. Az egyedeket a genetikai értékeikkel és a tenyészértékükkel jellemeztem. A genetikai értékek a kiindulási populációban standard normális eloszlásból származó véletlenszámok voltak. A tenyészérték szintén egy normális eloszlást mutató valószínűségi változó volt. Számítása pedig úgy történt, hogy a genetikai értékhez egy nulla várható értékű véletlenszámot adtam hozzá. Ez a véletlenszám is normális eloszlásból származott, szórása függött a nemtől, bikáknál 0,05, teheneknél 0,2 volt. A két ivarban a tenyészértékbecslés során nem azonos számú utód teljesítménye alapján számolnak, így a tenyészértéket eltérő pontossággal tudják becsülni, ezért tettem különbséget közöttük. Míg nőivarban az anyai teljesítmény, saját teljesítmény, a kevés számú megszületett utód teljesítménye és az apai féltestvérek teljesítménye alapján becsülik a tenyészértéket, addig hímivarban az anyai-, apai

féltestvérek ivadékcsoportjai- és a saját lányai teljesítménye szolgál a becslés alapjául. Az utódok a szülők genetikai értékének átlagát és egy nulla várható értékű véletlenszám összegét kapták, ez utóbbi a mendeli varianciát modellezte. A tenyésztértékek alapján rangsoroltam az egyedeket.

A kísérletekben három különböző klónozási eljárást, több különböző változatban hasonlítottam egy kontroll populációhoz. A kísérletben átfedő populációkat vizsgáltam. Egy–egy szimulációs ciklus két ellés közötti időszaknak felelt meg (410 nap). A számítógépes szimulációknál a szimulációs ciklusoknak meg kell feleltetni valamilyen valós időtartamot. Ennek megválasztása az adott probléma típusától függ. Lehet az időt napban, hónapban, évben vagy más egységben mérni. A szarvasmarha klónozási kísérletnél a biológia diktálta ütemezés mutatkozott a legcélszerűbbnek. Így egy szimulációs ciklusban megtörténik minden lényeges esemény: a pároztatás, a vemhenvelés, az ellés. A későbbiekben szaporodási időszakként hivatkozok az idő múlásának ezen mértékére, minden kísérleti elrendezésben. A következő nőivarú nemzedék első elléskori életkoráig két szaporodási időszak telt el, ez 2,2 év. A hímivarban ez az időszak hosszabb volt, mivel azokat tenyésztértékük alapján 5 éves kor körül veszik tenyésztésbe. Ez megfelel a magyar gyakorlatnak.

Minden kísérleti elrendezésben célpárosítást alkalmaztam. A legmagasabb tenyésztértékű bikákat a 200, 300 vagy 400 legmagasabb tenyésztértékű tehénnel párosítottam. A második legjobb bikát, pedig a rangsorban következő nőivarú egyedekkel.

A tejelő állomány korszerkezete állandó volt (23. táblázat), az arányokat élettartamindex táblázat (BÁDER és mtsai, 2002) alapján készítettem.

„Világtendencia, hogy a tehenek hasznos élettartama fokozatosan csökken, az átlagosan teljesített laktációk száma 2 és 3 között alakul. A selejtezés főbb okai: szaporodásbiológiai okok, tögygyulladás, és sántaság” (GYÖRKÖS és BÁDER, 2002). BÁDER és munkatársai (2002) összehasonlító vizsgálataikban megmutatták, hogy kötött és kötetlen tartásban milyen élettartami mutatókkal rendelkeznek a tejelő szarvasmarha állományok. Az első ellés ideje közel 27,4 hónap volt, ez az érték a modellben 27,3 hónap. Az átlagos kiesési selejtezési idő 5,5 év kötött ill. 5,8 év kötetlen tartásban. A modellben 5,3 év. Az első elléstől kiesésig eltelt idő 3,2 év (1181 nap) kötött, 3,5 év (1285 nap) kötetlen tartásban. A modellben ez 3,1 év (1119 nap).

A tenyészbikák változó korszerkezetűek voltak, hiszen a tenyészállatok 5 éves kor és legalább 75%-os megbízhatóság mellett mindaddig tenyésztésben maradnak, amíg a legjobbak között vannak (PRINCZ L., személyes közlés. 2005).

Kor évben	Kor szaporodási időszakban (1 szaporodási időszak=410 nap)	Létszám (egyed)
0	0	60 000
1,1	1	60 000
2,2	2	60 000
3,4	3	48 000
4,5	4	34 000
5,6	5	25 000
6,7	6	17 000
7,8	7	10 000
9	8	5 000
10,1	9	1 000

23. táblázat. A nőivarú állomány kor szerinti szerkezete a szimulációs programban az összes kísérleti beállításban

Az A változat volt a kontrollpopuláció. Itt nem alkalmaztam klónozást.

A B változatban az embrionális sejtenyészetek segítségével történő sejtmag-átültetéses klónozást modelleztem. A párosítások során a legjobb tenyészértékű tehének embriói felhasználásával 9–9 klónt képeztem, a klónutódok genetikai értékei megegyeztek. (A kilences szám a D változat hármas ikreivel indokolható, azzal összehasonlítható populációkat kívántam létrehozni.)

A C változatban testi sejtes klónozást modelleztem. A legjobb tenyészértékű tehének 9–9 klónját képeztem. A genetikai értékeik a donoréval egyeztek meg. A testi sejtes klónozás a jelenlegi gyakorlatban a legkevésbé sikeres eljárás, ugyanakkor állattenyésztési jelentősége nagy, hiszen ismert teljesítményű állatokat lehetne klónozni ily módon.

A B és C változatban tárgyalt sejtmag-átültetéses klónozás során felmerül az anyai hatás kérdése. Az ilyen klónok családi viszonyai összetettebbek. Genetikai értelemben vett szülei a donor szüleivel egyeznek meg. A donortól azonban csak a sejtmagot kapja, a citoplazma egy másik egyedtől származik. A citoplazma tartalmazza a

mitokondriális DNS-t, így egy „harmadik szülője” is van. A mitokondriális DNS szerepe még vitatott (GIBSON és mtsai, 1997; BELL és mtsai, 1985, FAUST és mtsai, 1990; ONKEN és SWALVE, 1993; SCHUTZ és mtsai, 1994), többnyire 0–5%-os teljesítményre gyakorolt hatását ebben a kísérletben elhanyagoltam, pontosabban, ha a citoplazma donor hasonlóan kiváló teljesítményű a sejtmagdonorhoz, akkor nem ront annak várható teljesítményén. Az embrió kihordásához kell még egy egyed, szokásos elnevezéssel „béranya” vagy „dajkaanya”. A dajkaanyákat a legkisebb tenyésztékű egyedek közül választottam ki, így egy időszakon belül a legjobb teljesítményű tehének még ivaros szaporodásban is részt vehettek. A béranya vehemre gyakorolt hatásával nem számoltam. A megszületett klónok mind nőivarúak voltak.

A D változat a klónozás egy harmadik típusát vizsgálja. Embriódarabolási eljárás néven vált ismertté, és gyakorlatilag egyetűjű ikrek előállítását célozza. Egy embriót nyolcsejtes állapotáig tartanak, mikor felosztják négy részre. Ettől több részre darabolásnál még nem születtek életképes utódok. A modellben a négy részből egyet „feláldoztam”, hogy a nemét meg lehessen állapítani, hiszen csak nőivarú egyedeket kívántam klónozni. Összességében tehát azonos genetikai értékű hármas iker utódok születtek. Kísérletemben egy anyától, egy párosításból több (három vagy hat) hármas ikret származtattam. Azonos szülőktől származó hármas ikrek genetikai különbsége csak a mendeli varianciának volt köszönhető.

A kísérletek során kétféle paraméterértéket változtattam. Egyrészt a tenyész bikák, másrészt a szaporodási időszakonként született klónok számát. A tenyész bikák létszáma háromféle lehetett. A szaporodási időszakonként született klónozott egyedek számánál 18-cal osztható számot választottam, hogy a hármas ikrek esetével összehasonlíthatók legyenek. Ennek megfelelően szaporodási időszakonként 10080, vagy 5040, vagy 1008 klón született. Az alábbi táblázatban megtalálhatóak az egyes kísérleti elrendezések (24. táblázat).

A táblázatban található 9-féle beállítás mindegyikét mindhárom bikalétszámmal együtt alkalmaztam, így összesen $9 \times 3 = 27$ kísérleti elrendezést vizsgáltam. A szimulációs kísérletben 18 szaporodási időszakot, ezzel 20,2 évet vizsgáltam. Szaporodási időszakonként rögzítettem a tejelő állomány átlagos genetikai értékét, a genetikai értékek szórását és a beltenyésztettség koefficiensét minden egyedre. A 18 szaporodási időszak alatt több, mint 1,34 millió egyed született egy kísérleti program futtatás során. Mind a 27 kísérletet 20 ismétléssel végeztem. A szükséges ismétlések számát a 3.2. fejezetben leírt formula alapján számítottam ki.

Betűjelzés	Típus	Anyák/donorok száma	Klónok száma összesen	Klónok aránya a tejelő állományhoz viszonyítva
A	Kontroll populáció. Nincs klónozás	0	0	0%
B1	Sejtmag-átültetési klónozás	1120	10080	5%
B2	Sejtmag-átültetési klónozás	560	5040	2,5%
B3	Sejtmag-átültetési klónozás	112	1008	0,5%
C	Testi sejtes klónozás	1120	10080	5%
D1	Embriódarabolási eljárás	1120	10080	5%
D2	Embriódarabolási eljárás	560	5040	2,5%
D3	Embriódarabolási eljárás	112	1008	0,5%
D4	Embriódarabolási eljárás	560	10080	5%

24. táblázat. Kísérleti paraméterek leírása

A populáció magas létszáma miatt nagy teljesítményre és háttértárra volt szükségem, ezért a SCILAB nyelven írt programokat a Nemzeti Információs Infrastruktúra Fejlesztési Program szuperszámítógépén futtattam. A beltenyésztettségi koefficiens számolására 1,34 millió egyed mellett a SCILAB nyelv nem volt alkalmas, nem volt képes ennyi adatot egyszerre kezelni. Ezért a SCILAB által készített pedigre fájl alapján egy JAVA nyelven írt programmal számítottam ki a beltenyésztettségi koefficienset minden egyedre a Wright-féle képlet alapján. Ezt a programot algoritmusom és útmutatásaim felhasználásával egy informatikai mérnök készítette. A statisztikai elemzés során varianciaanalízist (SVÁB, 1981), Levene próbát (VARGHA, 2000), Kolmogorov-Szmirnov próbát (LUKÁCS, 1996) alkalmaztam.

Beltenyésztettségi koefficiens számolása nélkül a genetikai értékek szórásának elemzésére további ismétléseket végeztem 50 szaporodási időszak hosszan. Ilyen hosszú távon (56,2 év) előre vizsgálandni nem életszerű, de az elméletileg várt genetikai változatosság csökkenése csak ilyen távlatokban volt megmutatható. A hosszú távú vizsgálatoknál szintén 20–20 ismétlést végeztem.

5.3. Vizsgálati eredmények bemutatása és értékelése

A klónozás tömeges alkalmazásának a genetikai értékekre és a beltenyésztettségre gyakorolt hatását 27 kísérleti beállítás mellett egyenként 20 ismétléssel szimulációs program segítségével vizsgáltam. A kiindulási populáció átlagos genetikai értéke nulla volt. Az alábbi táblázatban látható, hogyan változott meg ez a jellemző 18 szaporodási időszak, vagyis 20,2 év alatt (25. táblázat).

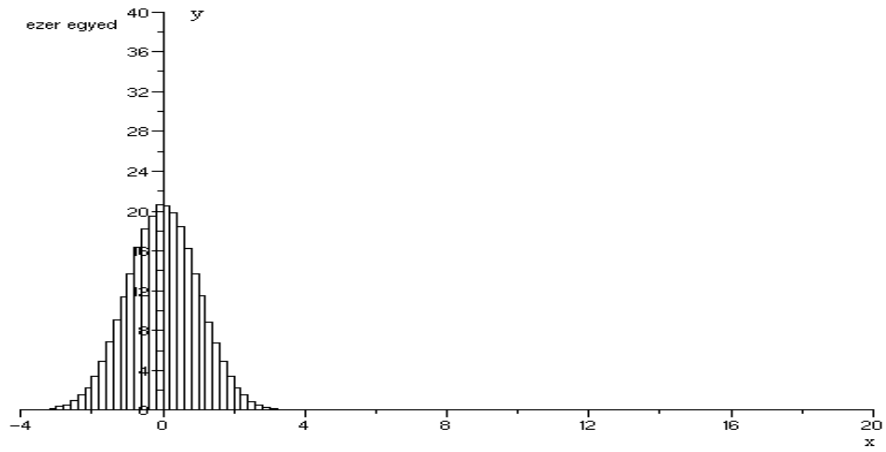
Kísérleti elrendezés típusa	500 tenyészbika mellett		667 tenyészbika mellett		1000 tenyészbika mellett	
	Genetikai értékek átlaga	Genetikai értékek szórása	Genetikai értékek átlaga	Genetikai értékek szórása	Genetikai értékek átlaga	Genetikai értékek szórása
A	7,44	1,12	7,23	1,11	6,91	1,06
B1	9,97	1,84	9,82	1,85	9,58	1,86
B2	9,17	1,73	8,94	1,70	8,66	1,70
B3	8,03	1,37	7,82	1,36	7,52	1,34
C	9,42	1,56	9,24	1,56	8,97	1,54
D1	9,97	1,84	9,81	1,86	9,53	1,84
D2	9,09	1,70	8,85	1,68	8,64	1,70
D3	8,03	1,38	7,86	1,37	7,54	1,35
D4	10,31	1,99	10,22	2,02	9,96	2,03

Az elrendezés típusánál alkalmazott rövidítések: A – kontroll populáció, nincs klónozás. B1, B2, B3 – sejtmag-átültetéses klónozás, a tejlő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. C – testi sejt klónozás, a tejlő állomány 5%-a klón. D1, D2, D3 – embriódarabolásos klónozás, a tejlő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. D4 – embriódarabolásos klónozás, a tejlő állomány 5%-a klón. A D4 és a D1 eset abban különbözik, hogy a D4-nél az anyák száma fele a D1-hez képest.

