

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

SZISZKOSZ NIKOLETT

DEBRECEN

2017.

DEBRECENI EGYETEM
ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető:

DR. KOMLÓSI ISTVÁN
egyetemi tanár
az MTA doktora

TÉMAVEZETŐ:

Dr. Jávor András C.Sc.
egyetemi tanár

**MITOKONDRIÁLIS DNS VIZSGÁLAT HAGYOMÁNYOS
MAGYARORSZÁGI LÓFAJTÁK GENETIKAI
VARIABILITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSÁRA**

Készítette:

SZISZKOSZ NIKOLETT
doktorjelölt

Debrecen

2017.

**MITOKONDRIÁLIS DNS VIZSGÁLAT HAGYOMÁNYOS
MAGYARORSZÁGI LÓFAJTÁK GENETIKAI
VARIABILITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSÁRA**

**Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
az állattenyésztési tudományok tudományágban**

Írta: SZISZKOSZ NIKOLETT okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
(Szaporodásbiológia, genomika doktori programja) keretében

Témavezető: Dr. Jávor András C.Sc.

A doktori szigorlati bizottság:

Elnök: Dr. Kovács András, DSc
Tagok: Dr. Hecker Walter, CSc
Dr. Hajas Pál, PhD

A doktori szigorlat időpontja: 2015. október 28., 11:00

Az értekezés bírálói:

név	fokozat	aláírás
.....		
.....		

A bírálóbizottság:

	név	fokozat	aláírás
elnök:			
tagok:			
			
titkár:			

Az értekezés védésének időpontja: 20.... ..

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
2.1 A génmegőrzés és szerepe az állattenyésztésben	8
2.2 Hagyományos magyar lófajták	10
2.2.1 A gidrán fajta	11
2.2.2 A hucul fajta	14
2.3 A kancacsaládok jelentősége a lótenyésztésben – történeti áttekintés	19
2.4 A molekuláris genetika szerepe a diverzitásvizsgálatokban	21
2.5 A mitokondriális DNS	23
2.6 Mitokondriális DNS markerek	26
2.6.1 A mitokondriális kontroll régió	27
2.6.2 A citokróm b (CYTB) gén	27
2.7 Mitokondriális DNS vizsgálatok a lovakban	27
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	32
3.1 Mintagyűjtés	32
3.1.1 A gidrán fajta	32
3.1.2 A hucul fajta	33
3.1.3 NCBI adatbázisból kigyűjtött szekvenciák	33
3.2 Mitokondriális DNS vizsgálat	35
3.2.1 Genomiális DNS izolálása	35
3.2.5.1 Primertervezés	35
3.2.2. Gradiens Polimeráz láncreakció (PCR)	37
3.2.3 Polimeráz láncreakció (PCR)	37
3.2.4 DNS szekvenálás	39
3.2.5 Statisztikai elemzés	39
4. EREDMÉNYEK	41
4.1 A filogenetikai vizsgálathoz alkalmazott DNS primerek meghatározása és tesztelése	41
4.1 Gidrán lovak molekuláris filogenetikai analízise	42
4.1.1 Diverzitás vizsgálatok	42
4.1.2 Kancacsaládok ellenőrzése molekuláris markerek alkalmazásával	51
4.2 Hucul lovak molekuláris filogenetikai analízise	56
4.2.1 Diverzitás vizsgálatok	56

4.2.2 A hucul CYTB és D-loop haplotípusok összehasonlítása további póni, illetve kisló haplotípusokkal.....	64
4.2.3 Kancacsaládok ellenőrzése molekuláris markerek alkalmazásával	67
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	71
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	74
7. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA	76
8. ÖSSZEFOGLALÁS	77
9. SUMMARY	79
10. IRODALOMJEGYZÉK	80
11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN	95
12. MELLÉKLET	95
13. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	116
14. ÁBRÁK JEGYZÉKE	117
15. TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE.....	119
16. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	120
17. NYILATKOZAT	121

1. BEVEZETÉS

A világhírű hagyományos magyar lófajtákat folyamatos szakszerű tenyésztői munkával alakították ki, és mára a kulturális örökségünk részét képezik. Ezért kiemelt jelentőségű a jellegzetes tulajdonságok és az értük felelős gének megőrzése, illetve a fenntartható fejlődés elvét szem előtt tartva a génkészlet vizsgálata (Balog, 1997; Mihók, 2016).

A hagyományos magyarországi lófajták közül a gidrán rendelkezik az egyik legkisebb populációval, mely jelentős kultúrtörténeti és genetikai értéket is képvisel a magyar állattenyésztésben (Mihók, 2006b). A hucul fajta a tenyészkancák számát figyelembe véve szintén a veszélyeztetett csoportba sorolandó (Jakabová és mtsai, 2009). Ezen fajták értékes génkészletének megőrzéséhez nélkülözhetetlen genetikai struktúrájának feltérképezése, mely hasznos lehet az egyes fajták fajtavédelmi terveihez, genetikai státuszuk megértéséhez.

Az anyai ágon öröklődő nagyfokú polimorfizmussal jellemezhető mitokondriális DNS (mtDNS) kiválóan alkalmas anyai vonalak genetikai struktúrájának vizsgálatára (Jianxing és mtsai, 2012; Taberlet és mtsai, 2011). Az utóbbi évtizedben több kutatócsoport is felhasználta a citokróm b (CYTB) gén vagy a kontroll régió – más néven D-loop – mitokondriális DNS szekvenciákat a házasított, valamint az ősi lovak származási kapcsolatának feltérképezésére. A fehérjét nem kódoló D-loop régió a legtöbb emlős mitokondriális genomjának legpolimorfabb szakasza (Lopes és mtsai, 2005). A kontroll régió mellett, újabban a fehérjekódoló CYTB szekvencia polimorfizmusainak vizsgálata is fontos szerepet tölt be a származás-ellenőrzések során, emellett kitűnően használható filogenetikai vizsgálatokban is.

Dolgozatom fő célja a gidrán és a hucul kancavonalak diverzitásának meghatározása volt a fenti mtDNS markerek segítségével. További céljaim közé tartozott a méneskönyvekben esetlegesen előforduló hibák vagy elírások felderítése mellett az mtDNS alapú módszer hatékonyságának vizsgálata a kancacsaládok haplotípus alapján való elkülönítésében.

Munkánk során az alábbi célokat tűztük ki:

- A magyarországi lófajták genetikai struktúrájának feltérképezése és karakterizálása mitokondriális DNS markerek alkalmazásával.
- A gidrán és hucul lófajták haplotípusainak kimutatása és genetikai diverzitásának vizsgálata a mitokondriális markerek segítségével.
- Bioinformatikai analízissel a magyarországi hucul kancaállomány összehasonlítása a GenBank-ban elérhető póni, illetve kislópopulációkkal.
- A vizsgálatba bevont gidrán és hucul kancák méneskönyvek adatainak és a molekuláris filogenetikai eredmények összehasonlítása, az esetleges eltérések megállapítása érdekében.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A génmegőrzés és szerepe az állattenyésztésben

Az Egyesült Nemzetek Szervezete (ENSZ) 1992-es Rio de Janeiro-i Környezet és Fejlődés konferenciáján elfogadták a biológiai sokféleségről szóló egyezményt. Egyetértés született abban, hogy – a vad állatok mellett – a házasított fajták megőrzése a biodiverzitás védelméhez tartozik, és a háziállatokat is a védendő biológiai alapok közé kell sorolni (Láng, 2003). Magyarország korán elismerte a génmegőrzés fontosságát és a veszélyeztetett fajták megmentése érdekében lépéseket tett, majd az erről szóló egyezményt az 1995. évi LXXXI. törvényben mondta ki (Mihók, 2006a).

Az egyezmény megalkotásában fontos szerepet játszott, hogy a háziállatok és a termesztett szántóföldi növények genetikai sokféleségének megőrzése sokáig elmaradt az emberiség tudatában a vadon élő állatok, illetve a természeti értékek védelmétől (Bodó, 2002; Kopasz, 2005).

Az állattenyésztés legfőbb feladata, hogy az emberiség szükségleteit kielégítse, így a tenyésztő ennek megfelelően határozza meg a céljait (Bodó, 1991). Az elmúlt évtizedekben a fogyasztói igények nagyban megváltoztak, amelyekhez a tenyésztőknek is alkalmazkodniuk kellett. A változások következtében a szelekció fő hajtóereje egyfelől a fogyasztók kiszolgálása – például a nagyobb tejhozam – másrésről a fertőzésekkel, betegségekkel ellenállóbb egyedek tovább tenyésztése, valamint az öröklődő betegségek korai felismerése és kiszűrése lett (Olsen és mtsai, 2016; Ibáñez-Escriche és mtsai, 2014). Az újonnan felmerülő igények, illetve „mesterséges” tevékenységek negatív velejárója lehet, hogy a kevésbé kedvező tulajdonságokkal bíró, feleslegesnek tűnő fajták háttérbe szorulhatnak, vagy akár a teljes eltűnés szélére is kerülhetnek. Fontos viszont szem előtt tartani azt a tényt, hogy az évek – akár évszázadok – elteltével megváltozhatnak a fogyasztói elvárások, aminek következtében olyan tulajdonságok, jellegek válhatnak nélkülözhetlenné, melyeket ma még kevésbé tartanak fontosnak (Mihók, 2013).

A változó környezeti feltételek mellett az alkalmazkodás csak akkor lehet eredményes, ha az adott faj vagy fajta kellően támaszkodhat a változatos genotípusaira (Balog, 1997). A modern állattenyésztés addig bizonyul hasznos tevékenységnek, amíg a genetikai elszegényedés, a populációk diverzitásának csökkenésének a megakadályozására is irányul (Bodó, 2002). Így a fajok és fajták hosszú távú fennmaradásának feltétele a diverzitás megőrzése és a génkészlet fenntartása. A

háziállatok génjeinek és fenotípusos jellemzőinek megőrzése – ahogy azt *Bodó* (1991) is leírta – egyfajta „genetikai környezetvédelem”, mert az aktuálisan népszerű fajták egyeduralma, illetve az egyformaság ellen törekszik. A géntartalékok védelme magában foglalja a megőrzést, fenntartást, az egyenletes hasznosítást, továbbá a természetes környezet helyreállítását és fejlesztését is (*Bodó*, 1991).

A génmegőrzés módszere lehet *ex situ*, amikor főleg mélyhűtőben tárolt mintagyűjteményekről beszélünk, illetve *in situ*, amikor a minta élő állatokból áll az eredeti környezetükben (*Ángyán és mtsai*, 2009).

A genetikai erőforrások védelme a génmegőrzés legfontosabb feladata. A génmegőrzés során szem előtt kell tartani: 1.) az állat gazdaságilag előnyös tulajdonságait, 2.) az alkalmazkodóképességet és 3.) a genetikai változatosságának megőrzésére való törekvést (*Besze*, 2010).

A felsoroltakon kívül nem elhanyagolható esztétikai és etikai szempontok figyelembe vétele sem. Ezenkívül a legtöbb fajtát gyakran a nemzeti öntudattal, kulturális értékekkel is azonosítják, így a történelmi szempontból értékes fajták védelme is kiemelten fontos (*Novotni*, 2012).

Jelenleg a nem gazdaságos háziállatfajták fenntartása minden olyan országnak a feladata, amely törődik hagyományainak megőrzésével (*Mihók*, 2016). Magyarországon már a hatvanas évek közepétől kezdve szervezeten folyik az ilyen célú megelőző tevékenység. Azoknak a fajtáknak, amelyek a második világháború után még maradtak, állami támogatással és felügyelet mellett törvényben szabályozva folyik a védelmük (*Bodó*, 2002). A prevenció mellett nélkülözhetetlen a hungarikumot jelentő háziállatfajták értékes, egyedi tulajdonságainak a feltárása is, és a - fenntartható fejlődés elvét szem előtt tartva – a génkészlet vizsgálata, géntartalékok védelme (*Bodó*, 2002). Géntartaléknak azoknak – az általában kis létszámú – populációval bíró háziállatok genetikai erőforrását nevezzük, amelyek a jelenlegi termelési és kereskedelmi trendnek nem felelnek meg, nem versenyképesek (*Bodó*, 1991).

A hivatalos génmegőrzési programok kezdetben csak a létszámfenntartásra szorítkoztak (*Mátyás*, 2002). A fajtamegőrzés érdekében az egyedszámnál még fontosabb a fennmaradó populáció minőségét megőrizni, illetve a genetikai diverzitását fenntartani (*Hecker és Bodó*, 1998). A modern felfogásnak és a génmegőrzési stratégiáknak köszönhetően napjainkban sor kerülhet a ritka, de annál értékesebb genotípusok

szaporítására, megőrzésére is. Kiemelt jelentőségű, hogy ne csak a „fajta nevét” mentsük meg, hanem a jellegzetes tulajdonságokat, illetve az azokért felelős géneket (Bodó, 2002).

A fajtavédelmi terveihez nélkülözhetetlen a fajták genetikai struktúrájának feltérképezése, genetikai státuszuk megértése. Az elmúlt közel fél évszázad során egyre hatékonyabb módszerek állnak a tenyésztők rendelkezésére a génkészletének meghatározására a molekuláris biológia hatalmas fejlődésnek köszönhetően (Cloete és mtsai, 2014; Phua és mtsai, 2014). Így a modern kor adta tudományos módszereket alkalmazva, a kutatások során szerzett eredményeket, tapasztalatokat igyekeznek a tenyésztők beépíteni a programjaikba (Beuzen és mtsai, 2000; Dekkers és mtsai, 2002). Ebből adódóan elterjedtek a molekuláris genetikai módszereken alapuló, a genetikai diverzitás megőrzésére, növelésére irányuló kutatások (Yang és mtsai, 2002; Lopes és mtsai, 2005; Szőke és mtsai, 2004; Kusza és mtsai, 2015).

A fajtán belüli genetikai diverzitás meghatározását és a fajták közötti genetikai távolságának hatékony feltérképezését a molekuláris markerek teszik lehetővé. Ezek a markerek lehetnek konzevált gének, illetve fajtaspecifikus DNS szekvenciárészletek is (Yang és mtsai, 2013; Larson és mtsai, 2013; Kusza és mtsai, 2015). A diverzitás vizsgálatok során leggyakrabban használt markerek közé a DNS mikroszatellitek, SNP-k (Single Nucleotide Polimorphism), Y-kromoszóma polimorfizmusok és mitokondriális DNS szakaszok tartoznak (Ellegren és mtsai, 2016; Vignal és mtsai, 2002). A mitokondriális DNS szekvenciák közül fontos megemlítenünk a citokróm b, citokróm c oxidáz 1 és 2 (COI/II), riboszómális RNS (16S, 5S, 28S) géneket, valamint a fehérjét nem kódoló hipervariábilis D-loop régiót is, melyek kiváló alapot kínálnak a különböző evolúciós és filogenetikai kutatásokhoz is (Bruford és mtsai, 2003; Ming és mtsai, 2016; Liu és mtsai, 2016).