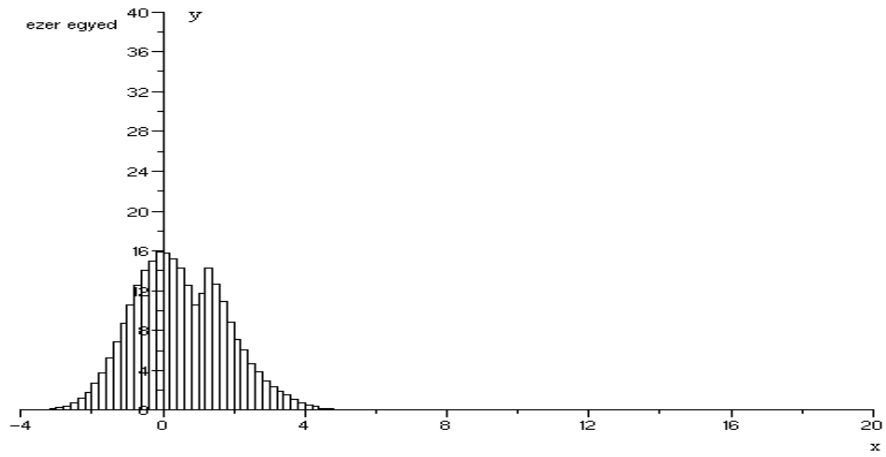
25. táblázat. A genetikai értékek és a genetikai értékek szórása a tejlő állományra vonatkozóan

A genetikai értékek eloszlása a kiindulási populációban standard normális eloszlás volt. Minden kísérleti elrendezésnél az első nyolc szaporodási időszakban kétszcúcsú lett ez az eloszlás, majd beállt az egyensúlyi állapot, a genetikai értékek eloszlása ismét normális lett (26. ábra). Ennek az volt az oka, hogy a kiindulási állapotban a tenyészbikák genetikai értékei is a standard normális eloszlásból származtak, majd a szelekció során a megtartott bikaborjak átlaga, már messze felülmúlta az előző nemzedék átlagát. Amikor a kiindulási populáció tenyészbikái már mind kiöregedtek, és nagyobb teljesítményű már a kísérlet során „felnevelkedett” bikák vették át a helyüket, akkor ismét normális eloszlást mutattak a genetikai értékek.

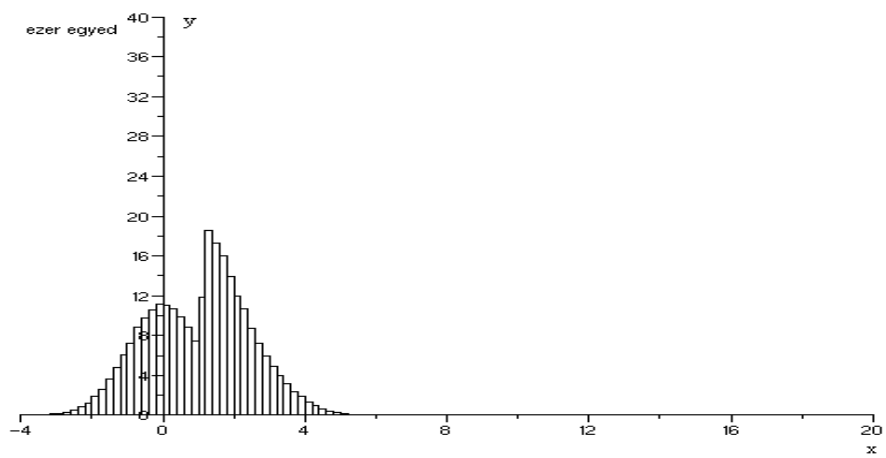
Kiindulási populáció



1. szaporodási időszak

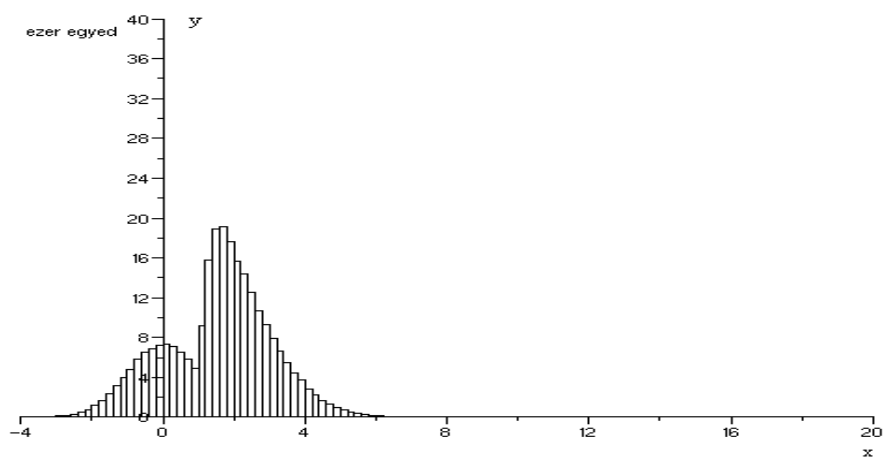


2. szaporodási időszak

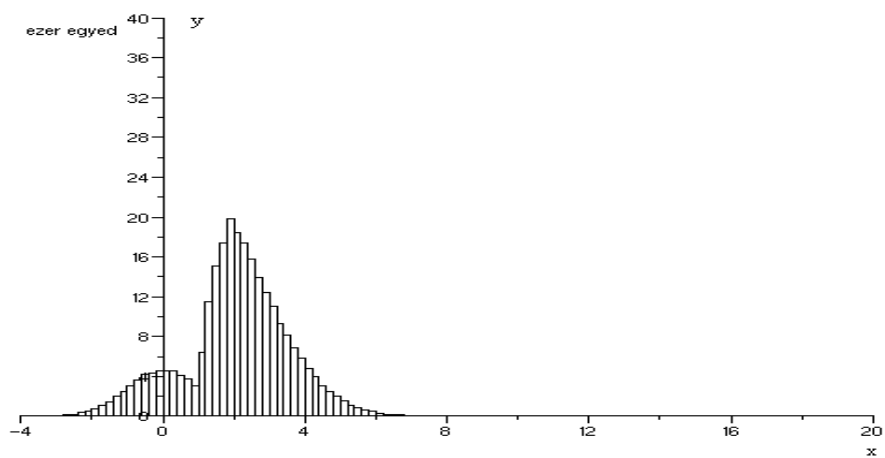


**26. ábra. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során.
Embriódarabolásos eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett**

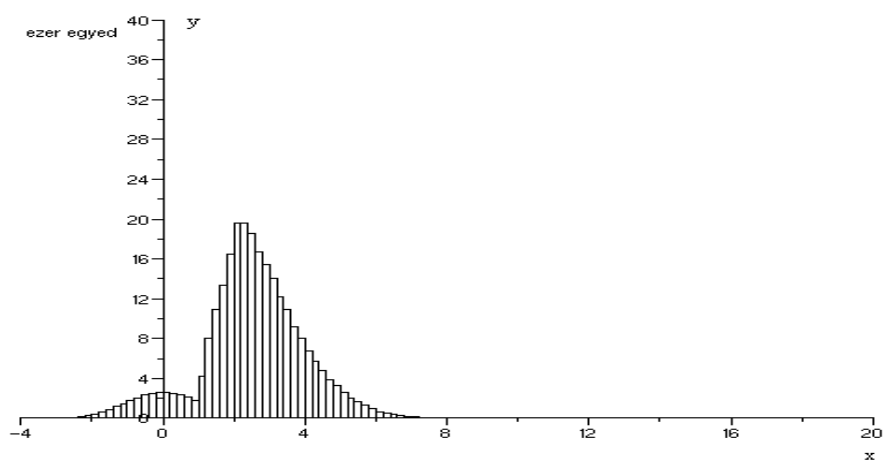
3. szaporodási időszak



4. szaporodási időszak

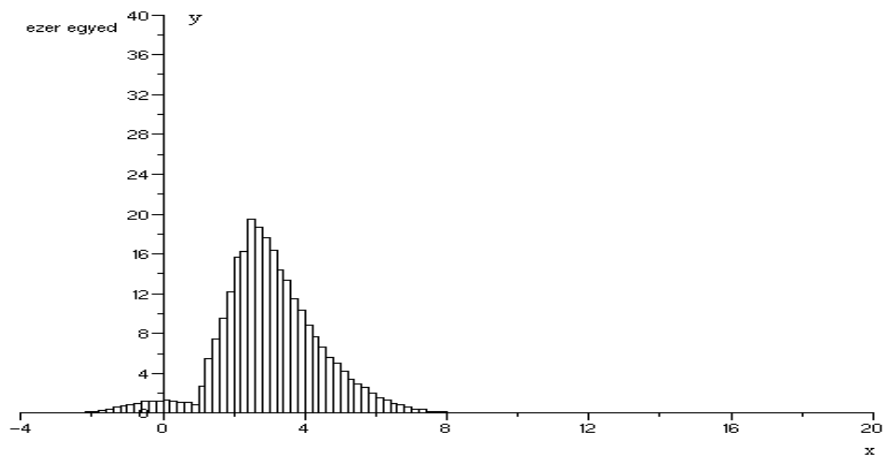


5. szaporodási időszak

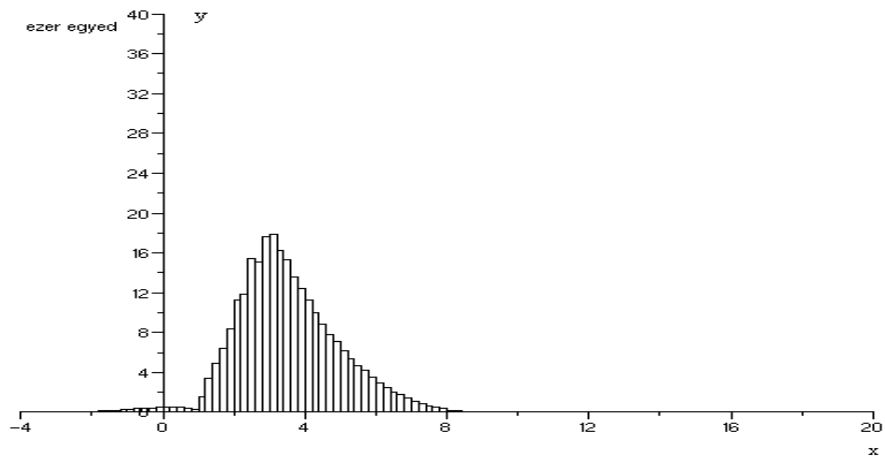


**26. ábra folytatása. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során.
Embriódarabolásos eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett**

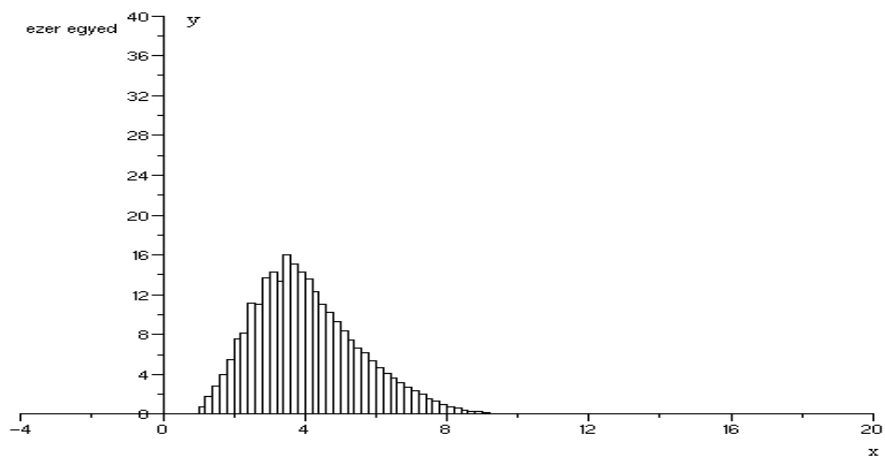
6. szaporodási időszak



7. szaporodási időszak

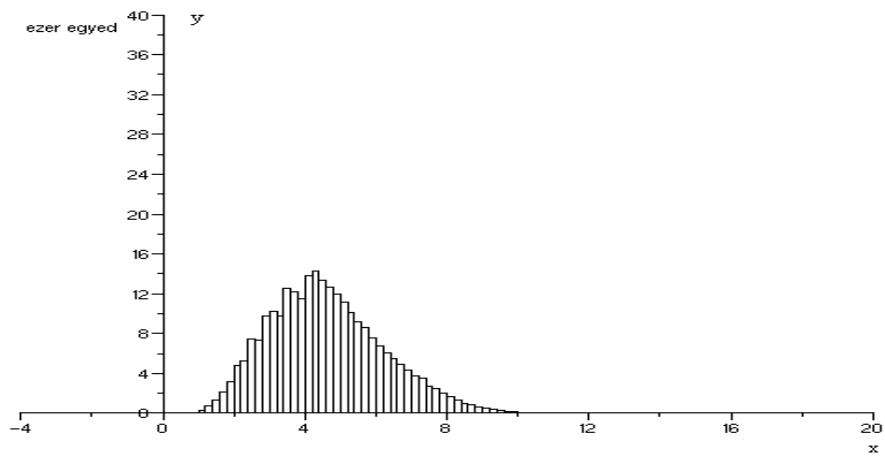


8. szaporodási időszak

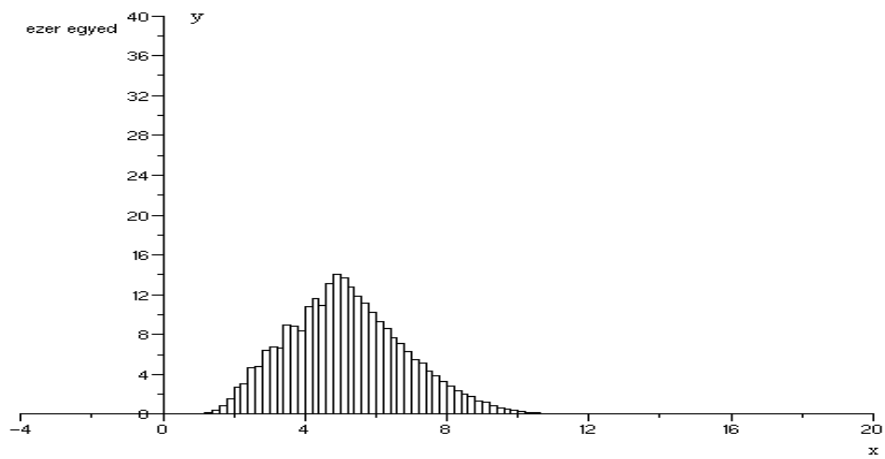


26. ábra folytatása. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során. Embriódarabolásos eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett

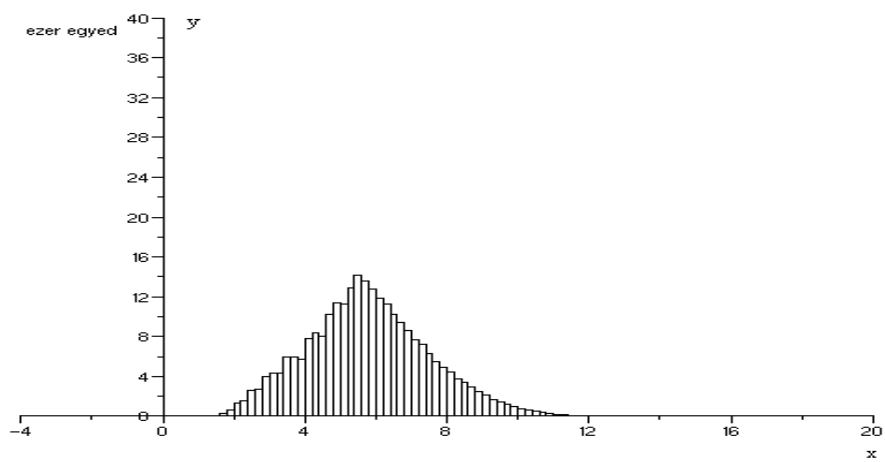
9. szaporodási időszak



10. szaporodási időszak

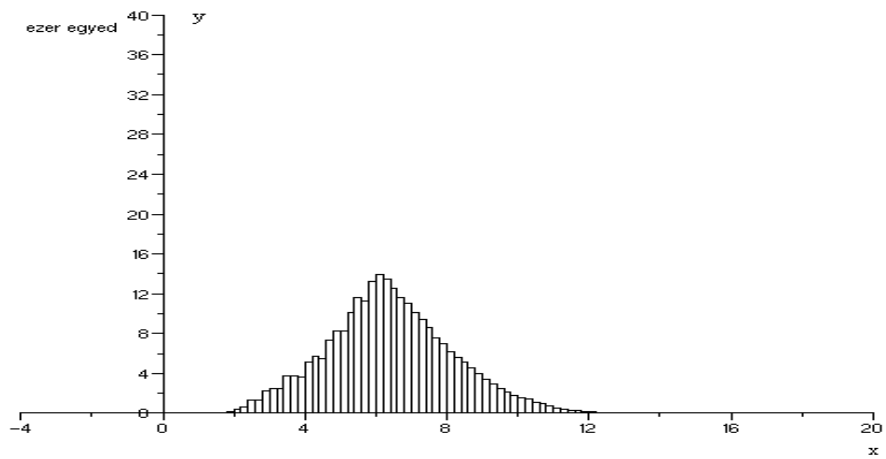


11. szaporodási időszak

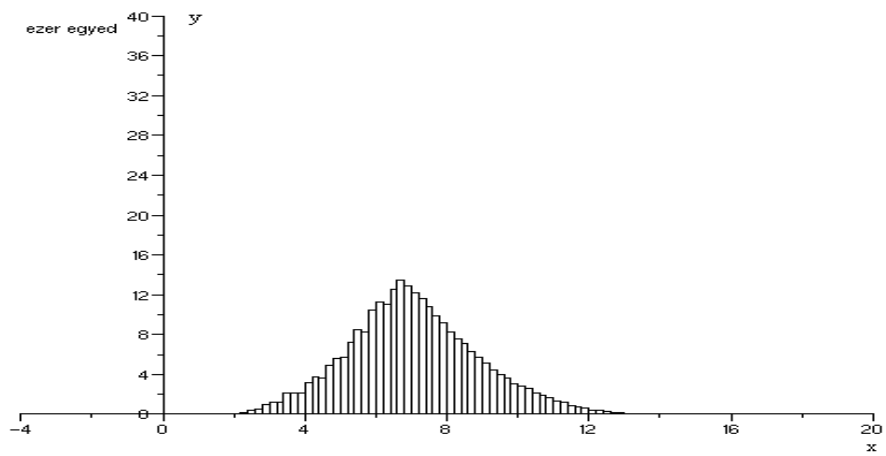


26. ábra folytatása. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során. Embriódarabolásos eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett

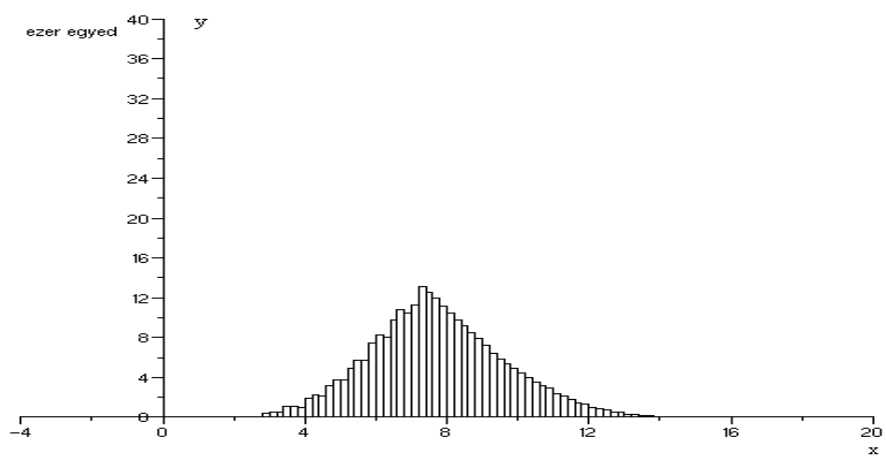
12. szaporodási időszak



13. szaporodási időszak

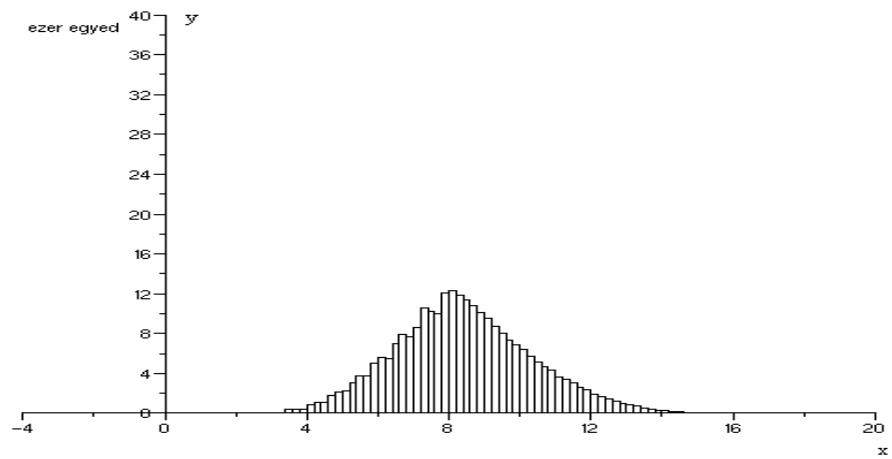


14. szaporodási időszak

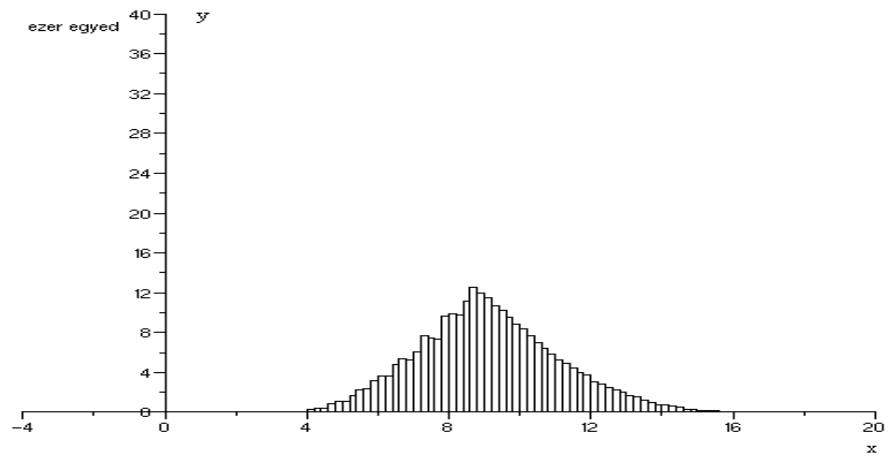


26. ábra folytatása. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során. Embriódarabolós eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett

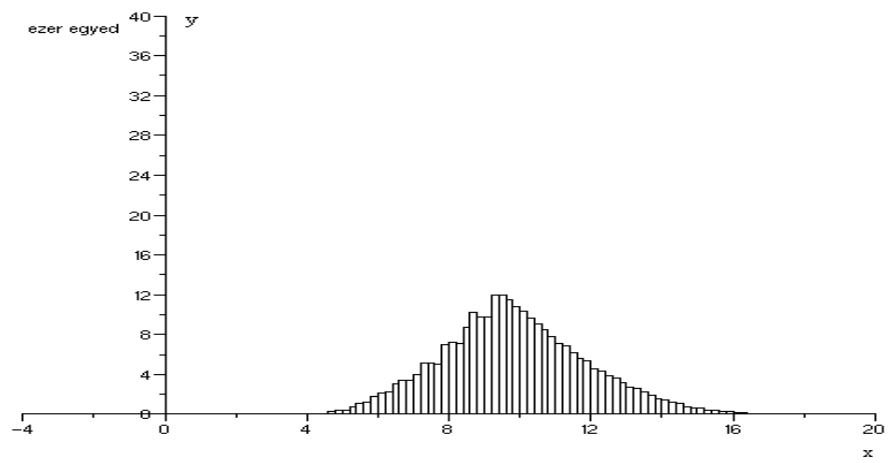
15. szaporodási időszak



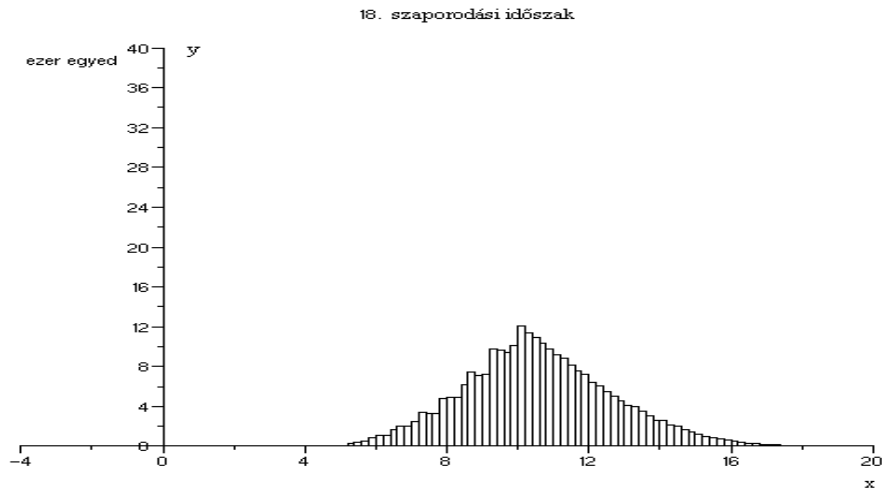
16. szaporodási időszak



17. szaporodási időszak



26. ábra folytatása. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során. Embriódarabolásos eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett



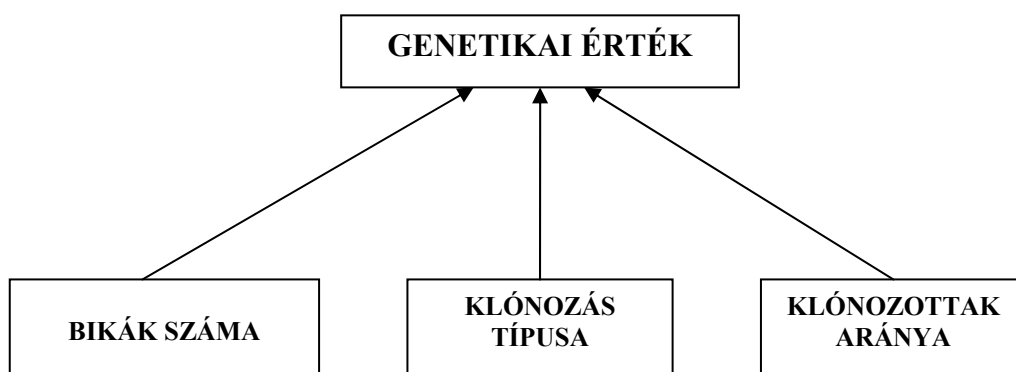
26. ábra folytatása. Genetikai értékek eloszlása a 18 szaporodási időszak során. Embriódarabolásos eljárás, anyánként 18 klónutóddal, 500 tenyészbika mellett

A vizsgált időszak végén a tejlő állomány genetikai értékének eloszlása minden kísérleti elrendezésben normális volt ($P < 0,001$, Kolmogorov–Szmirnov próba). Teljesült a varianciaanalízis alkalmazhatóságának másik feltétele is, a genetikai értékek szórása között nem volt szignifikáns különbség ($P = 0,318$, Levene próba).