2.2 Hagyományos magyar lófajták

A ló (*Equus caballus*) evolúciója hetven millió év alatt ment végbe. A fejlődés eredményeként a Föld jelenlegi lóállománya több mint hatvan millió (Bodó és Hecker, 1998; Brady 2016). A ló az egyik legrégebben házasított állat és közel hatezer éve társa az embernek (Librado és mtsai, 2016; Vilstrup és mtsai, 2013) és jelenleg is kiemelt szerepet játszik az ember életében, annak ellenére is, hogy gazdasági hordereje már kevésbé jelentős (Bodó és mtsai, 1998; Gelányi és Obádovics, 2014). A változatos

hasznosításnak köszönhetően egymással több rokon fajta is keletkezett (*Mihók és mtsai*, 2001; *Vilstrup és mtsai*, 2013), melyek csoportosítása még a gyakorlott szakember számára sem egyszerű feladat (*Mihók és mtsai*, 2003a).

A Magyarországon kitenyésztett lovak egykor világhírnevet szereztek maguknak és a kulturális örökségünk részét képezik. Hazánk lóállománya a két világháborút követően degradálódott és jelenleg is csökkenő tendenciát mutat, ennek ellenére továbbra is sok lófajtaival büszkélkedhetünk (*Mihók*, 2016). Az 1990-es években megalakult lótenyésztő egyesületek fő tevékenysége a hagyományos magyar lófajták folyamatos szakszerű (Bábolnán, Hortobágyon, Kisbéren, Mezőhegyesen és Szilvásváradon) fenntartása (*Bokor és mtsai*, 2013; *Ócsag*, 1992; *Novotni*, 2012; *Mihók és mtsai*, 2003a).

Hagyományos hidegvérű lófajtáink közé tartozik a magyar hidegvérű ló és a muraközi (*Ócsag*, 1995; *Tőzsér és Bedő*, 2009), miközben a muraközi lényegében felszámolódott. Hagyományos melegvérű lófajtáink közé soroljuk a Mezőhegyesen kitenyésztett nóniuszt, gidránt, furioso-north start, Bábolnán létrejött shagya arabot, a Kisbéren világhírűvé vált kisbéri félvért (*Ócsag*, 1984; *Hecker* 2014; *Mihók*, 2014c), Magyarország területén több mint 100 éve létező lipicai lovat (*Tóth*, 1980) és a hucult (*Mihók*, 2006c).

2.2.1 A gidrán fajta

A gidrán (1. ábra) az egyik legkisebb populációval rendelkező, hagyományos magyar lófajta (*Pataki*, 1996). A hazai kitenyésztésű fajta különleges genetikai értékkel bír, ezért kiemelten fontos a tenyésztésben tartása. A fajtaalapító sárga mént, Gidran Senior arab telivért báró Fechtig vásárolta Egyiptomban 1816-ban (*Mihók*, 2006b). Gidran Senior később Bábolnán hat törzsmént adott, közülük Gidran II nevű fia került Mezőhegyesre, ahol vegyes kancaanyagot fedezett (a fajta genealógiailag nagyon hasonlított a nóniuszra vagy a mezőhegyesi félvérré) (*Mihók*, 2006b). A gidrán tulajdonképpen a mezőhegyesi sárga ménésből alakult ki (*Mihók és Ernst*, 2015).



1. ábra: **Három éves fiatal gídrán kanca** (Fotó: Novotni P.)

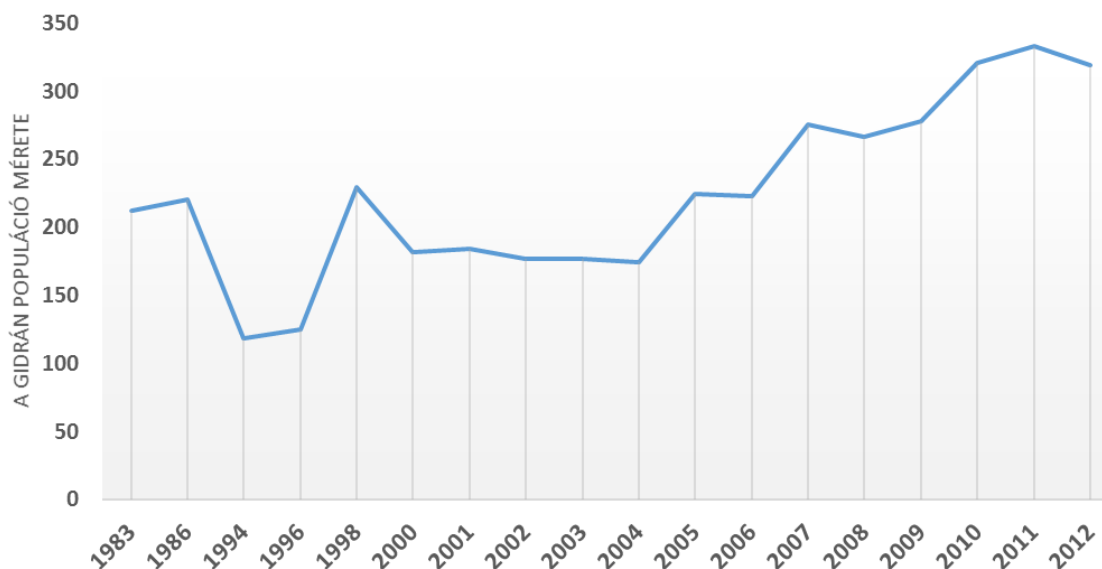
Az eredeti gídrán állomány tizenhat őskancára vezethető vissza. A fajtává alakítás során angol telivér méneket használtak, és az F₁ kancákat fajtatiszta gídrán ménnel zárták vissza (Mihók, 2006b). Így elkerülték a rokontenyésztést, viszont elősegítették a fajta küllemi és teljesítmény-értékének javítását. A gídrán önálló törzskönyvét 1855-től vezetik (Jónás és mtsai, 2006).

A ménes állománya a 19. század elején, közel száz törzskancával stabilizálódott. A kialakult populáció mérete miatt lehetővé vált a fajta utánpótlásigényének biztosítása, a genetikai divergencia is megfelelőnek bizonyult. Sajnos, az 1920. március 20-án, a román megszállást követően, az akkori leltár szerinti kilencvennyolc gídrán kancából mindössze tizenhárom egyed maradt meg (Mihók és mtsai, 2003b). Bár később az állomány kancalétszámát 1944-re sikerült kilencvenre megnövelni, a II. világháború után csak huszonnyolc kanca érkezett vissza a németországi Bergstettenből.

A két világháború közötti időszakban konszolidálódott a fajta angol-arab jellege, eltűntek a használatbéli problémák, viszonylag rövid idő alatt alakult ki egy értékes, kiváló állomány. 1957-ben a teljes gidrán populációt Mezőhegyesről a Dalmandi Állami Gazdaságba helyezték át, és pár év elteltével a gidrán állomány mindössze három fajtatizsza ménre és tizenhat törzskancára csökkent le (*Mihók, 2006b*).

A gidrán európai viszonylatban az egyik leghányatottabb sorsú háttas félvér populáció (*Mihók és Ernst, 2015*). Annak ellenére, hogy a gidrán lovak száma az elmúlt években stabilizálódott és folyamatos növekedésnek indult (2. ábra), a hazai populációk státusza sem ad megnyugvásra okot, a veszélyeztetett kategóriába tartozik. A romániai és bulgáriai populációk státusza kritikusan mondható (DAD-IS, 2014). A FAO DAD-IS (Domestic Animal Diversity Information System database of the FAO; internet cím: <http://dad.fao.org/>) adatai alapján a magyarországi gidrán állomány összesen 391 (298 kanca és 21 mén) egyeddel rendelkezik.

Egyértelmű tehát, hogy a gidrán fajta genetikai diverzitásának a megőrzése a jelenleg aktív tenyésztőközösségnek és kutatói állománynak egyaránt fontos feladata (*Mihók és mtsai, 2003b*). 1989-től szervezett keretek között folyik a tenyésztés, a Kisbéri-félvér és Gidrán Lótenyésztő Országos Egyesület a fajta fenntartója.



2. ábra: A magyarországi gidrán egyedszám alakulása a FAO-DAD adatbázis alapján

2.2.2 A hucul fajta

A fajta a nevét egy etnikai népcsoport, a huculok után kapta, akik Magyarország-Bukovina-Galicia határterületein – az erdős Kárpátok áthatolhatatlan hegyi rengetegében – éltek. (Mihók, 2014c). A legkorábbi hiteles említése a fajtának 1792-ből származik, amikor Radautz nyári legelőjén Lucsinán ménest alapítottak. A területi elszigeteltség és a szélsőséges környezeti hatáshoz való alkalmazkodni tudás következtében hucul fajtában az immigráció csak elvétve fordult elő. Ennek, illetve a népcsoport bánásmódjának, s főleg a használatnak köszönhetően, egy rendkívül ellenálló, igénytelen, primitív jellegű fajta alakulhatott ki. Különleges értékmérő tulajdonsága a feltétlen munkakészség, a páratlan megbízhatóság és a különös ellenálló képesség (Mihók, 2006c).



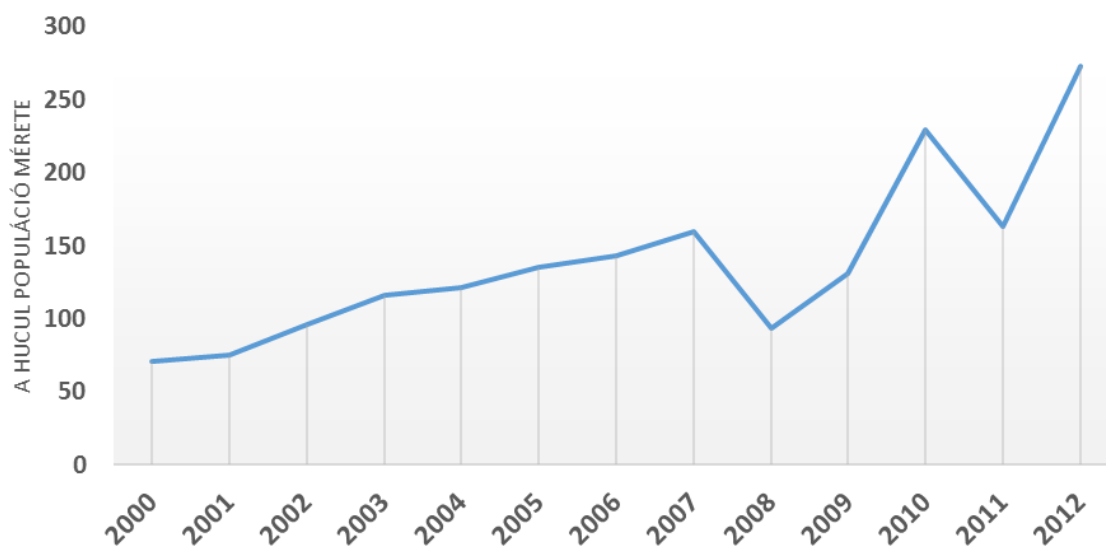
3. ábra: Goral Fürge hucul mén (Fotó: Haga Zs.)

A hucul 131-138 cm bottal mért marmagasságú, színe legtöbbször sötétpej, egérfakó, vagy fakó, de akad fekete és Lengyelországban jellemző a tarka is (Mackowski és mtsai, 2015; Jakabová és mtsai, 2009; Mihók és mtsai, 2003c) (3.ábra).

A hucul kiemelkedő tulajdonságait elsősorban a hegyvidékeken hasznosították, hiszen tökéletesen alkalmazkodott a hegyi körülményekhez, a zord időjáráshoz, a szegényes táplálékhoz. Munkakészsége kiemelkedő, a rögös hegyi utakon is biztos a lépte, málhás állat. A 19. században a lovakat az osztrák-magyar hadseregben használták, főleg a kialakult nehéz körülményeket miatt (*Mihók, 2014b*).

A fajtának már az 1790-es évek elején ménese volt Lucsinán és Radautzon. Az 1990-es évek elején létrehozott Huzul International Federation (a hucultenyésztés nemzetközi szervezete) által elfogadott genealógiai vonalak a következők: Goral, Hroby, Ousor, Pietrosu, Prislop, Gurgul és Polan (*Mihók, 2014c*).

Ezeknek a vonalaknak a tisztaságának a megőrzése, a folyamatos tenyésztés a vonalak megőrzése céljából elengedhetetlen, azonban új vonalak alapítása nem indokolt (*Mihók, 2006c; Rola és mtsai, 2011*). Az állomány génfrekvenciájára hatással volt a többszöri palacknyakhatás. Ilyenkor a populáció létszáma lecsökken, majd ismét megnövekszik, de a létszám későbbi növekedése beszűkült genetikai variációval rendelkező populációból történik (*Bodó, 1991; Mihók, 2011a*).



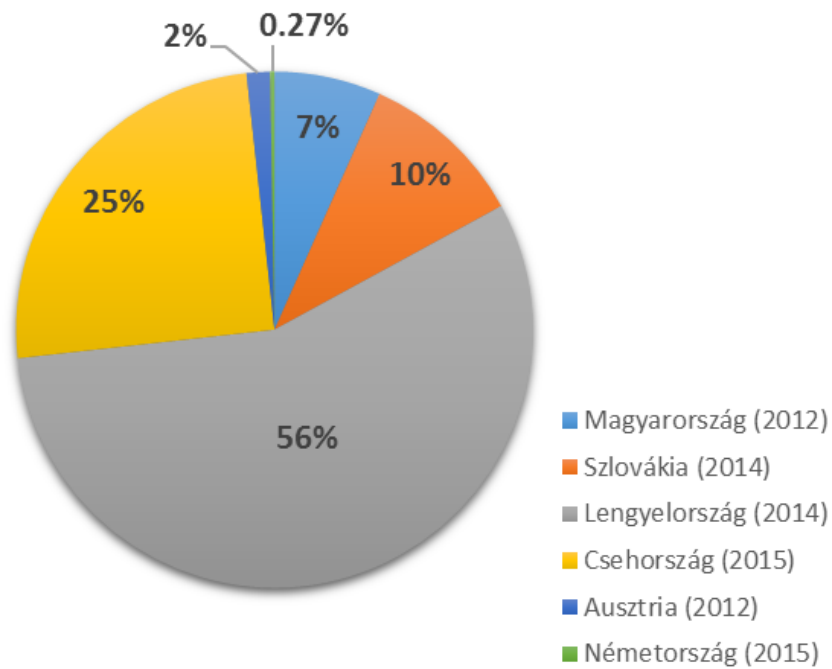
4. ábra: A magyarországi hucul egyedszám alakulása a FAO-DAD adatbázis alapján

A palacknyak-hatást a fajta fennállása óta kétszer szenvedte el (*Mihók, 2014a*). Tehát a hucul populációt legalább kétszer érte olyan, genetikai variációját nagymértékben csökkentő hatás, mely után a létszám növekedése egy beszűkült genetikai változatosságú egyedszámból zajlott le (*Kusza és mtsai, 2013*).