Az SPSS statisztikai szoftver felhasználásával varianciaanalízist végeztem, és ennek eredménye lett, hogy a különböző klónozási technológiák és a klónozottak aránya valamint a bikák száma szignifikáns különbséget okoznak a genetikai értékek várható értékében ($P = 0,00$). A megmagyarázott hányad torzítatlan értéke (SZÉKELYI és BARNA, 2002) igen magas volt, az említett faktorok $R^2 = 98,1\%$ -ban magyarázták az eltéréseket (27. ábra). A faktorok közül legnagyobb hatással a klónozottak aránya volt, majd a bikák száma következett, végül pedig a klónozás típusa. Az intraclass korrelációs értékek a következők voltak: $r_{\text{klónozottak aránya}} = 0,97$; $r_{\text{bikaszám}} = 0,69$ és $r_{\text{klónozási típus}} = 0,58$.

A Post Hoc tesztek közül a Tukey módszert használtam. Nem volt szignifikáns különbség az embriódarabolásos klónozás és a sejtmag-átültetési klónozás között ($P = 0,325$). Szignifikáns eltérés volt az alábbi klónozási eljárások mellett:

- kontroll – testi sejtes klónozás,
- kontroll – sejtmag-átültetési klónozás,
- kontroll – embriódarabolásos klónozás,
- testi sejtes klónozás – sejtmag-átültetési klónozás,
- testi sejtes klónozás – embriódarabolásos klónozás.



27. ábra. A genetikai értéket befolyásoló fő tényezők a modellben

A klónozottak arányát tekintve minden eset szignifikánsan különbözött a többitől, és minél nagyobb volt a klónozottak aránya, annál magasabb volt a genetikai érték a 20. évben. A bikák számát véve az összehasonlítás alapjául a bikák számának csökkenése egyértelműen a genetikai értékek növekedését vonta maga után.

A klónozás típusát és arányát egyszerre figyelembe vevő Post Hoc teszt eredménye szerint a genetikai értékek tekintetében 6 elkülöníthető csoport alakult ki a bikák számától függetlenül. Az A a C, és a D4 változatok önállóan alkotnak egy-egy csoportot. A B1 és a D1, a B2 és a D2 valamint a B3 és a D3 szintén önálló csoportokat alkotnak ($P=0,754$ – $P=1,000$) (26. táblázat). A betűjelzés mellett az 1-es, 2-es és a 3-as szám azonos arányú klónozásra utal.

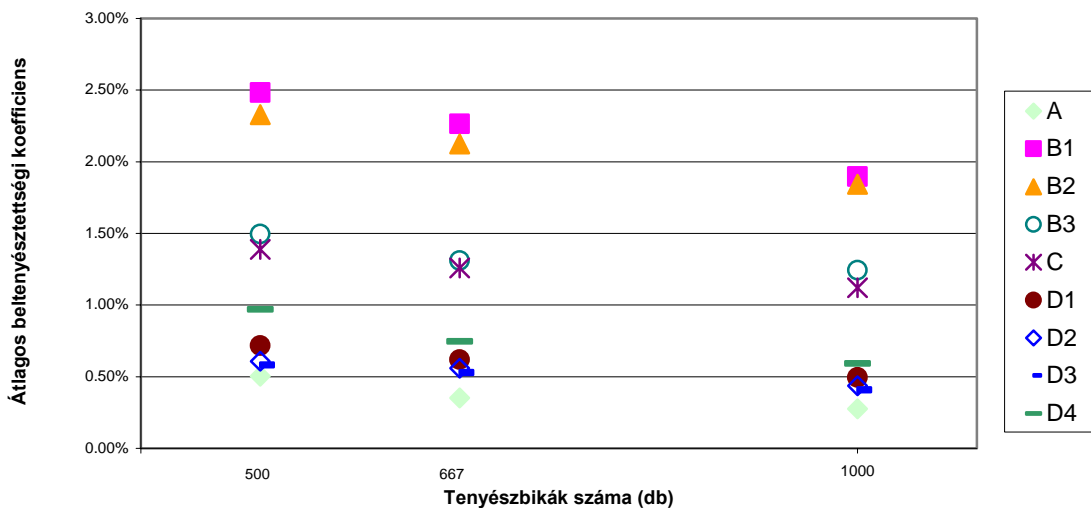
A klónozás alkalmazásával a 18. szaporodási időszakban ha a populáció 0,5%-a, 2,5%-a ill. 5%-a volt klónozott, a genetikai értékek 7,9%–9,1%-kal, 22,2%–25,3%-kal, ill. 26,6%–37,9%-kal magasabb voltak a kontrollpopulációkhoz képest az eltérő bikaszámoktól és a háromféle vizsgált klónozási eljárástól függően.

A beltenyésztettségi koefficiensek átlagos értéke a 18. szaporodási időszak után a 28. ábrán látható.

Klónozás típusa és mértéke	Csoportok					
	1	2	3	4	5	6
A	6,91-7,44					
B3		7,52-8,03				
D3		7,54-8,03				
D2			8,64-9,09			
B2			8,66-9,17			
C				8,97-9,42		
D1					9,53-9,97	
B1					9,58-9,97	
D4						9,96-10,31

Az alkalmazott rövidítések: A – kontroll populáció, nincs klónozás. B1, B2, B3 – sejtmag-átültetési klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. C – testi sejt klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. D1, D2, D3 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. D4 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. A D4 és a D1 eset abban különbözik, hogy a D4-nél az anyák száma fele a D1-hez képest.

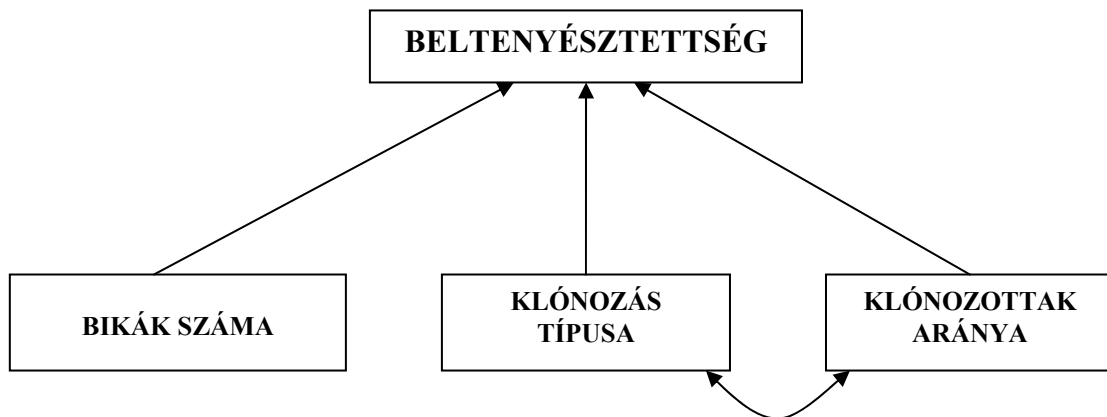
26. táblázat. A genetikai értékek várható értékei csoportosítva 1000 bika és 500 bika mellett



Az alkalmazott rövidítések: A – kontroll populáció, nincs klónozás. B1, B2, B3 – sejtmag-átültetési klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. C – testi sejt klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. D1, D2, D3 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. D4 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. A D4 és a D1 eset abban különbözik, hogy a D4-nél az anyák száma fele a D1-hez képest.

28. ábra. A beltenyészettségi koefficiensek átlaga a tejelő állományra vonatkozóan a 18. szaporodási időszakban

A beltenyésztettséget szignifikánsan befolyásoló tényező lett mindhárom vizsgált faktor ($P < 0,001$), valamint interakció is mutatkozott a klónozás típusa és a klónozás mértéke között (29. ábra). A legmeghatározóbb ezek közül a klónozási eljárás, majd a klónozottak száma és csak a harmadik befolyásoló tényező lett a termékenyítő bikák száma ($r_{\text{klónozási típus}} = 0,74$; $r_{\text{klónozottak aránya}} = 0,24$; valamint $r_{\text{bikák száma}} = 0,10$).



29. ábra. A beltenyésztettséget befolyásoló fő tényezők a modellben

A klónozási eljárások mind lényeges eltéréseket okoztak a beltenyésztettségben, a legnagyobb beltenyésztettségi koefficiensek a B-vel jelölt összejes alapú nukleáris transzfer eljárás mellett voltak, ezt követte csökkenő hatással a testi sejtes klónozás, majd az embriódarabolási eljárás és végül a kontroll csoport klónozás nélkül. A klónok száma is meghatározó faktor volt a beltenyésztettségi koefficiensek alakulásában, minél nagyobb volt a klónozás mértéke, annál nagyobb volt a beltenyésztettség is. A tenyészbikák számával fordítottan volt arányos a beltenyésztettség, minél kevesebb volt a bikák száma, annál nagyobb mértékű volt a rokonpárosítás.

Az interakció hatását is figyelembe véve a beltenyésztettségi koefficiensek értékét vizsgálva a 18 szaporodási időszak után a varianciaanalízis alapján megállapítható, hogy nem volt szignifikáns különbség a kontrollcsoport és a D2, D3 jelekkel ellátott embriódarabolásos esetek között. A 27. táblázatban a beltenyésztettségi koefficiensek nagyság szerint csoportosítva vannak feltüntetve. Az egy cellában lévő kisebb érték 1000 bika mellett, a nagyobb érték pedig 500 bika mellett értendő. 667 bika esetén a beltenyésztettségi koefficiens az előző kettő között volt.

Klónozás típusa és mértéke	Csoportok				
	1	2	3	4	5
A	0,28%-0,50%				
D3	0,41%-0,58%	0,41%-0,58%			
D2	0,44%-0,61%	0,44%-0,61%			
D1		0,49%-0,72%	0,49%-0,72%		
D4			0,59%-0,97%		
C				1,12%-1,39%	
B3				1,24%-1,49%	
B2					1,84%-2,33%
B1					1,90%-2,48%

Az alkalmazott rövidítések: A – kontroll populáció, nincs klónozás. B1, B2, B3 – sejtmag-átültetéses klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. C – testi sejt klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. D1, D2, D3 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. D4 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. A D4 és a D1 eset abban különbözik, hogy a D4-nél az anyák száma fele a D1-hez képest.

27. táblázat. A beltenyésztettségi koefficiensek várható értékei csoportosítva

1000 bika és 500 bika mellett

A D1-gyel jelöl embriódarabolásos eljárás 5%-os időszakonkénti klónozási arány mellett hasonló beltenyésztettséget okozott, mint ugyanezen eljárás kevesebb számú klón alkalmazásával (D2, D3), vagy mint a D4-gyel jelölt beállítás, ahol az anyák száma volt eltérő, fele annyi anyától származott a D1-gyel megegyező számú klón. A legmagasabb beltenyésztettség a B1 és B2 eseteknél mutatkozott és ezek között sem volt szignifikáns eltérés. Az előző két csoport között helyezkedett el a C és a B3 kísérleti változat és ezek között sem volt szignifikáns eltérés.

A klónozás hatásának és a tenyészbikák számának nem volt együttes hatása ($P=0,405$), a két tényező együtt, de egymástól függetlenül 80,8%-ban határozták meg a beltenyésztettséget.

A beltenyésztettségi koefficiensek a populáció 0,5%-os, 2,5%-os illetve 5%-os klónozása mellett embriódarabolásos eljárásnál 15,2%-48,1%-kal, 20,62%-58,2%-kal illetve 42,6%-79,4%-kal mutattak többet a kontrollpopulációhoz viszonyítva a különböző bikaszámtól függően. A sejtmag-átültetés eljárásnál összehasonlítva a növekedés arányát 0,5%-os, 2,5%-os illetve 5%-os klónozása mellett, már 3-4,5-szeres,

4,6-6,7-szeres illetve 4,9-6,9-szeres növekedés figyelhető meg az eltérő bikaszámoktól függően. Ezek a számok a beltenyésztettség jelentős növekedését mutatják a sejtmag-átültetési klónozási eljárás esetén. Azonban ilyen növekedés mellett sem emelkedett a populáció beltenyésztettségi koefficiense (nulláról) 2,248%-nál magasabbra 18 szaporodási időszak alatt.

A beltenyésztettségi koefficiensek értékei erősen a klónozott egyedek számától függtek, illetve amikor hármast hoztam létre az embriódarabolásos eljárás segítségével, és egy-egy hármast között a mendeli varianciának köszönhetően kis különbségek voltak, akkor nem is emelkedtek meg jelentősen. Ha a klónozás során egy párosításból több embrió egyenként kevesebb klónját képezzük, akkor az ugyanakkora várható teljesítménynövekedés mellett töredék lett a klónozás következtében fellépő beltenyésztettség megjelenése. A kísérletben a sejtmag-átültetési és az embriódarabolásos eljárás eseteit 5%-os klónozási arány mellett összehasonlítva a várható genetikai érték a 18. szaporodási időszakban egyaránt 9,53-9,97 volt. Azonban a beltenyésztettségi koefficiensekre már jelentős különbség adódott: $F_{BI}=1,90\%-2,48\%$, illetve $F_{DI}=0,49\%-0,72\%$. Ennek oka az volt, hogy a sejtmag-átültetési eljárásnál egy párosításból kilenc genetikailag azonos klónutód jött létre, míg az embriódarabolásos technológia esetén pedig egy párosítás három embriójából három-három azonos genetikai állományú klónutód keletkezett. Egy-egy hármast iker között csak 50%-os volt a rokonság foka, és ez a beltenyésztettségénél is megmutatkozott.

A beltenyésztettség növekedése és főleg ennek következménye a beltenyésztettségi leromlás mindig is foglalkoztatta az állattenyésztőket. A tejelő tenyészetekben is jelentkező globalizáció, valamint, hogy egyre kevesebb bika és család állítja elő a következő generáció apaállatait, drámaian növelte a beltenyésztettséget. Különösen jelentős mértékben a holstein és a jersey fajtáknál. Az átlagos beltenyésztettségi koefficiens 1982-ben 1,0% volt az Egyesült Államok holstein populációjában, ami 2002-re már elérte a 4,9%-os szintet. A jersey fajtánál 1,5%-ról 6,6%-ra nőtt ugyanezen időszak alatt (ROGERS, 2004). Magyarországon a tejelő állomány jelentős része Holstein fajtájú. Magyarországon az országos populációra vonatkoztatva még nem készültek beltenyésztettségi számítások (BOGNÁR L. személyes közlés, 2005. május 10.).

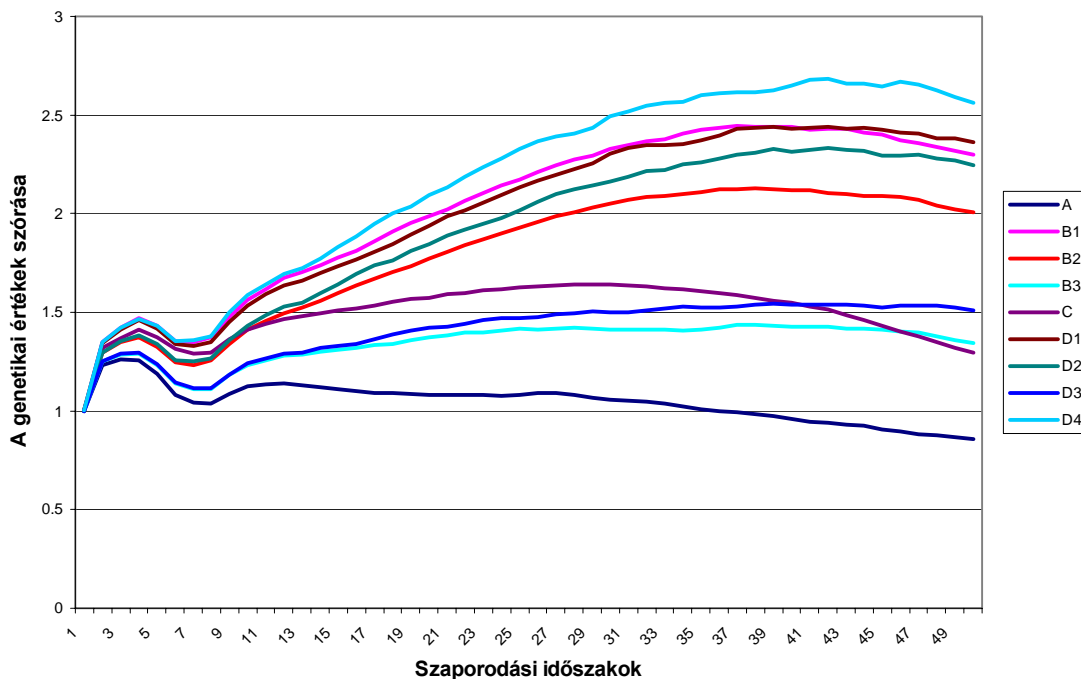
Különösen fontos ennek a kérdésnek a tárgyalása, ha állomány szinten szeretnénk klónozással a genetikai értékeket növelni, melynek egyik következménye – a kívánt teljesítménynövekedésen túl a beltenyésztettség növekedése. Szarvasmarha állományánál

nem ajánlott az átlagos beltenyésztettségi koefficiens értékét 6%–8%-os szintnél magasabbra engedni ROGERS (2004) véleménye szerint. Ennek alapján a számításokból látható maximális 2,48%-os beltenyésztettségi koefficiens növekedés nem tűnik olyan nagyoknak, hogy emiatt a klónozás előnyeiről le kelljen mondani.

A beltenyésztettség növekedésén túl a klónozási technikák elterjedése magával vonhatja a tenyésztési rendszerek megváltozását. A jelenlegi szokásos eljárással szemben – miszerint a nukleusból származó spermával termékenyítik a kereskedelmi célú állományok teheneit – a nukleusból származó embriókat lehetne beültetni az arra alkalmas egyedekbe (Van ARENDONK és BIJMA, 2003).

Ezekben a kísérletekben nem törekedtem a rokontenyésztés szándékos kerülésére, így ha azokra a tenyésztők tudatosan figyelnek, akkor a beltenyésztettség tovább csökkenthető. Ha az embriókori genetikai vizsgálatok segítségével a genetikai terheltségek idejében felismerhetők és szűrhetők lesznek, a beltenyésztettségi leromlás jelensége jórészt elkerülhető lesz, így a klónozás pozitív hatásai felülmúlhatják azok negatív hatásait.

A szaporodási időszakok számát 50-re emelve a genetikai értékek szórása – és ennek megfelelően a varianciája is – két hullámmal ábrázolható görbét adott (30. ábra). A vízszintes tengelyen a szaporodási időszakok, a függőlegesen a tejelő állomány genetikai értékeinek szórása látható. Az első hullám oka, hogy ott még az alappopulációban generált bikák termékenyítettek. Ezek a 8. szaporodási időszakra már előregedtek, leselejtezésre kerültek, és már a kísérletben „született” bikák vették át a helyüket. A 30. ábrán jól látható a genetikai értékek szórásának csökkenése a 30-40-dik szaporodási időszakot követően. A szórás csökkenését a növekvő beltenyésztettségnek tulajdonítom. A szórás és ezzel a variancia csökkenése első pillanatban talán késeinek tűnhet. Azonban a kísérletben, az alappopulációban nincsenek rokon egyedek, a beltenyésztés csak generációkkal később kezdődhetett.



Az alkalmazott rövidítések: A – kontroll populáció, nincs klónozás. B1, B2, B3 – sejtmag-átültetési klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. C – testi sejt klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. D1, D2, D3 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a, 2,5%-a, 0,5%-a klón. D4 – embriódarabolásos klónozás, a tejelő állomány 5%-a klón. A D4 és a D1 eset abban különbözik, hogy a D4-nél az anyák száma fele a D1-hez képest.

30. ábra. A genetikai értékek szórásának változása 50 szaporodási időszakon keresztül.

A tenyészbikák száma 667

A másik ok, ami miatt a szórás értékek magasabbak a várt értékektől az az, hogy végtelen modellel számoltam. A genetikai értékek az alappopulációban standard normális eloszlásból származtak. A szarvasmarhánál a tejtermeléssel kapcsolatos gének számát illetően pontos értéket nem tudunk mondani, de bármilyen nagy szám is legyen az, mindenképpen egy véges érték lesz. A szelekció folytán a kedvező allélok fixálódnak, ezáltal csökken a genetikai variancia.

Az embriódarabolásos eljárást beltenyésztettségi szempontból találtam jobbnak a másik két eljárással szemben, mert az a látszólag kicsi különbség, hogy 9 genetikailag teljesen egyforma egyed vagy három hármas iker keletkezik a klónozás során, jelentős különbségeket eredményezett. Ennek oka, hogy a beltenyésztettségi koefficiens rokonsági fok alapján számítottam, és az embriódarabolási eljárásnál az egy donortól származó klónok között a rokonság foka nem mind 100%, hanem esetenként csak 50%, ezáltal a beltenyésztettségi koefficiens kisebb volt. A genetikai változatosságot nyilvánvalóan ez az eljárás is csökkenti, hiszen a genetikai értékek ugyanúgy

növekedtek, ez pedig a kedvező allélok fixálódásával jár együtt. Az előny csakis a rokonság kisebb fokában mutatkozott meg.

5.4. Következtetések és javaslatok

Következtetések

1.a. A genetikai értékek növekedése szempontjából elsősorban a klónozott utódok aránya, majd a tenyész bikák száma volt meghatározó. A szimulációs kísérletbe vont háromféle klónozási eljárás a sejttenyészetből származó sejtmag átültetése, a testi sejtes klónozás és az embriódarabolásos eljárások közül a testi sejtes klónozás elmaradt a másik kettő mögött a genetikai értékek növekedését tekintve. Ennek okát abban látom, hogy a genetikai állományt meghatározó ivaros szaporodás a testi sejtet adó donor esetében szaporodási időszakokkal (évekkel) előbb történt, mint a másik két klónozási eljárásnál, hiszen ott a megtermékenyítés a klónozással egy szaporodási időszakban történt. A két időpont között az állomány genetikai értelemben fejlődött, a testi sejtes klónozással nyert klónegyedek várható genetikai értékei így elmaradtnak a másik két eljárással keletkezett állatokéhoz képest. A testi sejtes klónozott populáció késéssel érte el ugyanazt a teljesítményszintet, mint az embriódarabolásos vagy a sejtmag-átültetési populáció.

1.b. Jelentősen növelte a populáció átlagos genetikai értékét, ha ugyanazt a klónozási arányt kevesebb anya/donor alkalmazásával értem el, mert így átlagosan jobb teljesítményű anyák/donorok klónjai kerültek a populációba.

2. A beltenyésztettséget elsősorban a klónozás típusa befolyásolta. Legkisebb beltenyésztettség az embriódarabolásnál tapasztaltam. Ekkor ugyanis egy embrióból technikai okok miatt csak három genetikailag azonos egyed hozható létre, és ha egy párosításból kilenc klónutódra van szükségünk, akkor ez három hármassal oldható meg. A hármassal közöt csak 50%-os a rokonság foka, és ez jelentősen csökkenti a beltenyésztettséget. A következő a testi sejtes klónozás, itt a genetikai értékeknél említett késleltetés az oka a viszonylag nem túl magas beltenyésztettségnek. A klónok genetikai állománya a donoréval egyezik meg, az igazi szülők két nemzedékkel fogantak hamarabb a klónutódhoz képest. Ez a távolság is csökkenti a rokonpárosodás valószínűségét. A legmagasabb beltenyésztettség a sejttenyészetből származó sejtmag átültetési technológia mellett volt. A beltenyésztettségi koefficiensekre a klónozott egyedek száma is hatással volt, minél nagyobb volt a klónozott egyedek aránya a tejelő

állományhoz képest, annál nagyobb volt a számított F érték. A tenyészbikák száma csak harmadsorban befolyásolta a beltenyésztettséget.

Javaslatok

1. A klónozási kísérlet megmutatta, hogy a genetikai értékek növekedése és a beltenyésztettség szempontjából összesítve a legkedvezőbb eljárás az, ha az embriódarabolásos technológiát alkalmazzuk. A generációnkénti klónok száma lehet akár viszonylag magas is, a beltenyésztettség mértéke – köszönhetően annak, hogy az egy párosításból származó klónok között sok esetben genetikai értelemben testvéri a kapcsolat – mégis mérsékelt marad. Ezt az eredményt figyelembe véve igazán nem is az embriódarabolási módszer alkalmazásán van a hangsúly, hanem, hogy egy kiválasztott nőivarú és hímivarú egyed petesejtjeinek és hímivarsejtjeinek felhasználásával célszerű több embriót létrehozni, és egy-egy embrióból csak kevés számú klónt megtartani tetszőleges technológiai megoldás mellett.

2. A kísérlet tapasztalata szerint érdemes átgondolni a testi sejtes klónozás állattenyésztésben való alkalmazhatóságát. Kétségtelen előnye az eljárásnak, hogy ismert teljesítményű tenyészállatokat lehetne tetszés szerinti számban előállítani, de a genetikai értékek elmaradása a másik két eljáráshoz képest kétségeket ébreszthetnek a klónozás magas költségeinek megtérülése felől.