Szinte minden fajtánál előfordul, hogy háborúk, vagy természeti katasztrófa okán feljegyzések, törzskönyvek vesznek el, vagyis egyedeket akár csak egyetlen generációig lehet azonosítani (*Mihók, 2016*). Az első világháború alatt az állomány óriási veszteségeket szenvedett (*Mihók, 2014a*). Sajnos a gidránhoz hasonlóan, magyarországi hucul populáció is igencsak megtépázódott a háborúk következtében.

Az 1950-es években Anghi Csaba, a Fővárosi Állatkert igazgatója a még fellelhető egyedeket összegyűjtötte (*Mihók, 2014b*). Ma az Aggteleki Karszton tenyésztik, 2015-ben már 140 kanca élt itt. 2004-ben génmegőrzési támogatásban részesíthető állatfajták közé soroltatott. Legnagyobb létszámú kancacsaládjai az Árvácska, és az Aspiráns, de további lucsinai, szlovák és lengyel kancacsaládok is bekerültek a tenyésztésbe (*Mihók, 2014c*). Ahogy azt a FAO-DAD adatbázis adatai is mutatják, a hucul egyedszám Magyarországon is folyamatos növekedést mutat (4. ábra).

A tenyésztők hatékonyságának köszönhetően a hucul lovak populációja világviszonylatban napjainkra meghaladja az ezer egyedszámot. Ma az Osztrák–Magyar Monarchia utódállamaiban, illetve Lengyelországban tenyésztik a fajtát, de genetikailag legértékesebb állományai ma is a Kárpátokban találhatók. A fajta tenyésztői Lengyelországban, Szlovákiában, Romániában, Csehországban, Ausztriában és Magyarországon vannak (*Komosa és mtsai, 2009*) (5. ábra). Tenyésztő központja Romániában Lucsina; Lengyelországban, Gładyszów, Odrzechowa, a Besszádoki Nemzeti Park Szlovákiában, Kistapolcsány és Kassa. Magyarországon legnagyobb tenyészetet az Aggteleki Nemzeti Park tart fenn! A fajta genetikai diverzitásának bővítését hazánkban ismételt importok segítik (*Mihók, 2011a*).



5. ábra: A hucul fajta egyedszámainak megoszlása a különböző országok között a FAO-DAD adatbázisa alapján. Zárójelben a bejegyzés időpontja.

A fajta fenntartása során követendő elv az eredeti értékmérő tulajdonságok megtartása, továbbá a palacknyakhatáson átesett állományban a minél nagyobb genetikai variancia megőrzése. Ezt segíti a minél több genealógiai vonal/törzs és kancacsalád fenntartása. (Mihók, 2011b).

1. táblázat: **A hucul fajta nemzetközi szervezete által elfogadott kancacsaládok**

Ország	Hucul kancacsalád
<i>Románia</i>	1 Panca, 2 Lucina, 3 Tatarca, 4 Kitca, 5 Plosca, 11 Rotunda, 12 Sarata, 17 Aglaia, 86 Deremoxa, 17 Paskana
<i>Szlovákia</i>	825 Agla, 882 Gelnica, 862 Dagmar, 39 Franca, 48 Mulica, 90 Macocha, 70 Sekácka, 19 Kavka, Bukovina
<i>Csehország</i>	23 Klapta, 11 Zuza, 18 Barna, Valuta, 111 Rumiva, 108 Morsina, 84 Hurka, 25 Zemla
<i>Lengyelország</i>	Agatka, Bajkalka, Czeremcha, Basia, Nowosacecka, Górkalka, Laliszka, Nakoneczna, 84 Polonina, Polanka, Pastuszka, Reda, Szrocza, Zyrka, Wrona, Wydra, Wolga (Az utóbbi három családot magyar eredetűnek tartják).
<i>Magyarország</i>	Árvácska, Aspiráns

A jelenlegi hucul kancacsaládok (1. táblázat) adják a fajta teljes genetikai szerkezetét. Azt azonban csak remélni lehet, hogy ez alig kevesebb, mint a fajta fénykorában meglévő állomány nagyság idején volt. Miután egy gócból történt a fajta (huculvidék Bukovinában, Lucsina környékén) kirajzása, és az akkori időben szó nem volt génmegőrzésről, az egyes országokban lévő és elfogadott kancacsaládok átfedéseket mutathatnak, de átfedések lehetnek a háborús események sok mindent megsemmisítő hatása miatt is (Mihók, 2011b).

A fajta fenntartása nemzeti keretek között, de nemzetközi integrációban folyik. Minden résztvevő ország igyekszik a lehető legtöbb kancacsaládot fenntartani, a fajtára jellemző értékmérő tulajdonságok megtartása érdekében. Az adott fajta genetikai állományát az összes egyed genotípusa adja. Számolva a veszteségekkel (egy egyed, vagy csoport által hordozott speciális génállománnyal), csak akkor van esély a valóban hucul egyedek tenyésztésére, ha minél több alapítóra visszavezethető állatok csoportjával rendelkezünk (Mihók, 2016).

2.3 A kancacsaládok jelentősége a lótenyésztésben – történeti áttekintés

Történelmi adatok alapján, a lovak származását már a háziasítás kezdetén rögzítették. Horn (1955) Általános állattenyésztés című könyvében található egy körülbelül 5000 éves „származási lap” Mezopotámiából. A lófejek három csoportba oszthatók rajta: felálló sörényűek (feltehetően vad ménnek), lelógó sörényűek (feltehetően domesztikált ménnek) és sörény nélküliek (kancák). Az arab természettudomány és irodalom segítette az ismeretek átmentését. Az első szervezett és meghatározott távú arab lóversenyek a 7. században Medina közelében kerültek megrendezésre (Hecker, 2014).

Európában Johann Christoph Justinus (1756-1824) hívta fel először a figyelmet a származás fontosságára. Előtte ugyanis nem volt a lovaknak származási lapjuk, anyakönyvi kivonatuk. Egyedül a származás országát tartották fontosnak. Napóleon legyőzése után Justinust a császári és királyi udvari ménesek főfelügyelőjévé nevezik ki. 1815-ben a „Lótenyésztés tökéletesítésének általános alapelvei” művében fejti ki újszerű tudományos nézeteit (Hecker, 2014). Megfigyelte, hogy az angolok a királyi kancák (Royal Mares) kialakítása során keletről hoztak be lovakat és az arab mintát követve más lovakkal történő keveredés nélkül tenyésztették tovább. Törzskönyveket, származási lapokat hoztak létre és az országból való kitiltással sújtották a lovak külföldre történő eladását. A származás mellett a teljesítményt is fontosnak tartották. Lovaikat versenyeztették és csak a legjobbakat szaporították tovább (v. Oettingen, 1910; Blaine, 1840). Így Justinus három kritériumot állapított meg, melyeket a tenyészállatokkal szemben támasztottak: 1.) a bizonyított származás, 2.) a bizonyítottan jó teljesítés és 3.) a megbízható örökítés. A versenylótenyésztésben nyert tapasztalatokat Angliában egyéb állatfajok tenyésztése során is alkalmazzák. Justinus elmélete a törzskönyvezések bevezetését és elterjedését segítette, igazi áttörésként lehetett felfogni az európai állattenyésztésben (Hecker, 2014).

Magyarországon a Csekonics József vértesskapitány által kezdeményezett és II. József császár által alapított Mezőhegyesi Ménesben (1785) kezdettől fogva feljegyezték a csikók származását és a törzskönyveket nagy pontossággal vezették (Fehér és Jávorka, 2004).

Az angol méneskönyv, a General Stud Book I. kötete 1793-ban jelent meg és tartalmazta az angol versenyfutó lovak származási adatait. Később az 1900-as évek elején

kezdték azokat a lovakat angol telivérnek nevezni, melyeknek minden őse a General Stud Book I. kötetére vezethető vissza (Platt, 1973; Willett, 1991).

A 19. században az arabok különösen az anyai származásnak tulajdonítanak jelentőséget. Közülük a legértékesebbek Mohamed kedvenc kancáinak egyenes ágon leszármazottjait tartották (Hecker, 2014). Ezeket a kancákat Hadudi-nak, azaz fedezőmént adó kancáknak nevezték. A tiszta anyai származást mindennél fontosabbnak tekintették, akármilyen szép volt vagy akármilyen magas teljesítményt ért el egy mén (Hecker, 2014).

Angliában hasonló elven alakult ki az „Inbred Dams” elmélet, mely szerint a legértékesebb kanca a kiváló örökítőkre rokontenyésztett. A fedezőmének kiválasztásánál is az arabhoz hasonló volt a helyzet, a kancacsalád minősége itt is döntő szerepet játszott (Hecker, 2014). Bárány Hoeller Mór az angol elméletek ismerője is kiemelte a származás fontosságát és az anyai ágon történő visszavezethetőséget. Tudását a méneskönyvek tanulmányozására építette (Fehér és Jávorka, 2004).

Bruce Lowe húszévesi versenyeredmény tanulmányozása után állt elő elméletével. Anglia három fontos versenyének az Oaksnak (a Kanca Díjnak), a Derbynek és a St. Legernek a győztes lovait a kezdetektől kancacsaládok szerint rendszerezte (Lowe és Allison, 1898). Legelőször visszavezette a General Stud Bookban feltüntetett alapító kancákig, beszámozta őket 1-43-ig, de ez a szám később még emelkedett. A győztes lovak kancacsaládok szerinti rendezése során azt tapasztalta, hogy kilenc olyan család van, melyek az első osztályú versenylovak származásában nélkülözhetetlennek tűntek (Lowe és Allison, 1898). A kancacsaládokat „győztes” és „örökítő” kancacsaládokra osztotta. Számrendszere alapján egyértelműen látszódott, hogy egy sikeres versenyló származásának első három ősi sorában a „győztes” és „örökítő” családok erős kombinációja lehet a siker titka. Feljegyzéseit 1895-ben kiadták, a kancacsaládok rendszerét és számozását a méneskönyvek átvették (Hecker, 2014). Lowe munkássága a kancacsalád értékére véglegesen felhívta a figyelmet, annak ellenére is, hogy módszerét nem mindenhol tudták sikeresen alkalmazni a tenyésztések során (Chalkley és mtsai, 1978).

Holsteinben az első tenyésztő egyesületek már az 1830-as években megalakultak és itt is megtörtént a kancacsaládok beszámozása (Hecker, 2014). A holsteini tenyésztők a mai napig tudják, melyik ló melyik kancacsaládhoz tartozik és állításuk szerint a

kancacsaládok 13-15%-a adja a legjobb sportlovaik és fedező ménjeik több mint 80%-át, a többi adja a tömeget.

A lótenyésztő szakemberek körében a mai napig ismert jelenség, hogy egyes kiváló örökítők kancái tűnnek ki, míg a ménnek nem sok sikert hoznak. Napjainkban pedig azt is tudjuk, hogy a több évszázados megfigyelések helyesek, a kancák anyai ágon visszavezethetők az ősi alapítóig és a mitokondriális DNS anyai öröklődése következtében a kancák egyes génjeiket mindig az anyuktól kapják (Hecker, 2014; Mihók, 2014a).

2.4 A molekuláris genetika szerepe a diverzitásvizsgálatokban

A molekuláris biológiai módszerek intenzív fejlődése manapság olyan lehetőségeket kínál, melyből az állattenyésztő igényeihez és lehetőségeihez mérten válogathat (Mrode és mtsai, 2016; Duensing és mtsai, 2014). A haszonállatok genomikai programjainak sikere mellett (Daetwyler és mtsai, 2014) a géntérképezések (McKay és mtsai, 2007), a bioinformatika előtérbe kerülése (Li és mtsai, 2016) mind azt tükrözik, hogy a molekuláris szinten zajló történéseket a génvédelemben és a tudatos állattenyésztésben is figyelembe kell venni (Mihók, 2014b).

A molekuláris filogenetika – a molekuláris biológiai módszerek fejlődésének következtében – gyorsan terjedő és fejlődő tudományterületté lépett elő. Amíg a klasszikus filogenetikai megközelítés az élőlények morfológiai megfigyelésén alapul, addig a molekuláris filogenetika a homológ DNS vagy a fehérjék aminosav szekvenciák összehasonlítása révén különböző organizmusok vagy gének közötti kapcsolatokat vizsgálja. A szekvenciák közötti különbségek az évek során végbemenő molekuláris evolúció hatására kialakult genetikai távolságot jelentik (Beuzen és mtsai, 2000).

A molekuláris filogenetikai vizsgálatok az alábbi főbb lépéseket foglalhatják magukba (Yang és mtsai, 2013):

- A vizsgálni kívánt élőlény, populáció kiválasztása.
- A céljainknak leginkább megfelelő marker kiválasztása.

- Laboratóriumi vizsgálatok (mtDNS izolálása, restrikciós enzimek alkalmazása, a kívánt DNS szakasz felszaporítása speciális PCR primerek segítségével, DNS szekvenálás).
- A szekvenálás során kapott szekvenciák többszörös illesztése bioinformatikai szoftverek segítségével.
- Az evolúciós modell kiválasztása és a filogenetikai fa elkészítéséhez megfelelő módszer meghatározása.
- A fa megbízhatóságának megállapítása (bootstrap).

A molekuláris filogenetikai vizsgálatok eredményei – például a taxonok közötti leszármazási kapcsolatok – a bázissorrend vizsgálata alapján legjobban törzsfán ábrázolhatók (*Hillis és mtsai, 1992*). A törzsfa egyrészt a vizsgált populációból, másrészt a hozzá vezető ágakból áll (*Rutschmann, 2006*), lehetnek gyökeres és gyökértelen fák. A gyökeres fáknál létezik egy alapvető elágazási pont, melyből kiindulva minden egyes vizsgált taxonhoz el lehet jutni. A gyökértelen fáknál közös ősről nem beszélhetünk, a fa csak a vizsgált taxonok közötti leszármazási kapcsolatokat tükrözi, a taxonok létrejöttéhez vezető evolúciós út nélkül (*Brown, 2007*). A törzsfa szerkesztése különböző algoritmusok alapján történhet, ami meghatározza a fa szerkezetét (*lásd 3.2.5 alfejezet*). A törzsfa ágainak hosszát tekintve lehet időarányos és skálázott is. Az előbbi esetben a közös ősből levezethető ágak hossza azonos, tehát nem tükrözik például: a bázisszubsztitúciók számát. Skálázott törzsfáról akkor beszélünk, ha az ágak hossza arányos a szubsztitúciók számával (*Huson és mtsai, 2006; Pecsénye, 2006; Britton és mtsai, 2007*).

Az állattenyésztés területén kezdetben a morfológiai tulajdonságok mellett vércsoportokat, illetve különböző biokémiai polimorfizmusokat (*Hartl és mtsai, 1986*) alkalmaztak a leszármazás, illetve a rokoni kapcsolatok feltárására. A rendelkezésre álló modern technológiák viszont DNS alapú adatokat szolgáltathatnak az adott fajta öröklött mintázatairól. A haszonállatok ily módon meghatározott genotípusai mind diagnosztikai (*Barker, 1989*), mind filogenetikai, származás-ellenőrzés (*Williams és mtsai, 1990; Koskinen, 2003*) szempontból informatívak. A DNS alapú vizsgálatok lehetővé tették a populációk genetikai szerkezetének vizsgálatát, új lehetőséget teremtve az őshonos állományok közötti genetikai távolság becslésére, közvetett módon pedig segíthetik a

veszélyeztetett fajták fenntartását (*Fésüs, 2000; Groeneveld Lf Fau - Lenstra és mtsai, 2010*).

A molekuláris filogenetikai kutatásokban számtalan különböző molekuláris marker használata terjedt el. A kezdeti kutatások főleg nukleáris markerek, mint például az rRNS alegységei (5S, 16S, 28S) szekvenciáinak a tanulmányozásán alapultak. Mivel az rRNS alkotja a sejt teljes RNS állományának jelentős részét, így viszonylag könnyen kinyerhető a szekvenáláshoz elegendő mennyiség (*Zhang és Hewitt, 1996*). A nukleáris markerek mellett a mitokondriális DNS génjeinek / nem-kódoló szakaszainak a tanulmányozása is elterjedt a diverzitás vizsgálatokban (*Ballard és Rand, 2005; McDonagh és mtsai, 2016*). Mivel a populációk mtDNS-ei közötti különbségek az évezredek alatt alakulnak ki, így hűen tükrözik az adott populáció szétválásának idejét (*Harpending, 1994*). A populációk rendelkezhetnek ősbibb, illetve újabb mutációkkal is, melyek alapján különböző haplotípusokba sorolhatók (*Brown, 2007*). A származási kapcsolatok legbiztosabban a teljes mitokondriális genom polimorfizmusainak meghatározásával állapíthatók meg. Viszont a legtöbb filogenetikai és populációgenetikai kutatás – főként idő és anyagi megfontolásból – a teljes mitokondriális genom helyett csak bizonyos mitokondriális géneket (ún. markereket), rövidebb szakaszokat alkalmaznak a populációk vagy alacsony szintű taxonómiai kapcsolatok kiértékelésére (*Simon és mtsai, 2006*). A mitokondriális genom, illetve markerek bemutatásával a következő fejezetben foglalkozom részletesen.

2.5 A mitokondriális DNS

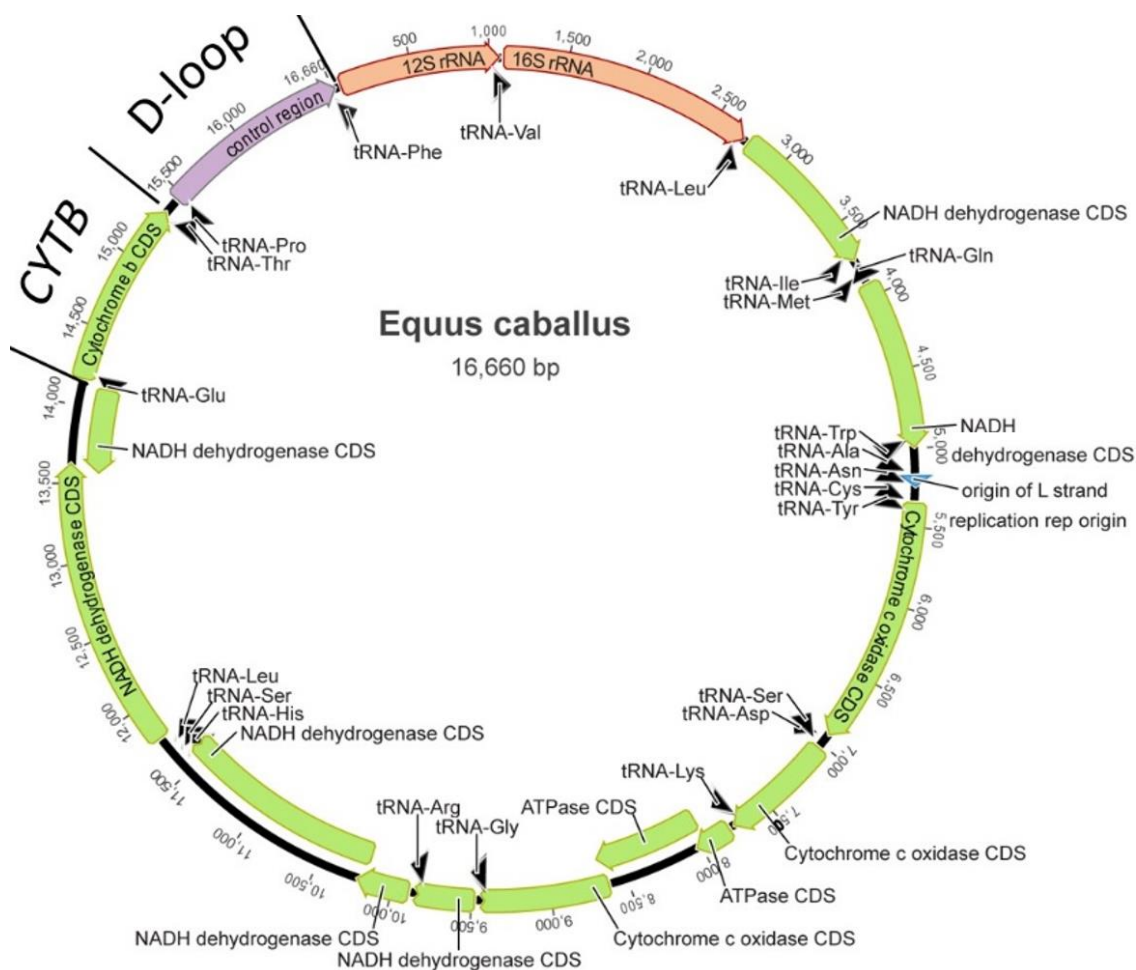
A mitokondrium nevét részben fonalszerű (mitosz), részben gömbszerű (kondrion) megjelenéséről kapta. Fontos szerepet játszik a sejtlégzésben és az energiatermelésben (*Csaba, 1988*), emellett érintett egyes genetikai betegségekben, az öregedésben, valamint a sejthalálban is. Méreteit tekintve vastagsága néhány tized mikrométer, hossza akár a több mikrométert is elérheti. A mitokondriumot két membrán és az általuk közbezárt terek építik fel, melyekbe a belső membrán betüremkedik, mitokondriális kriszták formájában (*Mannella, 2006*).

Önálló génállománnyal rendelkezik, melyet mitokondriális DNS-nek (mtDNS), vagy mitokondriális genomnak nevezünk (*Ingman és mtsai, 2000*). Ahogy a **6. ábra** is

mutatja, az emlősök mtDNS-e általában cirkuláris, kisméretű extrakromoszómális DNS (hozzávetőleg: 16-18 kb), mely 37 génből állhat: 13 fehérjét kódoló, 2 riboszómális RNS-t, 22 tRNS-t kódoló génből és egy kontroll régióból (D-loop) (*Wan és mtsai, 2004; Jiang és mtsai, 2011*).

A mitokondriális DNS több filogenetikai szempontból előnyös tulajdonsággal is rendelkezik. Egyrészt a magas mutációs ráta következtében a mtDNS nagyfokú polimorfizmussal jellemezhető (*Nabholz és mtsai, 2009*). Emellett a mitokondriális genom gyakran átrendeződik, így akár ugyanazon a sejten belül is számos eltérő mtDNS is előfordulhat. Továbbá a mtDNS a nukleáris DNS-től függetlenül, anyai ágon öröklődik (*Hutchison és mtsai, 1974*). Az osztódása szorosan sem kapcsolódik a sejtmagéhoz, így öröklésmenetében is különböző törvényszerűségek érvényesülnek (*Falkenberg és mtsai, 2007*). A megtermékenyített petesejt mitokondriumai az egyes élőlényekben eltérő mértékben származnak a szülői ivarsejtektől. Az élesztőben például a haploid sejtek fúziójánál mindkét sejt hozzájárul a diploid sejt mitokondriális készletéhez, valamint a növények egyharmadánál a mitokondriumok szintén származnak mindkét őstől (*Hagemann, 2010; Wallace és mtsai, 2010*).

A maternális öröklődésnek köszönhetően a mtDNS kiválóan alkalmas anyai vonalak feltárására és a genom evolúciójának modellezésére (*Boore, 1999*). A különböző polimorfizmusokkal bíró szekvenciák haplotípusokat határoznak meg, melyek egy vagy több mutációs lépés feltételezésével levezethetők egymásból (*Galtier és mtsai, 2009*).



6. ábra: A ló mitokondriális DNS sematikus ábrázolása. Külön kiemelve az általunk vizsgált CYTB és D-loop szakaszok láthatók

A mtDNS egyszerű, konzervált struktúra, mely lehetővé teszi univerzális primerek alkalmazását. Annak köszönhetően, hogy az mtDNS a legtöbb sejtben magas kópiaszámban fordul elő, könnyen kinyerhető kicsi, vagy erősen degradálódott mintákból is.

Az emlősöknél a hímek spermiuma egyáltalán nem, vagy csak kis mértékben járul hozzá a zigóta mtDNS készletéhez (Hagemann, 2010). Érdekes megemlíteni, hogy az ivarsejtek mitokondrium száma is eltérő a két nem esetében. A petesejt több százezer mitokondriumot tartalmaz, a spermiumban viszont csak pár száz található (Rand, 2001). A megtermékenyítés során a spermiumnak csak a feji része – amely gyakorlatilag nem tartalmaz mitokondriumot – hatol be a petesejt falába. Apai eredetű mitokondriumok csak a spermium véletlenszerűen bejutó nyaki részével kerülhetnek a petesejtbe (Sadler, 2011). Mivel a zigótában csak a petesejtből származó mitokondriumok maradhatnak fenn,

a megtermékenyítést követően spermiumból származó mitokondriumok ubiquitin-függő mechanizmus révén degradálódnak (*Sutovsky és mtsai, 2000*).

A nukleáris DNS-sel ellentétben a mitokondriális DNS folyamatosan replikálódik, nincs a gazdasejt sejtciklusának S fázisához kötve (*Fernández-Silva és mtsai, 2003*). Osztódása és növekedése – igazolva az endoszimbionta elméletet – a baktériumok növekedéséhez hasonlít, és egy bizonyos méret elérése után kettéosztódik. Génjei csak egy kópiában vannak jelen, viszont rendkívül kompaktak, mivel nem, vagy csak rövid intronokat tartalmaznak (*Falkenberg és mtsai, 2007*). Érdekesség, hogy a mtDNS genom több mint 90%-a kódoló szekvencia (*Csaba, 1988; Tóth és Hegyesi, 2007*).

A mtDNS közel helyezkedik el a belső membrán belső felszínéhez, ahol az oxigén szabad gyökök nagyobb mennyiségben képződnek. Ennek következtében fokozottan érzékeny a mutációk kialakulására és sokkal sérülékenyebb, mint a magi DNS (*Kowaltowski és mtsai, 2009*). Ezen felül, a protektív hisztonfehérjék hiánya és a hibajavító rendszer nem megfelelő működése nagy mutációs rátát eredményez, ami a sejtmagi DNS-nél megközelítőleg tízszer nagyobb (*Kim és mtsai, 2007*). Ezen faktorok következtében a mtDNS-nek nagy az evolúciós sebessége is, ami lehetővé teszi a filogenetikai vizsgálatok felhasználására (*Ádám, 2001*).

2.6 Mitokondriális DNS markerek

Bár a mtDNS gyorsabban evolválódik, mint a nukleáris DNS, a mutációs ráta különböző az mtDNS különböző régióiban. A mtDNS ezen tulajdonsága lehetővé teszi különböző filogenetikai kapcsolatok tanulmányozását is. Elterjedt mtDNS markerek közé tartozik a citokróm oxidáz I/II (COI/II), a mitokondriális 12S rRNS, vagy a *CYTB* és a fehérjét kódoló kontroll régió (D-loop). A növényeknél a kloroplaszt génjeinek (*rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rpl16*) a vizsgálata is gyakori. A konzervált 12S RNS génje főleg a magasabb filogenetikai kategóriák – mint amilyen a törzs vagy az altörzs – közötti kapcsolatok felderítésére szolgál. A 16S RNS génjének szekvenciáit pedig a család vagy nemzetség filogenetikai jellemzőinek tanulmányozása során alkalmazzák. Velük ellentétben a mitokondriális fehérje kódoló gének még gyorsabban evolválódnak és még hatásosabb markerek az evolúciós távolságok meghatározására az alacsonyabb rendszertani kategóriákban (család, nemzetség és faj).

2.6.1 A mitokondriális kontroll régió

A másnéven D-loop-nak is nevezett régió a mitokondriális genom leginkább polimorfabb és leghosszabb nem fehérjekódoló szakasza (*Whittaker és mtsai, 2007*). Jellemzően egy kilobázis hosszú, a mtDNS replikációjában és transzkripciójában érintett. Szabályozza a mtDNS könnyű és nehéz láncainak replikációját. A gerincesekben a kontroll régiót három domén alkotja. A központi doménja egy relatív konzervált szakasz, amely tartalmazza a nehéz lánc replikációs origóját. Ezzel szemben a másik két hipervariábilis domén a HVR1, HVR2 (*Georgescu és mtsai, 2011*), melyek nagyfokú polimorfizmust mutatnak, ezáltal kiválóan alkalmazhatók a filogenetikai kutatások mellett diagnosztikai, illetve igazságügyi vizsgálatokra is (*Cothran és mtsai, 2005; Lippold és mtsai, 2011; Kanthaswamy 2015*).

2.6.2 A citokróm b (CYTB) gén

A citokróm b gén polimorfizmusait a család, nemzetség és a faj szintű evolúciós vizsgálatokban alkalmazzák. A *CYTB* gént főleg a közeli rokon taxonok, és a még alacsonyabb rendszertani kategóriák közötti kapcsolatok vizsgálatára használják. Az utóbbi években a mtDNS *CYTB* (~1,143 bp) gén szekvencia-változásának vizsgálata is fontos szerepet töltött be a származás-ellenőrzések során (*Farias és mtsai, 2001*). A *CYTB* az oxidatív foszforilációban főszerepet játszó gének egyike, továbbá az általa kódolt fehérje szerkezete és funkciója jól ismert a kutatók számára. Kitűnően alkalmazható filogenetikai vizsgálatokban (*Castresana, 2001; Farias és mtsai, 2001*).