3. A szimulációs kísérlet alapján elmondható, hogy a klónozott állományok kismértékű alkalmazása belátható időn belül nem vezet a beltenyésztettség nagymértékű növekedéséhez. Ezekben a kísérletekben nem törekedtem a rokontenyésztés szándékos kerülésére, így ha azokra a tenyésztők tudatosan figyelnek, akkor a beltenyésztettség csökkenthető. Ha az embriókori genetikai vizsgálatok segítségével a genetikai terheltségek idejében felismerhetők és szűrhetők lesznek, a beltenyésztettségi leromlás jelensége jórészt elkerülhető lesz, így a klónozás pozitív hatásai a negatívok felé kerekedhetnek.

6. Új és újszerű tudományos eredmények

6.1. Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata

Az átlagos allélértékek növekedésére igazolt hatással van:

- az allélkölcsonhatás típusa *additív – részleges dominancia – teljes dominancia* sorrendben (63,68%-ban),
- a génhelyek száma *több (5) – kevesebb (10)* sorrendben (20,03%-ban),
- a párosítás típusa *célpárosítás – véletlen párosítás* sorrendben (11,31%-ban),
- a populációméret *nagyobb (2000) – kisebb (1000)* sorrendben (0,01%-ban).

A teljes variancia maradék százaléakai a vizsgált hatások interakcióból származnak, összesen 4,97%-ban.

Az átlagos beltenyésztettség növekedésére igazolt hatással van:

- a párosítás típusa *célpárosítás – véletlen párosítás* sorrendben (32,67 %-ban),
- az allélkölcsonhatás típusa *additív – részleges dominancia – teljes dominancia* sorrendben (22,65 %-ban),
- a populációméret *nagyobb (1000) – kisebb (2000)* sorrendben (20,85 %-ban),
- a génhelyek száma *kevesebb (5) – több (10)* sorrendben (5,48 %-ban).

A teljes variancia maradék százaléakai a vizsgált hatások interakcióból származnak, összesen 18,35 %-ban.

A genetikai variancia megszűnésének időpontját igazoltan befolyásolja:

- a párosítás típusa (célpárosítás, ill. véletlen párosítás). (Annak a valószínűsége, hogy a genetikai variancia nullává váljon 3,52-szor nagyobb célpárosítás esetén, mint véletlenszerű párosításnál.)
- A génhelyek száma (5, ill. 10). (Annak a valószínűsége, hogy a genetikai variancia nullává váljon 5,58-szor nagyobb 5 lókusznál, mint 10 lókusznál.)

Nem volt hatása

- a populációméretnek (1000, ill. 2000),
- az allélkölcsonhatás típusának (additív, ill. részleges dominancia).

6.2. Génmegőrzés

Vizsgálataimmal megállapítottam a következőket:

- a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának génmegőrzés céljából fenntartott bronzpulyka populációja a vizsgálat időpontjában a vizsgált lókuszokon Hardy-Weinberg egyensúlyban volt.
- A jelenleg alkalmazott rotációs párosítási eljárás jól biztosítja a genetikai változatosság szinten való tartását, a szimulációs kísérlet során a genetikai változatosságot mérő Shannon indexek átlaga nem volt kisebb a kiindulási populációhoz viszonyítva.
- Rotációs véletlenszerű párosítás esetén a bakoknak nagyobb esélyük van génjeik átadására, mint a tojóknak. A ritka allélok megőrzésénél nemcsak az allélgyakoriságot kell figyelembe venni, hanem a hordozó egyed nemét is.
- Adott méretű populáció esetén a véletlenszerű párosítás helyett jobban biztosítja a genetikai változatosság fenntartását, ha alpopulációkra osztjuk őket, és az alpopulációk közötti migrációt rendszeresen biztosítjuk. Az alpopulációk kialakításánál lehetőség szerint minél nagyobb effektív populációméretet kell biztosítani.

6.3. A klónozás tömeges alkalmazásának hatásai a tejelő szarvasmarha populációban

A genetikai értékek az alábbi sorrendben növekedtek klónozás típusát tekintve:

- kontroll csoport,
- testi sejtes klónozás,
- embriódarabolásos klónozás és sejtmag-átültetéses klónozás.
(Embriódarabolásos klónozásnál és sejtmag-átültetéses klónozásnál azonosak voltak a genetikai értékek.)

A tenyészbikák számának csökkentésével nőttek a genetikai értékek. A klónozott egyedek arányának növekedésével a genetikai értékek is növekedtek.

A beltenyésztettségi koefficiensek az alábbi sorrendben növekedtek klónozás típusát tekintve:

- kontroll csoport,
- embriódarabolásos klónozás,

- testi sejtes klónozás,
- és sejtmag-átültetési klónozás.

A tenyészbikák számának csökkenése a beltenyésztettségi koefficiensek növekedésével járt. A klónozott egyedek arányának növekedésével a beltenyésztettség is növekedett.

Vizsgálataimmal megállapítottam, hogy a klónozás tömeges alkalmazása esetén nem célszerű a testi sejtes klónozás alkalmazása, helyette inkább csúcsteljesítményű állatok embrióiból nyert klónok alkalmazhatók, akár embrióosztásos technológiával, akár sejtmag-átültetési módszerrel. Ebben az esetben pedig a beltenyésztettség növekedése jelentősen csökkenthető, ha egy embrióból származó nagy számú klón helyett egy párosításból származó több embrió kevesebb számú klónját alkalmazzák.

A klónozás 5%-nál nem nagyobb arányú rendszeres alkalmazása 20 év alatt a populáció átlagos beltenyésztettségi koefficiens növekedése nem volt több 0,0248-nél.

7. Összefoglalás

A dolgozat három témakört ölelt fel. A három rész mindegyikében a vizsgálat célja a genetikai változatosságot és a beltenyésztettséget befolyásoló tényezők meghatározása volt. Elemeztem annak lehetőségeit, hogy az állattenyésztés eme területein a különböző céloknak megfelelően hogyan lehet ezeket a tényezőket befolyásolni. A vizsgálatokat számítógépes szimulációval végeztem.

A vizsgált három témakör közül az első a „Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata” című volt. Ebben a részben négy genetikai tényező – populációméret (1000 egyed, 2000 egyed), lókuszok száma (5 illetve 10), allélkölcsonhatás (additív génhatás, részleges dominancia és teljes dominancia), párosítás módja (célpárosítás és véletlenszerű párosítás) – változtatásával vizsgáltam egy szelektált populáció genetikai előrehaladását és beltenyésztettségét. Ezen befolyásoló tényezők változtatásával 24 kísérleti beállítás mellett 20 szaporodási időszakon keresztül 15-15 ismétléssel végeztem szimulációt.

A második részben egy génmegőrzés alatt álló pulykapopuláció aktuális állapotát mértem fel, és a jövőbeli valószínűsíthető genetikai változásokat kutattam. Ezen kívül elemeztem, hogyan javítható a jelenlegi párosítási szerkezet. Mindezen vizsgálatokat négy részbe soroltam. Az elsőben történt az állapotfelmérés. A második kísérletben a ritka allélok elvesztésének valószínűségeit tártam fel, amennyiben a hordozók száma egy, kettő vagy három, valamint különböző neműek. A harmadik kísérletben egy 360 egyedű számláló populációban eltérő nagyságú vonalakat alakítottam ki, hogy megmutassam, melyik a legkedvezőbb egy kis populáció számára, a genetikai változatosság megőrzésének érdekében. A negyedik kísérletben eltérő ivararányú vonalakat genetikai változatosságának megőrző képességét hasonlítottam össze.

A harmadik témakör „A klónozás tömeges alkalmazásának lehetséges hatásai egy tejelő szarvasmarha állományban” címet kapta. A populáció 200 000 tehénből, 500 vagy 667 vagy 1000 tenyészbikából állt, valamint a borjakból. A klónozásnak három technikai megoldását (sejtmag-átültetési klónozás, testi sejtes klónozás, embriódarbolásos klónozás) és kontrollként klónozás nélküli állományt modelleztem,

valamint az egyes kísérleti beállításokban eltérő arányban születtek genetikailag azonos egyedek. A genetikai értékek növekedését illetve a beltenyésztettség változását rögzítettem.

A fenti témákkal kapcsolatos vizsgálatokat számítógépes szimulációkkal – Monte Carlo módszerrel végeztem. Az alkalmazott genetikai modell az első két témakörnél véges allélos, míg a harmadik témakörnél végtelen allélos volt. A véges allélos modellnél az allélok mindegyike külön-külön értéket kapott, az öröklődés pedig a mendeli szabályok szerint zajlott. A fenotípust az allélok értékén kívül a környezeti hatás is befolyásolta, ami nulla várható értékű adott szórású valószínűségi változó volt. A végtelen allélos modellnél a genetikai értékeket normális eloszlásból származó véletlenszámok alapján képeztem. Az utódok genetikai értékét a szülők genetikai értékének átlagából képeztem, melyhez még hozzáadódott a mendeli varianciát biztosító valószínűségi változó értéke.

A programok írására két matematikai szoftver saját fejlesztő nyelvét használtam: az egyik a MATLAB 4.2, a másik pedig a SCILAB 2.7.2 verziója volt. A programok egy részét a Nemzeti Információs Infrastruktúra Fejlesztési Program szuperszámítógépén futtattam a nagy számítógépes erőforrásigény miatt. A szimulációs eredmények elemzéséhez varianciaanalízist, és túlélés-analízist alkalmaztam az SPSS és a LEM statisztikai programok felhasználásával.

A „Néhány genetikai tényező hatásának vizsgálata” részben a szimulációs program eredményei alapján megállapítottam, hogy a genetikai értékek növekedését és ezzel együtt a változatosság csökkenését elsősorban a teljes dominancia léte vagy nem léte befolyásolta, másodsorban a lókuszok száma, harmadsorban a párosítás módja végül pedig a populációméret. A beltenyésztettség mértékét leginkább a párosítás módja, majd a teljes dominancia esetleges előfordulása, ezt követően a populációméret, végül pedig lókuszok száma határozta meg.

A génmegőrzési célból tartott pulykapopuláció vizsgálatánál az elsődleges megállapítás az volt, hogy a populáció jelenleg Hardy-Weinberg egyensúlyban van. Bebizonyosodott, hogy a rotációs-véletlenszerű párosítás jól biztosítja a genetikai változatosság szintentartását. Ez a rendszer eltérő esélyeket ad a tojóknak és a bakoknak géneik átörökítésére, és ez az allélvesztés bekövetkezésének valószínűségében is megmutatkozott.

A genetikai változatosság fenntartása érdekében 36 vonalba sorolt 10-10 egyed hatékonyabbnak bizonyult, mint 12 vonalba sorolt 36-36 egyed, vagy 4 vonalba sorolt 90-90 egyed. A kísérlet bebizonyította, hogy a kis családok kedvezőbbek a változatosság fenntartása érdekében. Azt a következtetést vontam le, hogy a véletlenszerű párosításnál az alpopulációk közötti migráció jobban biztosítja a gének keveredését. Az alpopulációk optimális méretének meghatározásához további vizsgálatok szükségesek.

A megfelelő ivararány meghatározásánál az 1:2 arány volt előnyösebb az 1:4 vagy 1:9 arányhoz képest. Szignifikáns különbség azonban ritka allélok esetén nem mutatkozott, vagyis önmagában az ivararány változtatása nem javított a genetikai változatosság fenntartásában. Azonban egy ritka allél (0,01 alatti allélgyakoriság) elvesztését vizsgálva már szignifikáns különbségek mutatkoztak, hiszen a bakoknak nagyobb esélyük van génjeik átörökítésére. Egyező populációméret mellett a nagyobb effektív populációméret volt tehát a kedvezőbb.

A klónozás tömeges alkalmazásának hatásait vizsgáló szimulációs kísérlet alapján megállapítottam, hogy a genetikai értékek növekedése szempontjából elsősorban a klónozott utódok aránya, majd a tenyészbikák száma volt meghatározó. A klónozási eljárásokat tekintve az embrióosztásos és a sejtmag-átültetési eljárás közel egyenlő hatással bírt a genetikai értékek növekedésére. A testi sejtes klónozás alkalmazásával a genetikai értékek elmaradtak a másik két módszerhez viszonyítva.

A beltenyésztettségi koefficiens értékét leginkább a klónozás módszere befolyásolta. A kontrollpopulációnál voltak a legalacsonyabbak a beltenyésztettség értékei. Ezután következtek növekvő beltenyésztettséget mutató az embrióosztásos eljárással, a testi sejtes klónozással, majd a sejtmag-átültetéssel klónozott populációk. A beltenyésztettségi koefficiens értékét másodsorban a klónozott utódok száma, harmadsorban pedig a tenyészbikák száma befolyásolta.

A klónozási kísérlet alapján megmutattam, hogyha a genetikai értékeket klónozás alkalmazásával úgy szeretnénk növelni, hogy egyidejűleg a beltenyésztettségi koefficiens ne emelkedjen, akkor kiváló teljesítményt nyújtó tenyészállatok párosításából származó több embrió egyenként kisebb számú klónját célszerű létrehozni, nagy számú klón helyett. A genetikai értékek várható értéke így ugyanolyan magas lesz, de a beltenyésztettség jelentősen csökkenthető az által, hogy bizonyos klónok között a rokonság foka csak 50%-os.

8. Irodalomjegyzék

1. ACZÉL J. – DARÓCZY Z. (1975): On Measures of Information and their Characterizations, Academic Press, New York.
2. ÁGOSTON K. – KOVÁCS E. (2000): Halandósági modellek, Budapest, http://www.bke.hu/opkut/aktuarius_jegyzetek.html (2005. 05. 17.)
3. ALDEA, M. – KUSHNER, S. R. (1988): Cloning: a microcomputer program for cloning simulations. *Gene*. 65. 111–116. p.
4. ANONYM, http://www.riskglossary.com/articles/monte_carlo_method.htm (2005. 04. 15.)
5. ANONYM, http://www.sulinet.hu/cgi-bin/db2www/ma/et_tart/1st?kat=Acam&id=119971321&url=/eletestudomany/archiv/1997/9713/tudvil/ujra/ujra.html, (2005. 02. 14.)
6. ANONYM, PROPHET StatGuide <http://www.basic.nwu.edu/statguidefiles/sghome.html> (2005. 05. 21.)
7. ANONYM, SPSS 12.0 FOR WINDOWS. HELP (2005. 04. 10.)
8. ANTAL A. – BOGDÁN E. – PASCKHE H. (1997): Biometriai és populációgenetikai számítások az állattenyésztésben. Mezőgazdasági Kiadó
9. BÁDER E. – KERTÉSZ T. – KERTÉSZNÉ GY. E. – KOVÁCS A. (2002): Eltérő tartástechnológiák hatása a tejelő állományok élettartamára. *Agro Napló*. 10. 36–40. p.
10. BALLOUX, F. – AMOS, W. – COULSON, T. (2004): Does heterozygosity estimate inbreeding in real populations? *Molecular Ecology*. 13. 10. 3021–3031. p.
11. BARANYAI B. – BODÓ SZ. – GÓCZA E. (2000): Dolly öröksége. *Természet Világa* 3. http://www.sulinet.hu/cgi-bin/db2www/lm/tv_tart/frame?kat=DPac (2004. 12. 08.)
12. BARÓTI Gy. – BOGNÁR J. – FEJES TÓTH G. – MOGYORÓDI J. (1993): Valószínűségszámítás. Nemzeti Tankönyvkiadó 255. p.
13. BELL, B. R. – MCDANIEL, B. T. – ROBISON, O. W. (1985): Effects of cytoplasmic inheritance on production traits of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 68. 2038–2051. p.

14. BODÓ I. – MIHÓK S. (2002): A régi magyar háziállatfajták védelme, fenntartásának szükségessége és hasznosításának lehetősége. A hagyományos magyar növény- és állatfajták jelene és jövője. Szabolcs-Szatmár-Beregi Szemle. Nyíregyháza. 38. 1. 45–72. p.
15. BODÓ I. (1990): The maintenance of Hungarian breeds of farm animals threatened by extinction. In: ALDERSON, L. (ed.), Genetic Conservation of Domestic Livestock. CAB International, Wallingford.
16. BODÓ Sz. – GERENCSÉR Á. (2000a): Embriódarabolás. Élet és Tudomány 43. 1364–1366. p.
17. BODÓ Sz. – GERENCSÉR Á. (2000b): Sejtmag-átültetés. Élet és Tudomány 45. 1428–1430. p.
18. BOGNÁR László ügyvezető igazgató, Holstein–fríz Tenyésztők Egyesülete, személyes közlés. (2005. május 10.).
19. BOLLA M. – KRÁMLI A. (2005): Statisztikai következtetések elmélete. Typotex Kiadó. Budapest.
20. BRIGGS, R. – KING, T. J. (1952): Transplantation of Living Nuclei from Blastula Cells into Enucleated Frogs' Eggs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 38, 455–463 p.
21. CAMPBELL, K. H., J. MCWHIR, W. A. RITCHIE, I. WILMUT (1996): Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature, 380. 64–66. p.
22. COLLOBERT–LAUGIER, C. – HOSTE, H. – SEVIN, C. – DORCHIES, P. (2002): Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. Veterinary Parasitology. 110. 77–83.
23. CROW, J. F. – KIMURA, M. (1970): An Introduction to Population Genetics Theory. Harper and Row Publishers, New York, Evanston, London.
24. CURIK, I. – SÖLKNER, J. – STIPIC, N. (2001): The influence of selection and epistasis on inbreeding depression estimates. Journal Animal Breeding Genetics. 118. 247–262. p.
25. CSÁKI, CS. (1976) A szimuláció alkalmazása a mezőgazdaságban. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 170. p.
26. DARÓCZY Z. (1969): Az információ Shannon-féle mértékéről. MTA III. Osztály Közleményei 18. 9-24. p.

27. DARÓCZY Z. (1972): On the Shannon Measure of Information. *Inst. Math. Statist. Amer. Math. Soc. Mathematical Statistics and Probability* Vol. 10. 193–210. p.
28. De BOER, I. J. M. – Van ARENDONK, J. A. M. (1992): Prediction of additive and dominance effects in selected and unselected population with inbreeding. *Theoretical Applied Genetics*. 84. 451-459. p.
29. De BOER, I. J. M. – Van ARENDONK, J. A. M. (1994): Additive response to selection adjusted for effects of inbreeding in a closed dairy cattle nucleus assuming a large number of gametes per female. *Animal Production*. 58. 173–180. p.
30. DIETL, G. – LANGHAMMER, M. (1997): Conservation of rare breeds of animals – objectives and possibilities. *Archiv für Tierzucht*, 135–141. p.
31. DINNYÉS A. – BODÓ Sz. – SOLTI L. (1997): Production of Cloned Hatched Blastocysts from in Vitro Produced Bovine Morulae in Hungary. *Proc. 8th European Congress on Biotechnology*, 17–21 Aug. Budapest. No. MO6208
32. DINNYÉS A. – De SOUSSA, P. – KING, T. – WILMUT, I. (2002): Somatic Cell Nuclear Transfer: Recent Progress and Challenges. *Cloning Stem Cells*. 1. 81–90. p.
33. DOHY J. (1999): *Genetika állattenyésztőknek*. Mezőgazda Kiadó. 285. p.
34. DOHY J. (2000): Biotechnológia és állatnemesítés – új eredmények, kihívások, kilátások. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 49. 3. 285–288. p.
35. DRAKOS, N. (1997): Introduction to SCILAB. <http://scilabsoft.inria.fr/> (2004. 12. 10.)
36. FALCONER, D. S. – MACKAY T. F. C. (1996): *Introduction to Quantitative Genetics*. Fourth edition. Longman. 58., 201. p.
37. FAUST, M. A. – ROBISON, O. W. – MCDANIEL, B. T: (1990): Animal model estimates of cytoplasmic line constants for yield in Holsteins. *Journal Breeding Genetics* 107. 401–410. p.
38. FÉSÜS L. (1997): Markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban. 1. közlemény. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 46. 4. 289–296. p.
39. FÉSÜS L. – KOMLÓSI I. – VARGA L. – ZSOLNAI A. (2000): *Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben*. Agroiinform Kiadó.
40. FOURNET, F. – HOSPITAL, F. – ELSEN, J. M. (1995): A FORTRAN Program to Simulate the Evolution of Genetic Variability in a Small Population. *CABIOS* Vol. 11. no 5. 469–475. p.

41. FRANKHAM, R. (1995): Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livestock Production. 21. 385–392. p.
42. FÜLÖP G. (1996): Az információ. 2. bővített és átdolgozott kiadás ELTE Könyvtártudományi – Informatikai Tanszék. Budapest
<http://www.mek.iif.hu/porta/szint/tarsad/konyvtar/informat/azinform/html/index.htm>
(2005. 01. 25.)
43. GERGÁTZ E. (1998): Az állatszaporítás biotechnikája és biotechnológiája. Biotechnológia: lépéstartás Európával. Szerk.: GLATZ F. Magyarország az ezredfordulón sorozat. Magyar Tudományos Akadémia 70. p.
44. GIBSON, J. P. – FREEMAN, A. E. – BOETTCHER, P. J. (1997): Cytoplasmic and mitochondrial inheritance of economic traits in cattle. Livestock Production Science. 47. 115–124. p.
45. GILL, J. J. B. – HARDLAND, M. (1992): Maximal maintenance of genetic variation in small populations. In: ALDERSON, L. – BODÓ I. (ed.), Genetic Conservation of Domestic Livestock. Volume 2. CAB International, Wallingford.
46. GÓCZA E. (1997): Emlősállatok klónozása. Természet Világa. 8. 353–356. p.
47. GÓCZA E. (1998): Emlősállatok futószalagon. Természet Világa. 4. 166–168. p.
48. GODDARD, M. E. (2001): The validity of genetic models underlying quantitative traits. Livestock Production Science. 72. 117–127. p.
49. GREEN, S. B. – SALKIND, N. J. – AKAY, T. M. (1997): Using SPSS for Windows: Analyzing and Understanding Data. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey.
50. GUPTA, V. (1999): SPSS For Beginners. www.spss.org (2005. 02. 09.)
51. GYÖRKÖS I. – BÁDER E. (2002): Nagyobb figyelmet a kondícióbírálatnak. Agro Napló. 1-2. 96–99. p.
52. HAJTMAN B. – BODA K. – REICZIGEL J. – VARGHA P. – LANG ZS. – SINGER J. (2003): Magyar Biostatisztikai Értelmező Szótár. <http://www.biostat.hu/biostat/indit1.asp?p=szotar1> (2005. 05. 21.)
53. HARTL, D. L. – CLARK, A. G. (1997) Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
54. HEINEN, H. C. – BAUMANN, W. A. – RAHMAN, M. (2003): Inferences in Log-Rate Models.

http://www.mnsu.edu/research/URC/OnlinePublications/URC2003OnlinePublication/Heien_Baumann.doc (2005. 05. 21.)

55. HILL W. G. – CABALLERO, A. (1992): Artificial selection experiments. *Annual Review Ecology Systematics*. 23. 287–310. p.
56. HODGES, J. (1990): Conservation of animal genetic resources in developing countries. In: ALDERSON, L. (ed.), *Genetic Conservation of Domestic Livestock*. CAB International, Wallingford.
57. HORVÁTH L. – SZLÁVI P. – ZSAKÓ L. (1995): Modellezés és szimuláció. *Mikrológia sorozat 1. kötet*. ELTE TTK Általános Számítástudományi Tanszék Kiadásában.
58. HÜHN, M. – PIEPHO, H. P. (2004): Inbreeding coefficients for stochastically varying small population sizes – bias of calculation based on effective numbers. *Journal of Theoretical Biology*. 226. 467–475. p.
59. JOHANSSON, K. – KENNEDY, B. W. – QUINTON, M. (1993.): Prediction of breeding values and dominance effects from mixed models with approximations of the dominance relationship matrix. *Livestock Production Science*. 34. 213–223. p.
60. JORJANI, H. – EGSTRÖM, G. – STRANDBERG, E. – LILJEDAHL, L. (1997a): Genetic Studies of Assortative Mating – a Simulation Study. I. Characteristics of the Control Population. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science*. 47. 65–73. p.
61. JORJANI, H. – EGSTRÖM, G. – STRANDBERG, E. – LILJEDAHL, L. (1997b): Genetic Studies of Assortative Mating – a Simulation Study. II. Assortative Mating in Unselected Population. *Acta Agriculturae Scandinavica., Section A, Animal Science*. 47. 74–81. p.
62. JORJANI, H. – EGSTRÖM, G. – STRANDBERG, E. – LILJEDAHL, L. (1997c): Genetic Studies of Assortative Mating – a Simulation Study. III. Assortative Mating in Selected Population. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science*. 47. 129–137. p.
63. KENNEDY, B. W. (1995): *Quantitative Genetics Theory in Animal Breeding*. Centre for Genetic Improvement of Livestock Animal and Poultry Science. Guelph, Ontario, Canada.
64. Kerekasztal beszélgetés a klónozásról a Magyar Tudományos Akadémia székházában. <http://www.sulinet.hu/cgi->

- bin/db2www/ma/et_tart/lst?kat=Acbs&id=119974504&url=/eletestudomany/archiv/1997/9745/klonozas/klonozas.html (20005. február 15.)
65. KNUTH, D. E. (1994): A számítógép programozás művészete. 2. Szemi-numerikus algoritmusok. Műszaki Könyvkiadó. Budapest.
 66. KOMLÓSI I. (2002): Párosítás szimulációja kis és nagy populációban. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 51. 6. 557–565. p.
 67. KOROM E. – NAGY T. – KOVÁCS B. – KOMLÓSI I. – MIHÓK S. – SZABÓ Gy. – VARGA L. (2003) Tyúk mikroszatellitek felhasználása pulyka populáció genetikai jellemzésére. V. Magyar Genetika Kongresszus, poszter.
 68. KOROM E. (2004): A pulyka genetikai vizsgálatára alkalmas tyúk mikroszatellitek. *A Baromfi (Baromfi és nyúltenyésztők lapja)* VII. 4. 42. – 47. p.
 69. KOVÁCS I. (2000): Statisztika. Szent István Egyetem Gazdálkodási és Mezőgazdasági Főiskolai Kar. Gyöngyös.
 70. KRIPPENDORFF, K.: Klaus Krippendorff 's Dictionary of Cybernetics http://pespmc1.vub.ac.be/asc/STATIS_ENTRO.html (2004. március 19.)
 71. LACY, R. C. (1987): Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. *Conservation Biology*. 1. 143–157. p.
 72. LANGS, R. – BADALAMENTI, A. – CRAMER, G (1992): The Formal Mode of the Science of Psychoanalysis: Studies of Two Patient/Therapist System. *American Journal of Psychotherapy*. Vol. XLVI. No. 2.
 73. LOVÁSZ L. (2003): Mit kívánnak a számítógépek a matematikától, és mit adnak neki? *Mindentudás Egyeteme*. <http://www.mindentudas.hu/lovasz/index.html> (2005.03.11.)
 74. LUKÁCS O. (1996): Matematikai statisztika. Műszaki Könyvkiadó. Budapest
 75. MALÉCOT, G. (1948): *Les mathématiques de l'hérédité*, Masson et Cie, Paris
 76. MATLAB Reference Guide (1992): The MATH WORKS INC. 401.
 77. MAUDET, C. – MILLER, C. – BASSANO, B. – BREITENMOSER-WÜRSTEN, C. – GAUTHIER, D. – OBEXER-RUFF, G. – MICHALLET, J. – TABARLET, P. – LUIKART, G. (2002): Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: applications in Alpine ibex (*Capra ibex*). *Molecular Ecology*. 11, 421-436. p.
 78. MCCLANAHAN, T. R. (1998): Predation and distribution and abundance of tropical sea urchin population. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 221. 231–255. p.