2.7 Mitokondriális DNS vizsgálatok a lovakban

Az mtDNS-t, pontosabban annak a *CYTB* gén vagy a D-loop szekvenciájának tulajdonságait több kutatócsoport is felhasználta a háziasított, valamint az ősi lovak származási kapcsolatának igazolására (*Jansen és mtsai, 2002; Cieslak és mtsai, 2010, Priskin és mtsai, 2010*). A témában az egyik legkiemelkedőbb kutatást Jansen és mtsai végezték 2002-ben. Összesen 318 ló D-loop szakaszát határozták meg és hasonlították össze más adatbázisok eredményeivel. Egy összetett, 652 mtDNS szekvenciát felhasználó

filogenetikai hálózatot készítettek el. A mutációs ráta rávilágított, hogy egy mutáció rögzüléséhez minimum 100 ezer, maximum 350 ezer év volt szükséges. Meghatározták a ma élő házi ló kialakításában részt vevő vadló kancák minimális számát is. Eredményeik alapján tízezer évvel ezelőtt már legalább 77 mtDNS haplotípusnak léteznie kellett, a háziasítás pedig csak sokkal később kezdődhetett el.

Jansen és mtsai (2002) 652 ló teljes D-loop régiója alapján egy haplocsoport klasszifikációt is meghatároztak, mely a mai napig használatos a lovak esetében végzett filogenetikai vizsgálatokban. A publikált hét fő haplocsoportot (A-G) több alcsoportra is lehet osztani. Érdekesség, hogy az A2 csoportban főleg przewalski lovak találhatók, míg a C1 csoportba észak-európai pónik tartoztak (*Jansen és mtsai*, 2002).

Tíz évvel később, 2012-ben *Achilli és mtsai* (2012) összesen 83 modern – ázsiai, európai, közép-keleti és amerikai – lófajta teljes mtDNS genomszekvenciája alapján 18 fő haplocsoportot különítettek el (A-R). Ezen haplotípusok egy része részben átfedést mutat a Jansen által meghatározott csoportokkal (*Achilli és mtsai*, 2012).

Peng és mtsai (2015) egy egységesített, hierarchikus haplocsoport nomenklatúrát (DomeTree) dolgoztak ki különböző háziállatok – köztük lovak – számára. Lényeges különbség, hogy míg a *Jansen* (2002) és *Achilli* (2012) által leírt haplocsoportok nukleotid pozíciói a GenBank: X79547 azonosítójú referencia szekvencián alapulnak, addig a DomeTree-ben megtalálható haplocsoportok meghatározására már egy újabb referencia szekvenciát (GenBank: JN398377) használtak (*Peng és mtsai*, 2015). Az új referencia szekvencia előnye, hogy pontosabb, kevesebb hibát tartalmaz, de mivel a nukleotidpozíciók számozása eltérő a korábbi tanulmányokban használttól, így az adatok összehasonlítása nehezen kivitelezhető.

Kakoi és mtsai (2007) mtDNS vizsgálat mellett, mikroszatellita elemzéseket is végeztek őshonos japán lovakban. A mikroszatellita a nukleáris DNS 1-4 bp hosszú ismétlődő egységei, melyek gyakran 150 bp-nál is rövidebb, a genomban szétszórtnan elhelyezkedő szerkezetet képeznek. Vizsgálataikban referenciapopulációként mongol és európai tenyészetek mintáit használták. Az analízis során alkalmazott 27 mikroszatellita marker mellett a D-loop régió egy 411 bp hosszúságú szakaszát is megszekvenálták. Összesen 33 variábilis hely azonosításával 12 haplotípust azonosítottak. Munkájuk eredményeként – a mtDNS és a mikroszatellita analízisek alapján – azt lehet feltételezni, hogy az őshonos lovak az alapító mongol lovak populációiból származnak.

Következtetésként a populációk genetikai felépítése az adott területekhez köthető független tenyésztés eredménye, amit napjainkban drasztikus genetikai sodródás, úgynevezett drift kísér. A tanulmány mellett, hogy új evolúciós eredményeket ismertet, fontos szerepet tölthet be a japán lovak genetikai diverzitásának vizsgálatában, melyek a jövőbeni természetvédelmi, konzervációgenetikai intézkedéseknél játszhatnak fontos szerepet (*Kakoi és mtsai, 2007*).

Yang és mtsai (2002) a mtDNS D-loop régióját vizsgálták a cheju lovakban. Összesen 65 cheju minta vizsgálata után 17 haplotípus került megállapításra. A filogenetikai analízise után több vonal is megállapításra került (5 mongol, 6 arab, 3 belga, 2 tsushima, 2 yunnan, 1 przewalski és 3 telivér). Négy mongol ló is különálló cheju ló klaszterrel került egy csoportba, ami azt igazolhatja, hogy néhány cheju ló egyértelműen mongol eredetű. A D-loop régió részleges szekvencia elemzése (284 bp) 109 lónál azt mutatta, hogy a telivér, mongol, lipicai és arab fajták olyan változatosak, mint a cheju lovak (*Yang és mtsai, 2002*). A cheju lovak genetikai diverzitásnak egyedülállósága abban rejlik, hogy cheju egy viszonylag kis sziget Dél-Koreában, a Koreai-félszigettől ezer km-re és igazán súlyos palacknyak hatás még nem érte a vizsgált populációt (*Gupta és mtsai, 2002*).

Számos tanulmány született a mitokondriális DNS polimorfizmusainak azonosításáról, melyek elősegíthetik a veszélyeztetett fajták genetikai diverzitásának hatékony megőrzését (*Cozzi és mtsai, 2004*), 2004; *Priskin és mtsai, 2010*). *Ivanković és mtsai (2009)* például hidegvérű lovak (posavina, horvát hidegvérű, muraközi ló) D-loop régióit vizsgálták. Munkájukban 26 polimorf helyet sikerült kimutatni, melyek alapján a vizsgálatba bevont lovak harminc haplotípusba sorolhatók. Eredményeik alapján arra lehet következtetni, hogy néhány ősi anyai vonal – magas diverzitással ugyan – még mindig fennmaradt ezen lovak mtDNS szekvenciáiban. A munkájuk során kapott eredmények hatással lehetnek hidegvérű lótenyészetek génmegőrzési stratégiájára (*Ivanković és mtsai, 2009*).

Egy másik vizsgálat hét olasz tenyészet lófajtáinak a D-loop szekvenciáinak a genetikai variabilitását elemezte és eltérő földrajzi egységről származó lovak referenciaszekvenciájával hasonlította össze (*Cozzi és mtsai, 2004*). A statisztikai tesztek és a klaszteranalízis alapján megállapították, hogy egy kivételével szinte az összes olasz tenyészet két fő törzsfára osztható. Nem tisztázott az olasz populációk és más tenyészetek

közötti kapcsolat. Eredményük alapján arra következtettek, hogy az olasz tenyészetek kevert fajtái szintén ősi anyai vonalakat tartalmaznak (*Cozzi és mtsai*, 2004).

Głażewska és mtsai (2004) lengyelországi arab lovak származásellenőrzése céljából végeztek vizsgálatokat. A lovakról a legtöbb információ a méneskönyvben és a Skorkowski féle genealógiai tanulmányban található. A lovak tenyésztése egészen a 18. század elejéig nyúlik vissza, a méneskönyvi adatok 1926-ig visszamenőleg követhetők nyomon (*Iwona és mtsai*, 2007). A legtöbb ménesben többé-kevésbé pontos nyilvántartást vezettek, melyek sajnos megsemmisültek (1914-1918). Skorkowski szerkesztésével 1926-ban közzétették az első méneskönyvet (Polish Arabian Stud Book [PASB]), majd később a genealógiai vonalakat is feltérképezték. Az 1990-es évek elejéig hitelesnek tekintették mindkét kiadványt, egészen addig, amíg az egyik anyai vonallal kapcsolatban kérdések merültek fel (*Iwona és mtsai*, 2007). Összesen 458 bázispár hosszúságú szakaszt vizsgáltak a D-loop régió belül, 15 kancacsalád bevonásával. 14 különböző haplotípus elkülönítése sikerült. Két vonalnál nem voltak összhangban az eredmények a történelmi adatokkal. Nyolc haplotípus volt megfeleltethető egy-egy kancacsaládnak, a Milordka vonalnál esetleges hibáról beszélhetünk, mivel az eddigi eredmények tükrében elmondható, hogy a Milordka kancacsaládon belül két, egymástól független vonal is kialakulhatott. A Gazella vonalnál is két haplotípus kimutatása sikerült. Ennek a két kancacsalád alapítónak (Milordka és Gazella) a törzskönyvi hibái a méneskönyvben (PASB-ben) 2002-ben regisztrált kancák 11%-át érinti. Ez hasonló a lipicai lovak vizsgálatánál kapott eredményhez, ott is megfigyelhető volt a molekuláris genetikai analízis és a méneskönyv adatai között eltérés (*Kavar és mtsai*, 2002). *Głażewska és mtsai* (2004) tanulmányukban rámutatnak, hogy a tenyésztők számára hasznosak lehetnek a törzskönyvi adatok mellett az egyes vonalak molekuláris genetikai vizsgálatának az eredményei is.

Kavar és mtsai (2002) 212 lipicai kanca vizsgálatát végezték el a D-loop régió belül, 56 anyai vonalból származtak a minták, nyolc hagyományos ménesből (Lipica [Szlovénia], Piber [Ausztria], Monterotondo [Olaszország], Szilvásvárad, Bethlen [Beclean, Románia], Fogaras [Fagaras, Románia], Diakovár [Đakovo, Horvátország] és Kistapolcsány [Topolcianky, Szlovákia]). Összesen 37 haplotípus különült el – közülük 13 haplotípust már korábban leírtak – ami jól mutatja a lipicai lovak kancacsaládjainak magas fokú diverzitását, amit a lipicai lovak történelmi háttere is alátámaszt (*Kavar és mtsai*, 2002). A filogenetikai elemzést követően 25 törzskönyvi hibát azonosítottak, de

nem kizárt, hogy maradtak még fel nem fedezett hibák a méneskönyvekben. Annak ellenére, hogy bizonyos esetekben eltéréseket találtak a genetikai eredmények és a családfa vizsgálata között, a szerzők nem javasolják ennek részletesebb felülvizsgálatát, alkalmi ellenőrzéseket viszont ajánlanak a kancák random kiválasztása alapján (*Kavar és mtsai*, 2002).

Szintén figyelembe vették *Bowling és mtsai* (1985) a méneskönyveket a D-loop szakasz vizsgálatakor arab lovaknál. Az AHRA-ban (Arabian Horse Registry of America) 1908 óta vezetik a méneskönyvi információkat az amerikai arab lovakról (*Bowling és mtsai*, 1985). A fajta genetikai sokszínűségét hatvankét, random módon kiválasztott arab ló bevonásával térképezték fel (*Bowling és mtsai*, 2000; *Georgescu és mtsai*, 2011).

Őshonos lovak genetikai sokszínűségének megőrzésére irányultak *Zhang és mtsai* -nak (2009) törekvései. Tanulmányukban három őshonos nyugat-kínai lófajtát vizsgáltak a kontroll régió 600 bp-nyi hosszúságú szakaszán. A ningqiang póni, guizhou és kazakh lófajták analízise után 33 egyedi haplotípust azonosítottak 70 polimorf hellyel, tehát 11,67%-a a vizsgált nukleotidoknak polimorf hely, ez nagyfokú genetikai diverzitásra utal. A neighbour-joining filogenetikai fa 247 bp hosszú, 43 D-loop szekvencia felhasználásával készült el. A hét fő vonal jelenléte mutatja, hogy több ősi vonal játszhatott szerepet a fajták kialakulása során (*Zhang és mtsai*, 2008).

Prystupa és mtsai (2012) munkája kiemeli a mtDNS alapú molekuláris vizsgálatok jelentőségét a kanadai lópopulációk filogenetikai konzervációjában. Tanulmányuk célja az őshonos kanadai (kanadai, lac la croix, új-foundlandi és a sable szigeti) lovak anyai vonalainak genetikai diverzitásának meghatározása volt. A vizsgálatba a natív lovak mellett a populáció fejlesztésében és megfiatalításában résztvevő északi (fjord, izlandi, és shetland), hegyi és mocsári pónikat (connemara, dales, dartmoor, eriskay, exmoor, fell, highland, kerry bog, new forest, shetland és welsh), illetve vadlovat és további öt tenyésztet lovat is bevonták. Az analízis során 281 mintát használtak, amely 24 különböző populációt fedett le. A bioinformatikai vizsgálat 75 haplotípust (ebből 39 új, korábban nem publikált) és 54 polimorf helyet azonosított (*Prystupa és mtsai*, 2012). Eredményeik alapján elmondható, hogy a kanadai populációk többsége a *Jansen és mtsai* (2002) által meghatározott D haplocsoportokba tartoznak, azon belül is a D1 és D2 kládok a leggyakoribbak. A szerzők szerint a molekuláris analízis nyújtotta új ismeretek hozzájárulhatnak a tanulmányban részt vevő populációk konzervációs stratégiájához.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Mintagyűjtés

3.1.1 A gidrán fajta

Munkám során 250 kancától vett szőrminta vizsgálatát végeztük el, amelyek különböző magyarországi ménesekből származtak, nevezetesen Bakonycsérnye, Balatonalmádi, Biharkeresztes, Budapest, Csákvár, Debrecen, Győr, Gyűrűs, Lulla, Marócpusztá, Nagycsepely, Rédics, Sárkeresztes, Siklós, Tata, Tiszafüred, Zalaszentgrót.

A vizsgálat során felhasznált összes szőrminta a tenyésztő által lett tépve és jól záródó tasakokban postázva. A laboratóriumi vizsgálatok megkezdéséig nedvességtől mentesen, szobahőmérsékleten, egymástól elkülönítve, a kontaminációt elkerülve történt a tárolásuk.

A vizsgálatához a törzskönyvi nyilvántartás szerinti valamennyi, ma létező kancacsaládból sikerült a minták beszerzése:

- | | | |
|--------------------|---------------------|---------------------|
| • borodi 1-es | • mezőhegyesi 2-es | • mezőhegyesi 14-es |
| • borodi 2-es | • mezőhegyesi 3-as | • mezőhegyesi 15-ös |
| • borodi 3-as | • mezőhegyesi 4-es | • mezőhegyesi 17-es |
| • borodi 5-ös | • mezőhegyesi 5-ös | • mezőhegyesi 18-as |
| • borodi 6-os | • mezőhegyesi 6-os | • mezőhegyesi 19-es |
| • borodi 7-es | • mezőhegyesi 7-es | • mezőhegyesi 21-es |
| • borodi 14-es | • mezőhegyesi 8-as | • népies 9-es |
| • borodi 17-es | • mezőhegyesi 9-es | • népies 22-es |
| • borodi 18-as | • mezőhegyesi 11-es | • népies 23-as |
| • borodi 19-es | • mezőhegyesi 12-es | |
| • mezőhegyesi 1-es | • mezőhegyesi 13-as | |

Két mintánál (egyedi azonosító: 247G és 202G) a kancacsalád ismeretlen volt.

3.1.2 A hucul fajta

Tanulmányunkban összesen 267 hucul kancától vett szőrminta vizsgálatát végeztük el, amelyek különböző magyarországi ménesekből származtak, mégpedig Csemő, Gyűrűs, Hárskút, Izsák, Jósvafő (Aggteleki Nemzeti Park), Kisoroszi, Ólmod, Pécsely, Pénzesgyőr, Pilismarót, Rakamaz, Solt, Szigetcsép, Varbó.

Minden szőrminta a tenyésztő által lett tépve és jól záródó tasakokban postázva. A laboratóriumi vizsgálatok megkezdéséig nedvességtől mentesen, szobahőmérsékleten, egymástól elkülönítve, a kontaminációt elkerülve történt a tárolásuk.

A vizsgálathoz a törzskönyvi nyilvántartás szerint a Magyarországon ma létező legtöbb kancacsaládból sikerült a minták beszerzése:

- | | |
|---------------|--------------|
| • 17 Aglaia | • 1 Panca |
| • Árvácska | • 5 Plosca |
| • Aspiráns | • 11 Rotunda |
| • 86 Deremoxa | • 12 Sarata |
| • 882 Gelnica | • 70 Sekacka |
| • 4 Kitca | • 3 Tatarca |
| • 2 Lucina | • Wrona |
| • 90 Macocha | • Wydra |

3.1.3 NCBI adatbázisból kigyűjtött szekvenciák

Tizenhét hucul minta D-loop szekvenálását nem végeztem el. Esetükben FASTA formátumban a GenBank adatbázisból töltöttem le a korábbi eredményeket. A *Priskin és mtsai* (2010) által megállapított hucul haplocsoportok azonosítói a következők voltak: KC143336.1- KC143355.1

A bioinformatikai elemzés során 22 kiválasztott hucul haplotípust további, az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisban elérhető 35 póni, illetve kisló *CYTB*, és D-loop haplotípus szekvenciájával hasonlítottam össze. Mivel

mindkét marker szekvenciáját vizsgáltuk, így munkánk csak azokra a mintákra fókuszált, melyeknek a teljes mtDNS szekvenciája elérhető volt.

Első lépésben kiválasztottuk, majd az adatbázisból letöltöttük a minták szekvenciáit FASTA formátumban. A kigyűjtött lófajták adatait a **2. táblázat** foglalja össze. Ezt követően bioinformatikai módszerrel azonosítottuk, majd izoláltuk a korábbi analízis során is alkalmazott *CYTB* és a D-loop szakaszokat. Végül vizsgáltuk a fajták közötti genetikai kapcsolatokat, figyelembe véve a lovak geográfiai elterjedését is.

2. táblázat: Az NCBI adatbázisból felhasznált póni, illetve kisló minták adatai

Fajta	Haplotípus szám	GenBank azonosító	Földrajzi régió
Hucul	22	-	Közép-Európa
Exmoor póni	1	JN3984421	Brit szigetek
Debao póni	1	EU9394453	Észak-Ázsia
Shetland póni	1	HQ4394891	Brit szigetek
Yakut póni	5	-	Eurázsia
Mongol ló	7	AP0130931, AP0130921, AP0130911, AP0130901, AP0130891, AP0130881, AP0130871	Kelet-Ázsia
Kaszipi póni	5	JN3984471, JN3984361, JN3984281, JN3984161, JN3983781	Nyugat-Ázsia
Przewalski-ló	4	NC0240301, HQ4394841, AP0130951, AP0130941	Közép-Ázsia
Welsh póni	4	HQ4394971, HQ4394961, HQ4394991, HQ4394981	Brit szigetek
Chincoteague póni	1	JN3983772	Észak-Amerika
Konik	1	HQ4394731	Közép-Európa
Noriker	1	HQ4394801	Közép-Európa
Fjord póni	1	HQ4394631	Észak-Európa
Izlandi póni	2	HQ4394661, HQ4394651	Észak-Európa
Német lovagló póni	1	HQ4394611	Nyugat-Európa
Összesen:	57		

3.2 Mitokondriális DNS vizsgálat

3.2.1 Genomiális DNS izolálása

A genomiális DNS izolálása szőrhagymából történt a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) protokollja alapján (FAO/IAEA, 2004).

Az izolálás lépései a következők voltak:

1. 1,5 mL-es mikrocentrifuga csövekbe mintánként 3-10 szőrhagymát helyeztünk
2. a szőrhagymákhoz 100 μ L lízispuffert adtunk
3. a mintákat 60 percen keresztül 60°C-on inkubáltuk
4. további 20 percen keresztül 95°C-on inkubáltuk a mintákat, így megszüntettük a Proteináz K enzim aktivitását
5. az izolált genomiális DNS mintákat -20°C-on tároltuk későbbi felhasználásig

Lízis puffer összetevői a következők voltak:

- 100 μ L (előre elkészített) Hair puffer
- 1 μ L Proteináz K (20 mg/mL) (Promega, Madison, USA)

Hair puffer (50 mL) összetevői a következők voltak:

- 250 μ L Tween 20 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)
- 5mL 10x PCR puffer $MgCl_2$ nélkül (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- 5mL $MgCl_2$ (25 mM) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- desztillált víz 50 ml-re kiegészítve

3.2.5.1 Primertervezés

A primertervezés során a Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/>) programot használtuk. Munkánk során a ló mtDNS (GenBank azonosító: X79547) két, filogenetikai analízisre alkalmas polimorf szakaszára; a 1192 bp hosszú D-loop és a 1140 bp hosszú *CYTb* gén szakaszaira terveztünk különböző primer párokat. A tervezett hét primerpárból négy a D-loop régió, három primerpár pedig a *CYTb* egy-egy szakaszára

volt specifikus. A primerek specifikációit a **3. táblázatban** tüntettük fel, míg az általuk határolt szekvenciák az **7. ábrán** láthatók.

3. táblázat: A vizsgálat során tervezett primerek specifikációi

	Primer elnevezése	Primer szekvencia	Termék hossza
A	Dloop1_F	ACGACAACAATTTACCCTCA	961 bp
	Dloop1_R	GGGGAAGAAGGGTTGACAGA	
B	Dloop2_F	CCCCACATAACACCATAACC	883 bp
	Dloop2_R	ATCTAGGGGGGATGCCTGTCT	
C	Dloop3_F	TCAGCAACCCTCCCAACTAC	652 bp
	Dloop2_R	ATCTAGGGGGGATGCCTGTCT	
D	Dloop4_F	ACGTTATTCCTCCGCATCAG	350 bp
	Dloop2_R	ATCTAGGGGGGATGCCTGTCT	
E	Cyt1_F	TTCCACGTGGAATCTAACC	1092 bp
	Cyt1_R	GTCCGCCGATTCATGTTAGT	
F	Cyt2_F	GCATTCATGGGCTATGTCCT	643 bp
	Cyt1_R	GTCCGCCGATTCATGTTAGT	
G	Cyt3_F	TCATCATCACAGCCCTGGTA	556 bp
	Cyt3_R	ATGGTGCTTGCGAGTGGTAT	

```
>gi|577571|emb|X79547.1| Equus caballus mitochondrial DNA sequence, D-loop regio
ATTTCCTCCCTAAACGACAACAATTACCCTCATGTGCTATGTCAGTATCAGATTATACCCCACATAACACCATAACACCTGACATGCAATAT
CTTATGAATGGCCTATGTACGTCGTGCATTAAATTTGTCTGCCCATGAATAATAAGCATGTACATAATATCATTATCTTACATAAGTACATTATA
TTATTGATCGTGTCATACCCCATCCAAGTCAAATCATTTCAGTCAACACGCATATCACAGCCCATGTTCCACGAGCTTAATCACCAGCCGCGGG
AAATCAGCAACCCTCCCAACTACGTGTCCCAATCCTCGCTCCGGGCCATCCAAACGTGGGGTTTCTACAATGAAACTATACCTGGCATCTGGT
TCTTTCTTCAGGGCCATTCCCAACCAACCTCGCCATTCTTTCCCTTAAATAAGACATCTCGATGGACTAATGACTAATCAGCCCATGCTCACAC
ATAACTGTGATTTCATGCAATTGGTATCTTTTATATTGGGGATGCTATGACTAGCTATGGCCGTCAAAGGCCTGACGCGAGTCAATTAATTG
AAGCTGGACTTAAATTGAACGTTATTCCTCCGCTATGCAACCATAAGGTGTTATTTCAGTCCATGGTAGCGGGACATAGGAAACAAGTGCACCT
GTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCT
GTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCT
GTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCT
CCACATATGTACATTCAACACAATCTTGCCAAACCCCAAAACAAGACTAAACAATGCACAATCTTCATGAAGCTTAACCCCTCGCATGCCAAC
CATAATAACTCAACACACCTAACAATCTTAACAGAACTTCCCCCGCCATTAATACCAACATGCTACTTTAATCAATAAAATTTCCATAGACAG
GCATCCCCCTAGATCTAATTTTCTAAATCTGTCAACCCCTTCTTCCCC
```

```
>gi|40806321|gb|AY515159.1| Equus caballus cytochrome B (CYTB) gene
TAATCCACGTGGAATCTAACCACGACCAATGACATGAAAAATCATCGTTGATTTCAACTATAAGAACCAATGACAAACATCTGGAATCTC
ACCCACTAATTAATAATCATCAATCACTCTTTATTGACCTACCAGCCCCCTCAAACATTTTCATCATGATGAACTTCGGCTCCCTCTAGGAATCT
GCCTAATCCTCCAAATCTTAACAGGCCTATTCTAGCCATACACTACATCAGACACGACAACCTGCTTCTCATCCGCTCACTACATCTGCCGA
GACGTTAACTACGGATGAATTTTCGCTACCTCCATGCCAACGGAGCATCAATATTTTTATCTGCTCTTTCATTACGTTAGGACCGGGCTCTAC
TACGGCTCTTACACATTCCTAGAGACATGAAACATTGGAATCATCTACTTTTACAGTTATAGCTACAACGATTCATGGGCTATGTCCTACCATGA
GGCCAAATATCCTTTTGGAGCAACAGTCATCAGCAACCTCTATCAGCAATTCCCTACATCGGTACTACCTCTCGTGAAGTGAATCTGAGGTGG
ATTCTCAGTAGACAAAGCCACCTTACCCGATTTTTTGTCTTCCACTTCATCTACCTTCATCATCACAGCCCTGGTAACGTGACATTACTATTT
CTTCACGAAACAGGATCTAATAACCCCTCAGGAATCCCATCGATATGGACAAAATCCCATTCACCCATATTATACAATTAAGACATCCTAGG
ACTCTCTCTCTGATCTTGCTCCTACTAATCTAGTATTATTTCCCCCGACCTCTAGGAGACCCAGACAACTACACCCAGCTAACCTCTCAG
CACTCCCCCTCATATTAACAGAAATGTCCTTCTGTTTGGCTACGCCATCCTACGCTCCATTCCCAACAACTAGCGGGCTATTAGCCCTAAT
CCTCTCCATCCTGATCCAGCACTCATCCCAACCTCCACATATCAAAACAACGAAGCATAATATTCGGGCTCTCAGCCAAATGCGTATTCTGACT
CTTAGTGGCAGACTTACTGACACTAACATGAATCGCGGAGAGCCAGTGGAACCCCATACGTAATTATCGGCCAACTGGCCTCAATCCTCTACT
TCTCCCTAATCTCATTTTTATACCACTCGCAAGCACCATCGAAAAACAATCTCTAAAATGAAGA
```

7. ábra: A ló mtDNS D-loop és CYTB szekvenciárészletei FASTA formátumban. A színek a szekvenciával identikus primerpárokat jelölik. Munkánk további szakaszában a piros színnel kiemelt „E” primerpárt találtuk legoptimálisabbnak.

3.2.2. Gradiens Polimeráz láncreakció (PCR)

A primertervezés után gradiens (több hőfokon elvégzett) PCR reakció segítségével kiválasztottuk a legmegfelelőbb primerpárt az általunk tervezett hét primer közül.

A gradiens PCR kondíciói azonosak voltak a **3.2.3.** pontban leírtakkal, azzal a különbséggel, hogy tíz különböző primer tapadási hőmérsékletet használtunk, melyek a következők voltak:

- | | |
|-----------|-------------------------|
| 1. 55°C | 6. 61°C |
| 2. 55,9°C | 7. <u>62,4°C</u> |
| 3. 56,7°C | 8. 63,5°C |
| 4. 57,8°C | 9. 64,3°C |
| 5. 59,3°C | 10. 65°C |

3.2.3 Polimeráz láncreakció (PCR)

A gélelektroforézis során a leginkább elkülönült sávokat mutató „E” primerpárral folytattuk munkánkat, mely a *CYTB* génen belül fedett le hosszabb szakaszt:

CYTB gén:

- **14115F** 5'-TTCCCACGTGGAATCTAACC-3'
- **15206R** 5'-GTCCGCCGATTCATGTTAGT-3'

A D-loop régióon belül a *Priskin és mtsai* (2010) által alkalmazott összesen 298 bp hosszú szakaszt lefedő primerpárral dolgoztunk tovább:

D-loop régió:

- **15444F** 5'-ACCATCAACACCCAAAGCTG-3'
- **15742R** 5'-GCTGATTTCCCGCGGCTTGGTG-3' (*Priskin és mtsai*, 2010)

A primer tapadási hőmérséklet a gradiens PCR által meghatározott 62,4°C volt. A minták amplifikációja során alkalmazott PCR kondíciók:

- 95°C → 10:00 perc
 - 95°C → 0:30 perc
 - 62,4°C → 0:45 perc
 - 72°C → 0:30 perc
 - 72°C → 10:00 perc
 - 4°C → ∞
- } **35 ciklus**

A PCR amplifikáció 20 µL térfogatú reakcióelegye a következő összetevőket tartalmazta:

- 0,1 mM dNTP (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)
- 5×Colorless GoTaq Flexi puffer (Promega, Madison, USA)
- 0,75 mM MgCl₂ (Promega, Madison, USA)
- 0,125-0,125 mM reverz és forward primerből (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- 0,75 U GoTaq DNS polimeráz (Promega, Madison, USA)
- 2 µL (40–200 ng/µL) izolált ló DNS templát

Az amplifikáció a MJ Research PTC-200 Thermal Cycler (MJ Research, Watertown, MA, USA) PCR készülékkel történt.