79. MCDONALD, D.: <http://www.uwyo.edu/dbmcd/molmark/lect05/lect5.html> (2004. 09 03.)
80. MCGRADY, J. (2005): When Time is of Interest: The Case for Survival Analysis. John Hopkins University.
<http://www.twocw.net/jhsph/courses/StatisticalReasoning1/PDFs/search='KaplanMeier>
(2005. 05. 18.)
81. METROPOLIS, N. – ULAM, S. (1949). The Monte Carlo method. *Journal of the American Statistical Association*. 44. 247. 335–341. p.
82. MIHÓK S. – BODÓ I. – BÍRÓ G. – SÜTH M. (1999): A bronzpulyka hústermelése a különleges fogyasztói igények kielégítése tükrében. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 1999. 6. 796–802. p.
83. NAGENDRA, H. (2002): Opposite trends in response for the Shannon and Simpson indices of landscape diversity. *Applied Geography*. 22. 175–186. p.
84. NICHOLSON, T. – SAMBRIDGE, M. –GUDMUNDSSON, O. (2000): On entropy and clustering in earthquake hypocentre distributions. *Geophys. J. Int.* 142. 37–51. p.
85. NORTIER, C. L. – ELS, J. F. – KOTZE, A. – Van der BANK, F. H. (2002): Genetic diversity of indigenous Sanga Cattle in Namibia using microsatellite markers. 7th World Congress in Genetic Applied to Livestock Production. Montpellier, France
86. ONKEN, F. – SWALVE, H. H. (1993): Effect of maternal lineage on dairy production in herdbook data from East-Friesland. 44.th Annual Meeting of Eur. Assoc. Animal Production. Denmark
87. PALA, A. (2004): Genetic Conservation of Livestock and Factor Analysis. *Applied Ecology and Environmental Research*. 2. 1. 135–141. p.
88. PALESS Gy. (1997): Az asszony meg a klón. *Élet és Tudomány*. 47. szám
89. PAPP M. – KOPPÁNY G. – SZALAY I. (1999): Az őshonos magyar tyúkfajták génmegőrzésére irányuló immunogenetikai vizsgálatok egy évtizedes tapasztalatai. *Állattenyésztés-és-Takarmányozás*. 48. 6. 791–793. p.
90. PARDUCCI, L. – SZMIDT, A. E. – VILLANI, F. – XIAORU, W. – CHERUBINI, M. – WANG, X. R. (1996): Genetic variation of *Abies alba* in Italy. *Hereditas-Landskrona*. 125: 1, 11–18. p.
91. PEMBERTON, J. (2004): Measuring inbreeding depression in the wild: the old ways are the best. *Trends in Ecology and Evolution*. vol. 19. no. 12. 613–615. p.

92. PÖTTER, U. – ROHVER, G. (1999): Introduction to Event History Analysis. <http://www.stat.ruhr-uni-bochum.de/scrip.html> (2005. 05. 12.)
93. PRIKRYL, I. – LINHART, O. – TIEWS, K. (1987): Simulating the allele frequencies for optimalization of genetic improvement by group line gynogenesis. Selection, hybridization, and genetic engineering in aquaculture. Volume 1. Proceedings of a worldsymposium, Bordeaux, June 27-30, 1986., 431–436. p.
94. PRINCZ L. személyes közlés. (2005), Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft Gödöllő.
95. PROVINE, W. B. (1986): Sewall Wright and evolutionary biology. University of Chicago Press, Chicago.
96. REED, K. M. – MENDOZA M, K. – BEATTIE, C. W. (2000): Comparative analysis of microsatellite loci in chicken and turkey. *Genome*, 43. 796–802. p.
97. RÉNYI A. (1976): *Napló az információelméletről*. Gondolat Kiadó. Budapest
98. RICOTTA, C. – CHIARUCCI, A. – AVENA, G. (2004): Quantifying the effect of nutrient addition on community diversity of serpentine vegetation using parametric entropy of type α . *Acta Oecologica*. 25. 61–65. p.
99. RIDLEY, M. Evolution. http://www.blackwellpublishing.com/ridley/a-z/Wahlund_effect.asp (2005. április 12.)
100. ROGERS, G. W. (2004): http://animalscience.ag.utk.edu/dairy/pdf/pubs/ShouldWeBeConcernedAboutInBreedingInDairyCattle_DairyMail_1_03.pdf (2004. 12. 11.)
101. ROUTLEDGE, R. D. (1979): Diversity indices: Which ones are admissible? *Journal of Theoretical Biology*. 76. 4. 503–515. p.
102. RUIZ-GARCIA, M. – KLEIN, K. K. (1997): Genetic structure of populations of the domestic cat in Catalonia (Spain) and upper midwestern USA: a microgeographic and macrogeographic study. *Journal of Genetics*. 76: 2, 99–115. p.
103. SCHNIEKE, A. E. – KIND, A. J. – RITCHIE, W. – A MYCOCK, K. – SCOTT, A. R. – RITCHIE, M. – WILMUT, I. – COLMAN, A. – CAMPBELL, K. H. (1997): Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science*. 278. 2130–2133. p.
104. SCHUTZ, M. M. – FREEMAN, A. E. – LINDBERG, G. L. – KOEHLER, C. M. – BEITZ, D. C. (1994): The effect of mitochondrial DNA on milk production and health of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 37. 3. 283–295. p.

105. SCRIBNER, K. T. – ARNTZEN, J. W. – CRUDACCE, N. – OLDHAM, R. S. – BURKE, T. (2001): Environmental correlates of toad abundance and population genetic diversity. *Biological Conservation*. 98. 201–210. p.
106. SHANNON, C. E. – WEAVER, H. (1963): *The mathematical theory of communication*. Univ. Illinois Press, Urbana
107. SHANNON, C. E. (1948): A mathematical theory of communication. *Bell System Technological Journal*. 27. 379–423, 623–656. p.
108. SHANNON, C. E. (1949): *The mathematical theory of communication*. Urbana. IL. University of Illinois Press.
109. SIMON, S. (2005): *STATS Steve's Attempt to Teach Statistics*.
<http://www.cmh.edu/stats/training/hand05.asp> (2005. 05. 18.)
110. SIMPSON, E. H. (1949): Measurement of diversity. *Nature*. 163. 688.
111. SLATE, J. – DAVID, P. – DODDS, K. G. – VEENVLIET, B. A. – GLASS, B. C. – BROAD, T. E. – MCEWAN, J. C. (2004): Understanding the relationship between the inbreeding coefficient and multilocus heterozygosity: theoretical expectations and empirical data. *Heredity*. 93. 3. 255–265. p.
112. SMITH, C. (1984): Rates of genetic change in farm livestock. *Research and Development in Agriculture*. 1. 79–85.
113. SOLTI L. – CRICHTON, E. G. – LOSKUTOFF, N. M. – CSEH S. (2000): Economical and Ecological Importance of Indigenous Livestock and the Application of Assisted Reproduction to their Preservation. *Theriogenology*. 53. 149–162. p.
114. SOLTI L. (2004): Klónozás és génmódosítás: szép új világ? *Magyar Tudomány*, 2. 198. p. <http://www.matud.iif.hu/mthon.html>
115. STANSFIELD, W. D. (1997): *Genetika. Elmélet és gyakorlat*. Panem – McGraw – Hill 244–245. p.
116. SVÁB J. (1971): *A populációgenetika alapjai*. Mezőgazdasági kiadó. Budapest.
117. SVÁB J. (1981): *Biometriai módszerek a kutatásban*. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest
118. SZÉKELYI M. – BARNA I. (2002): *Túlélőkészlet az SPSS-hez*. Typotex kiadó.
119. SZLÁVI P. – ZSAKÓ L. (1995): *Szimulációs modellek a populációbiológiában*. Mikrológia sorozat 9. kötet. ELTE TTK Általános Számítástudományi Tanszék Kiadásában.

120. SZOBOL, I. M. (1981): A Monte–Carlo módszerek alapjai. Műszaki Könyvkiadó, Budapest
121. TAKEDA, H. – OBATA, T. – FURUKAWA, T. – NIRASAWA, K. – TAKAHASHI, H. (1995): Use of marker information to maintain variability in small population. Animal Genetic Resources – International Workshop, Tsukuba, Japan.
122. VAJTA G. – BARTELS, B. – JOUBERT, J. – De la REY, M. – TREADWELL, R. – CALLESEN, H. (2004): Production of a healthy calf by somatic cell nuclear transfer without micromanipulators and carbon dioxide incubator using the Handmade Cloning (HMC) and Submarine Incubator System (SIS). Theriogenology. 62. 1465–1472. p.
123. VAJTA G. – MACHÁTY Z. (1994): Szarvasmarha embriók klónozása magátültetéssel. Állattenyésztés és Takarmányozás. 43. 6. 481–496. p.
124. Van ARENDONK, J. – BIJMA, P (2003): Factors affecting commercial application of embryo technologies in dairy cattle in Europe – a modelling approach. 59. 635–649. p.
125. Van ARENDONK, J. – Van der WERF, J. – GROEN, A. (1997): Breeding value estimation. Lecture notes. Wageningen Agricultural University. 23. p.
126. Van der WERF – De BOER (1990): Estimation of Additiv Genetic Variance When Base Populations are Selected. Journal of Animal Sciences 68. 3114–3132. p.
127. VARGHA A. (2000): Matematikai statisztika pszichológiai, nyelvészeti és biológiai alkalmazásokkal. Pólya Kiadó
128. VERMUNT, J. K. (1996): Log-linear event history analysis: a general approach with missing data, unobserved heterogeneity, and latent variables.: Tilburg University Press. Phd. thesis. <http://spitswww.uvt.nl/~vermunt/#Books> (2005. 05. 24.)
129. VERMUNT, J. K. – MOORS, G. (2005): Event history analysis. B. Everitt and D. Howell, (Eds.), Encyclopedia of Statistics in the Behavioral Science, Wiley: Chichester, UK. (accepted, 2005). <http://arno.uvt.nl/show.cgi?fid=13313> (2005. 05. 21.)
130. VINCZE I. – VERBANOVÁ M. (1993): Nemparaméteres matematikai statisztika. Elmélet és alkalmazások. Akadémiai Kiadó.
131. WEIR, B. S. (1990): Genetic Data Analysis. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland. Massachusetts.

132. WILLADSEN, S. (1979): A Method for Culture of Micromanipulated Sheep Embryos and Its Use to Produce Monozygotic Twins. *Nature*. 227. 298. p.
133. WILLADSEN, S. (1986): Nuclear Transplantation in Sheep Embryos. *Nature*. 320, 63–65. p.
134. WILMUT, I. – SCHNIEKE, A. E. – MCWHIR, J. – KIND, A. J. – CAMPBELL K. H. (1997): Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385. 810–813. p.
135. WRIGHT, S. (1921): System of mating. *Genetics*, 6. 11–178. p.

9. Az alkalmazott szoftverek jegyzéke

JAVA

LEM

<http://www.uvt.nl/faculteiten/fsw/organisatie/departementen/mto/software2.html>

MATLAB 4.2.

MS EXCEL

SCILAB 2.7.2.

<http://scilabsoft.inria.fr/>

SPSS

10. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek **Dr. Komlósi István** egyetemi docens úrnak PhD munkámhoz nyújtott támogatásáért, segítségéért, áldozatos munkájáért.

Köszönetet mondok az **Állattenyésztési és Takarmányozástani Tanszék minden oktatójának és PhD hallgatójának** gyakorlati, szakmai segítségéért.

Köszönetet mondok a **Gazdaságelemzési és Statisztika Tanszék minden dolgozójának**, hogy a felmerült problémák megoldásában segítségemre voltak, és áldozatvállalásukkal segítették munkám befejezését. Külön hálával tartozom **Dr. Ertsey Imre** egyetemi tanár tanszékvezető úrnak támogatásáért.

Köszönöm segítségüket a különböző tenyésztési szervezetek vezetőinek és munkatársainak, akik ismeretlenül is készségesen válaszoltak kérdéseimre.

Köszönöm programozói segítségét **Ádám Zsolt** informatikus mérnöknek.

Köszönöm dolgozatom opponálását **Dr. Gáspárdy András** és **Dr. Meszéna Géza** egyetemi docens uraknak.

Hálával és köszönettel gondolok **családomra**, támogatásuk nélkül nem készülhetett volna el ez a dolgozat. Köszönöm férjem segítségét – ő biztosította a vállalkozásom anyagi hátterét – enélkül sokkal több nehézséggel kellett volna számolnom. Köszönöm kislányom türelmét és biztatását, aki évekig várta a „fekete könyv” elkészültét. Köszönöm szüleimnek, és férjem szüleinek nem lankadó támogatásukat.

11. NYILATKOZATOK

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum Mezőgazdaságtudományi Karán az Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem a Debreceni Egyetem ATC MTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2005.....

.....
a jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy doktorjelölt 200.... – 200.... között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal – irányításunkkal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom – javasoljuk.

Debrecen,

.....
a témavezető aláírása