A nukleinsavak elválasztása gél elektroforézissel: 2%-os Seakemagaróz (Lonza, USA), 1X TAE puffer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), 0,5 mg/ml Gelred (Biotium, Hayward, CA, USA) történt a termékek ellenőrzése céljából. Az eredményeket UV fény alatt ellenőriztük.

A PCR termék tisztítását a Viogene DNA/RNA Extraction 'PCR-M Clean up System' (Viogene-BioTek, Taipei, Taiwan) kittel, a gyártó utasításai alapján végeztük. A végső, tisztított PCR termék minőségét, illetve DNS koncentrációját NanoDrop ND-1000 spektrofotométer készülékkel határoztuk meg.

3.2.4 DNS szekvenálás

A minták szekvenálását az Eurofins MWG-Operon (Ebersberg, Németország) és a Macrogen Europe (Amszterdam, Hollandia) cégek végezték, szekvenáló primerként a PCR reakcióhoz is alkalmazott primerek felhasználásával.

3.2.5 Statisztikai elemzés

Az eredmények bioinformatikai értékelése során a leolvasott nukleotidok helyességét a CodonCode Aligner v. 4.2.7 (*CodonCode Corporation*, 2014) programmal ellenőriztük. A szekvenáltatás során kapott szekvenciákat, illetve az NCBI adatbázisból letöltött szekvenciákat a ClustalW (*Larkin és mtsai*, 2007) programmal hasonlítottuk össze. A nukleotid pozíciók meghatározása a GenBank adatbázisban elérhető (acc. nr.: X79547) és (acc. nr.: JN398377) referenciaszekvenciák alapján valósult meg. A standard diverzitásmutatók, úgymint a polimorf helyek, haplotípus és nukleotid diverzitás meghatározása a DnaSP5 (*Rozas és mtsai*, 2009) szoftverrel történt. Kitekéntként (outgroup) mindkét marker esetében a szamár (*Equus asinus*, NC001788) szekvenciáját használtuk.

Az NCBI adatbázisban korábban nem publikált haplocsoportok meghatározása a BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) online hasonlósági kereső programmal történt (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

A DomeTree (<http://www.dometree.org/>) haplocsoport analízist elvégeztük mind a gidrán, mind a hucul fajtánál is, a kapott törzsfák vizualizálása a DARwin for Windows szoftver (<http://darwin.cirad.fr/>) használatával történt. A DomeTree haplocsoportok nukleotidpozícióinak jelölése a referencia szekvencián (GenBank acc. nr.: JN398377) alapul.

A kancacsaládokhoz tartozó mtDNS haplotípusok, illetve a különböző kisló és póni szekvenciák genetikai viszonyainak ábrázolása median-joining hálóval, a Network 4.6.0.0. (*Bandelt és mtsai*, 1999), illetve a PopArt (<http://popart.otago.ac.nz>) programcsomagok segítségével történt. A median-joining módszer alkalmas az egymástól kis genetikai távolságra lévő egyedek, illetve haplotípusok összehasonlítására (*Bandelt és mtsai*, 1999).

A filogenetikai analíziseket a MEGA6 (*Tamura és mtsai, 2013*) programcsomagokkal végeztük el. A filogenetikai fák szerkesztése a maximum-likelihood, „legnagyobb valószínűség” algoritmus felhasználásával történt (*Hasegawa és mtsai, 1985*), emellett minden esetben „megismételhetőségi érték” (ún. bootstrap) analízist is végeztünk. A maximum likelihood módszer esetén a program az összes pozícióra kiszámítja, hogy az alkalmazott fa és helyettesítési modell mellett mi a valószínűsége annak, hogy az adott pozícióban megfigyelt variációs mintázat jöjjön létre. A teljes fa valószínűségét az egyes pozíciókra kapott valószínűségek összeszorzásával kaphatjuk meg, amit a program több fára is megnéz és végül a legideálisabbat választja ki (*Podani, 2003*).

A kapott filogenetikai fa megbízhatóságának tesztelése úramintavételezési statisztikai módszerekkel (pl. bootstrapping) történhet. Ilyen esetben a mintából újra mintát veszünk, vagyis az eredeti szekvencia-illesztésből kiindulva az egyes pozíciókat visszatevéses mintavételezéssel megkeverjük és az így kapott mesterséges szekvenciák alapján újra kiszámítjuk a törzsfát (*Podani, 2003*). A bootstrap minden esetben 1000 volt.

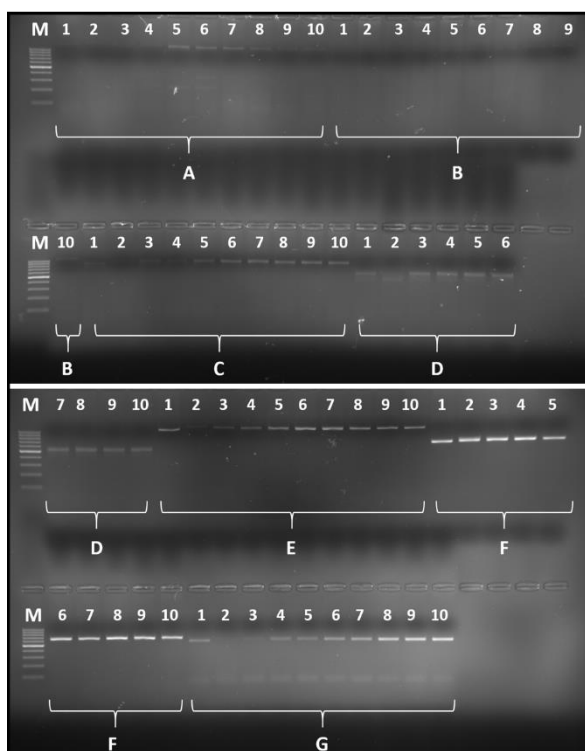
A szekvenciáknak legmegfelelőbb nukleotid szubsztitúciós modellt a jModelTest nevű programmal választottuk ki (*Posada, 2008*). Ennek megfelelően mindkét fajtánál a *CYTB* marker esetében a Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) plusz gamma, a D-loop marker esetében pedig a Tamura 3-parameter (T92) plusz gamma modelleket alkalmaztuk. A HKY plusz gamma előnye, hogy a bázisok különböző gyakoriságával számol, ellentétben a Jukes-Cantor és a Kimura modellekkel, ahol mind a négy bázis frekvenciáját azonosnak tekintik. A HKY modellben az összes tranzíció rátája azonos (*Hasegawa és mtsai, 1985*). A T92 egy matematikai módszer, amely az adott pozícióban bekövetkező nukleotidcserék számát állapítja meg két DNS szekvencia között. A módszer leginkább akkor használatos, amikor gyakori a tranzíció-transzverzió és magas a G+C-tartalom jellemző a vizsgált DNS szakaszra (*Tamura, 1992*).

4. EREDMÉNYEK

4.1 A filogenetikai vizsgálathoz alkalmazott DNS primerek meghatározása és tesztelése

A bioinformatikai analízis során tervezett mtDNS primereket több hőmérsékleten hibridizáló, úgynevezett gradiens PCR segítségével teszteltük. A munkánk során hét primerpárt (A-G) tíz hibridizációs hőmérsékleten vizsgáltunk, közülük a 62,4 °C-ot találtuk a legideálisabb primer tapadási hőmérsékletnek (8. ábra).

A primerpárok tesztelését követően, a PCR reakció optimalizálása után, a gradiens PCR eredményeként az „E” primerpárt találtuk a legmegfelelőbbnek. Az „E” és az „F” primerpárok esetében kaptuk a legkevesebb mellékterméket, és mivel az „E” primerpár hosszabb szakaszt fed le (1092 bázispár hosszú terméket fed le a mtDNS *CYTB* génben), mint az „F” primerpár, így a későbbiekben az „E” primerpár került alkalmazásra.



8. ábra: A tervezett primerpárok specifikitásának tesztelése gradiens PCR készülékkel. A képen 1 Kbp-os DNS létra (M), illetve a hét primerpár (A-G), tíz különböző hőmérsékletét (1=55°C; 2=55,9°C; 3=56,7°C; 4=57,8°C; 5=59,3°C; 6=61°C; 7=62,4°C; 8=63,5°C; 9=64,3°C; 10=65°C) jelöl.

4.1 Gidrán lovak molekuláris filogenetikai analízise

4.1.1 Diverzitás vizsgálatok

A beérkező minták közül a *CYTB* gén vizsgálatánál 250, a D-loop régiónál pedig 246 minta került értékelésre. A szekvenciák illesztését és a bioinformatikai normalizálást követően a *CYTB* génen belül 686 nukleotidnak, a D-loop régió belüli pedig 202 nukleotidnak a vizsgálata valósult meg. A diverzitásmutatókat a **4. táblázatban** foglaltuk össze, feltüntetve a vizsgált markerekre jellemző értékeket, valamint a két marker szekvenciájának összeillesztésével kapott eredményeket is.

4. táblázat: A vizsgált mtDNS markerek fő diverzitásmutatói gidrán lovak esetében

mtDNS marker	Nukleotidok száma	Egyedszám	Haplotípusok száma	Polimorf helyek	Haplotípus diverzitás $\pm$ SD	Nukleotid diverzitás $\pm$ SD
<i>CYTB</i>	686	250	24	23	0,874 $\pm$ 0,011	0,005 $\pm$ 0,001
D-loop	202	246	32	26	0,914 $\pm$ 0,008	0,021 $\pm$ 0,001
együtt*	893	242	49	-	0,940 $\pm$ 0,006	0,008 $\pm$ 0,001

*A *CYTB* és a D-loop markerek együttes alkalmazása

Mindkét mtDNS marker szekvenciaanalízise megerősítette a gidrán fajtán belüli jelentős genetikai variabilitást is. Az analízis során használt markerek nukleotid frekvenciáit az **5. táblázatban** tüntettük fel. A *CYTB* szekvenciáknál 23 variábilis pozíciót találtunk, 21 esetben SNP, két esetben pedig inszerció és delécio áll a nukleotid eltérés hátterében (6. táblázat). Ez a teljes hosszúságú, 686 bp-nyi szekvenciát figyelembe véve 3,35%-os polimorfizmust jelent. A D-loop marker valamennyivel több, 26 variábilis helyet mutatott, ami a teljes 202 bp-nyi szekvencia 12,9%-át teszi ki (7. táblázat). A polimorf nukleotidok között a 25 SNP mellett, mindössze egy inszerció/deléciót azonosítottunk. Mindkét marker szekvenciája adenin (A)/timin(T)-gazdag volt, ami a *CYTB* markernél 55%-ot, míg a D-loop-nál 64,1%-ot jelentett.

5. táblázat: A mtDNS markerek nukleotid frekvenciái a gidrán és a hucul lovakban

Nukleotidok	CYTB		D-loop	
	Hucul	Gidrán	Hucul	Gidrán
citozin (C)	24.57%	31.50%	31.63%	24.70%
timin (T)	30.90%	27.70%	27.99%	30.80%
adenin (A)	33.10%	27.30%	26.53%	33.30%
guanin (G)	11.43%	13.50%	13.85%	11.20%
A:T	64.00%	55.00%	54.52%	64.10%
C:G	36.00%	45.00%	45.48%	35.90%

6. táblázat: A 24 gidrán CYTB haplotípusok variábilis helyei. Az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat szürkével jelöltük

Polimorf helyek																							
(Gen-Bank: X79547)	14335	14352	14361	14364	14397	14409	14424	14475	14514	14550	14553	14556	14628	14653	14673	14691	14724	14736	14802	14817	14827	14886	14896
(Gen-Bank: JN398377)	14333	14350	14359	14362	14395	14407	14422	14473	14512	14548	14551	14554	14626	14651	14671	14689	14722	14734	14800	14815	14825	14884	14894
Haplotípusok	C	C	C	G	C	C	T	T	C	C	A	T	G	A	G	C	T	C	T	A	G	C	G
Ht1CYTB (n=54)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht2CYTB (n=49)	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	.	A	.	.	.	C	G	.	.	.
Ht3CYTB (n=9)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
Ht4CYTB (n=12)	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	.	A	.	.	.	C	G	A	.	.
Ht5CYTB (n=3)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht6CYTB (n=44)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Ht7CYTB (n=12)	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht8CYTB (n=5)	.	.	.	A	.	.	C	.	.	.	.	.	A	.	A	.	.	.	C	G	.	.	.
Ht9CYTB (n=14)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.
Ht10CYT B (n=5)	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Ht11CYT B (n=1)	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.
Ht12CYT B (n=11)	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.
Ht13CYT B (n=7)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	A	T	A
Ht14CYT B (n=5)	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	.	A	.	C	.	C	G	.	.	.
Ht15CYT B (n=2)	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.
Ht16CYT B (n=3)	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.

Polimorf helyek																									
(Gen-Bank: X79547)	14335	14352	14361	14364	14397	14409	14424	14475	14514	14550	14553	14556	14628	14653	14673	14691	14724	14736	14802	14817	14827	14886	14896		
(Gen-Bank: JN398377)	14333	14350	14359	14362	14395	14407	14422	14473	14512	14548	14551	14554	14626	14651	14671	14689	14722	14734	14800	14815	14825	14884	14894		
Haplotípusok	C	C	C	G	C	C	T	T	C	C	A	T	G	A	G	C	T	C	T	A	G	C	G		
Ht17CYT B (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.
Ht18CYT B (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht19CYT B (n=3)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.	.	.
Ht20CYT B (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.
Ht21CYT B (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.
Ht22CYT B (n=1)	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
Ht23CYT B (n=5)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.
Ht24CYT B (n=1)	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.

7. táblázat: A 32 gidrán D-loop haplotípusok variábilis helyei. Az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat szürkével jelöltük

Polimorf helyek																											
(GenBank azonosító: X79547)	15521	15526	15534	15538	15540	15542	15544	15585	15597	15598	15600	15601	15602	15603	15604	15615	15616	15617	15635	15649	15650	15659	15666	15667	15686	15703	
(GenBank azonosító: JN398377)	15518	15523	15531	15535	15537	15539	15541	15582	15594	15595	15597	15598	15599	15600	15601	15612	15613	15614	15632	15646	15647	15656	15663	15664	15683	15700	
Haplotípu sok	G	T	C	A	A	C	T	G	A	T	G	T	C	T	G	A	A	T	C	A	A	T	G	A	A	T	
Ht1D-loop (n=12)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht2D-loop (n=4)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht3D-loop (n=15)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	
Ht4D-loop (n=22)	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	C	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	
Ht5D-loop (n=5)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht6D-loop (n=47)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht7D-loop (n=7)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	T	.	.	.	G	.	.	.	.	C	.	.	.	C	
Ht8D-loop (n=25)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

Polimorf helyek																										
(GenBank azonosító: X79547)	15521	15526	15534	15538	15540	15542	15544	15585	15597	15598	15600	15601	15602	15603	15604	15615	15616	15617	15635	15649	15650	15659	15666	15667	15686	15703
(GenBank azonosító: JN398377)	15518	15523	15531	15535	15537	15539	15541	15582	15594	15595	15597	15598	15599	15600	15601	15612	15613	15614	15632	15646	15647	15656	15663	15664	15683	15700
Haplotípu sok	G	T	C	A	A	C	T	G	A	T	G	T	C	T	G	A	A	T	C	A	A	T	G	A	A	T
Ht9D-loop (n=8)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	.
Ht10D- loop (n=2)	.	.	.	.	.	T	.	A	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	G	.	A	.	.	C
Ht11D- loop (n=11)	.	C	.	.	G	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
Ht12D- loop (n=2)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht13D- loop (n=4)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	.
Ht14D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	G	.
Ht15D- loop (n=2)	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
Ht16D- loop (n=35)	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
Ht17D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
Ht18D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht19D- loop (n=7)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	.
Ht20D- loop (n=3)	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
Ht21D- loop (n=1)	.	.	.	G	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
Ht22D- loop (n=3)	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	C
Ht23D- loop (n=10)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	.	.	.
Ht24D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	T	.	A	G	.	.	.	T	.	.	G	.	.	T	.	G	.	A	.	.	C
Ht25D- loop (n=7)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	.
Ht26D- loop (n=2)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
Ht27D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	T	.	.	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	G	.	A	.	.	C
Ht28D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht29D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	G	.	C	.	.	.	.
Ht30D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
Ht31D- loop (n=1)	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	C
Ht32D- loop (n=3)	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Mindkét marker magas haplotípus diverzitás értékeket mutatott: $0,8735 \pm 0,011$ a *CYTB*-nél és $0,9136 \pm 0,008$ a D-loop-nál. A nukleotid diverzitás értékek is magasnak bizonyultak: $0,00472 \pm 0,00017$ (*CYTB*) és $0,02091 \pm 0,00068$ (D-loop). A haplotípusok közötti páros genetikai távolság (paired genetic distances) $0,001$ – $0,013$ (*CYTB*) és $0,005$ – $0,063$ (D-loop) volt. A filogenetikai irodalmat áttekintve megállapíthatjuk, hogy más fajokkal ellentétben (*Ali és mtsai*, 2015) a *CYTB* marker alapú vizsgálat viszonylag ritka a lovakban (*Jianxing és mtsai*, 2012; *Li és mtsai*, 2006). A tapasztalt *CYTB* nukleotid diverzitás paraméterek hasonlóak a kínai háziló adataival. A 323 kínai őshonos ló és 84, a GenBank adatbázisból kiválasztott szekvencia vizsgálatával 114 különböző haplotípust azonosítottak (*Yue és mtsai*, 2012). A nukleotid diverzitásmutató $0,005$ és $0,002$ közé tehető. Emellett a haplotípus diverzitás $0,706$ és $0,975$ közötti, ami szintén átfedést mutat az általunk tapasztalt értékekkel (gidrán: $0,874$; hucul: $0,835$) (*Yue és mtsai*, 2012). *Qin és mtsai* (2009) huszonnégy lichuan ló, 1140 bp hosszú *CYTB* szekvenciárészletét határozták meg. Hasonlóan a korábban leírt eredményekhez magas haplotípus és nukleotid diverzitás értékeket ($0,840$ és $0,048$) tapasztaltak. A vizsgálatunk során tapasztalt *CYTB* variabilitás is kiemeli a fajták genetikai sokféleségét, jóllehet a kapott haplotípus szám és a nukleotid diverzitás is alacsonyabb volt a D-loop markerhez viszonyítva.

A vizsgálatunk során megállapított D-loop haplotípus-számokat tekintve, hasonló eredmények figyelhetők meg luzitán (27 haplotípus/145 ló) (*Lopes és mtsai*, 2005), lipicai (37 haplotípus/212 ló) (*Kavar és mtsai*, 2002) arab (27 haplotípus/200 ló) (*Bowling és mtsai*, 2000) és magasabb a kiso (7 haplotípus/136 ló) (*Takasu és mtsai*, 2014) lovak esetében is. A kapott D-loop haplotípus és nukleotid diverzitások is összhangban van korábbi kutatások eredményeivel. A megfigyelt nukleotid diverzitás, nagyban megegyezik az iráni ló populáció adataival ($0,02$) (*Moridi és mtsai*, 2013). A viszonylag magas érték alapján arra lehet következtetni, hogy az általunk vizsgált magyar fajták genetikailag variábilisabbak, mint a kerry bog ($0,0155 \pm 0,0040$), a sulfur (kén) musztáng ($0,001 \pm 0,002$). Másrésről a marwari ($0,03973 \pm 0,01262$) vagy a sorraia ($0,104 \pm 0,012$) lovak genetikai struktúrája még inkább diverzebb, mint amilyen a gidrán, vagy a hucul (*Luís és mtsai*, 2006; *Prystupa és mtsai*, 2012, *Devi és mtsai*, 2013). A kapott haplotípusok szekvenciái megtalálhatók a GenBank adatbázisban az alábbi azonosítókkal: KT792934 – KT792957 és KT818891 – KT818922.

A filogenetikai analíziseket mindkét marker esetében elvégeztük külön-külön és kombinálva is. A kapott genetikai diverzitás paraméterek és a gidrán haplotípusokat a **4. táblázat** mutatja be. A 31 gidrán kancacsalád egyedei között a *CYTB* marker segítségével 24, míg a D-loop használatával 32 haplotípust sikerült elkülöníteni. Hasonló diverzitás adatokat írtak le egy korábbi hucul tanulmány során (*Kusza és mtsai*, 2013), valamint a zemaitukai lovakban is, annak ellenére, hogy történetük során mindkét fajta súlyos palacknyak-hatáson esett keresztül (*Cothran és mtsai*, 2005). A megfigyelt magas D-loop és *CYTB* haplotípus diverzitás megerősíti a tényt, hogy a gidrán több ősi anyai vonalból származik, amit alátámaszt, hogy a jelenleg ismert kancacsaládok 16 alapító kancára vezethetők vissza (*Mihók*, 2015).

A gidrán lovak filogenetikai vizsgálata során két különböző referenciaszekvenciát használtunk: *X79547* és *JN398377*. A legtöbb filogenetikai vizsgálat az *X79547* GenBank azonosítószámú, 2005-ben publikált szekvenciát használja, amely lehető teszi a D-loop haplotípusok a *Jansen és mtsai* (2002), illetve az *Achilli és mtsai* (2012) által meghatározott haplocsoportokba sorolását. A legújabb tanulmányok – mint amilyen a DomeTree adatbázis – is viszont a *JN398377* GenBank azonosítószámú referencia szekvenciát alkalmazzák a filogenetikai vizsgálatokhoz. Ez utóbbi szekvenciát 2012-ben közzétették és pontosabb, mint a *X79547* szekvencia.

A kapott gidrán haplotípusok közül egy-egy haplotípus (*Ht1_{CYTB}* és *Ht1_{D-loop}*) megegyezett a referencia szekvenciával, és a haplotípusok maximum 6 (*CYTB*) és 9 (D-loop) nukleotidban különböztek tőle.

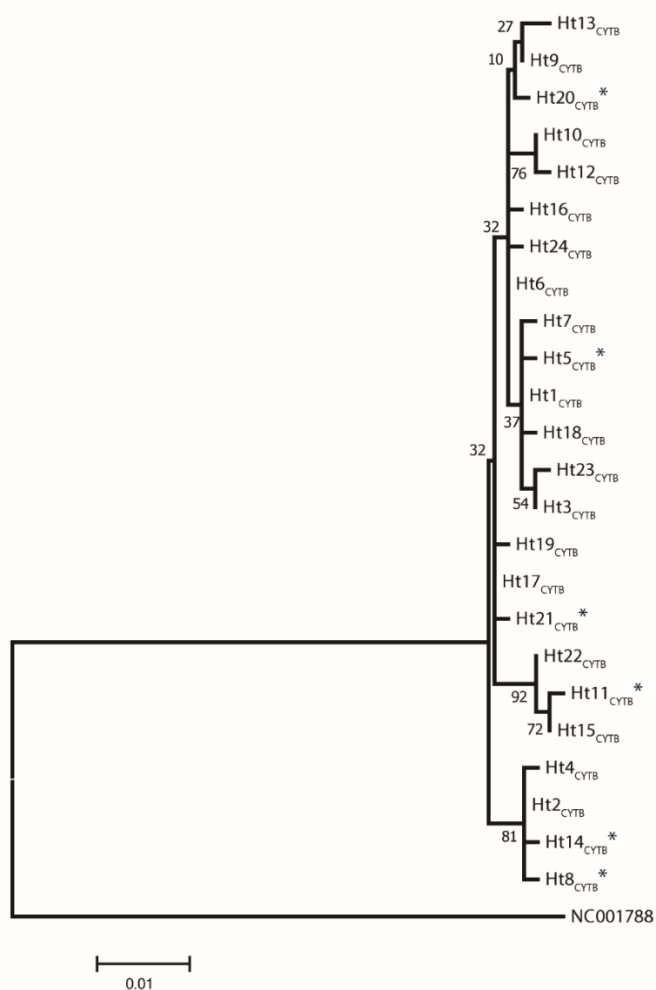
A vizsgált populációban a huszonnégy *CYTB* haplotípus közül a *Ht1_{CYTB}* (n=54), *Ht2_{CYTB}* (n=49) és a *Ht6_{CYTB}* (n=44) volt a leggyakoribb. Hét haplotípus viszont csak 1-1 egyeddel képviseltette magát *Ht11_{CYTB}*, *Ht17_{CYTB}*, *Ht18_{CYTB}*, *Ht20_{CYTB}*, *Ht21_{CYTB}*, *Ht22_{CYTB}* és *Ht24_{CYTB}*. A 250 gidrán kanca 24 haplotípusa közötti filogenetikai „maximum likelihood” törzsfán ábrázoltuk (9. ábra).

A D-loop marker esetében a leggyakoribb haplotípusok a következők voltak: *Ht6_{D-loop}* (n=47), *Ht16_{D-loop}* (n=35) and *Ht1_{D-loop}* (n=25). Tíz haplotípus viszont mindössze egy-egy állat állatra volt jellemző: *Ht14_{D-loop}*, *Ht17_{D-loop}*, *Ht18_{D-loop}*, *Ht21_{D-loop}*, *Ht24_{D-loop}*, *Ht26_{D-loop}*, *Ht28_{D-loop}*, *Ht29_{D-loop}*, *Ht30_{D-loop}*, and *Ht31_{D-loop}*.

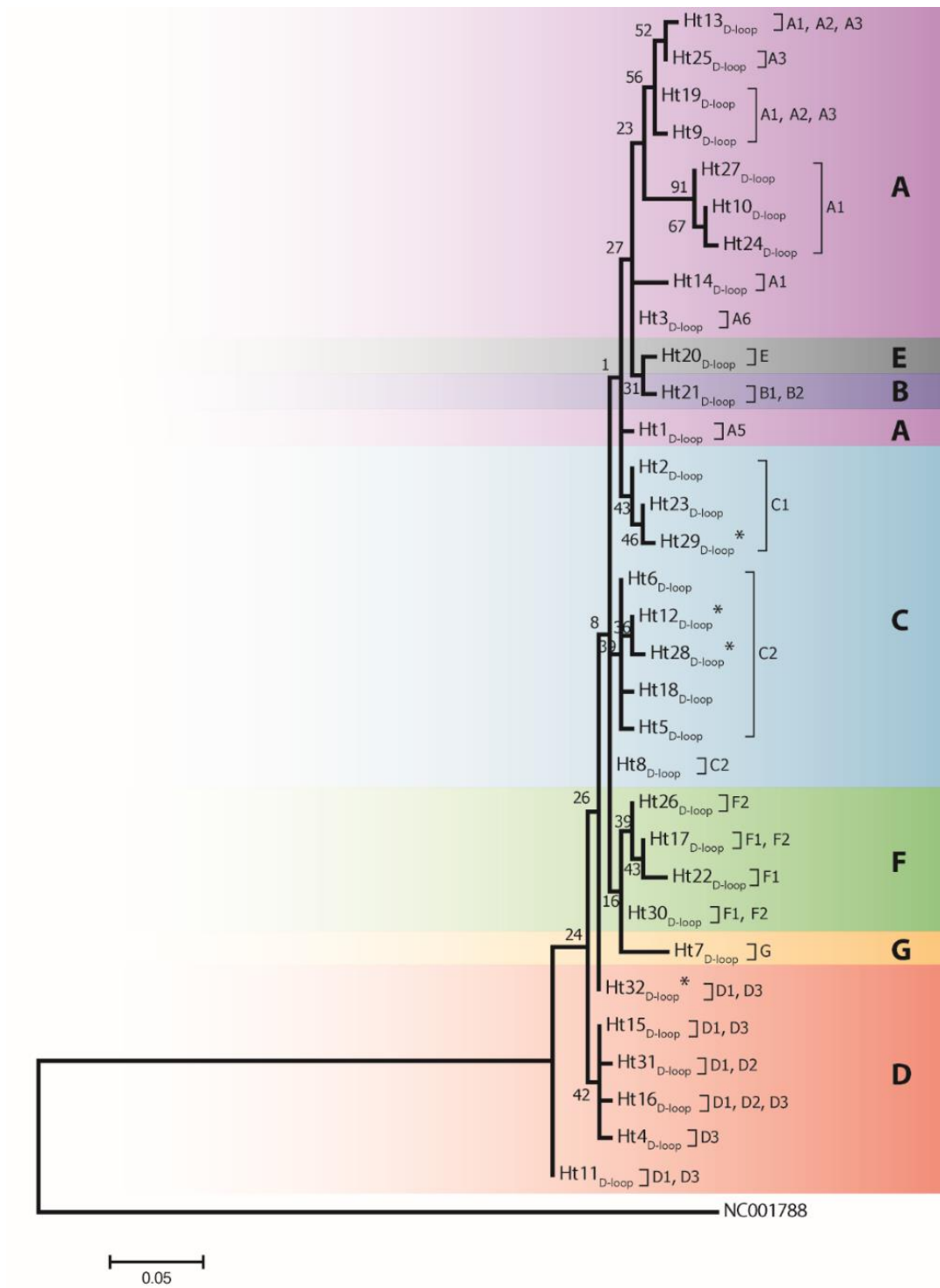
Az NCBI adatbázis szekvenciái között elvégzett BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) vizsgálat hat új *CYTB* (*Ht5_{CYTB}*, *Ht8_{CYTB}*, *Ht11_{CYTB}*, *Ht14_{CYTB}*, *Ht20_{CYTB}*,

and Ht21_{CYTB}) és négy új, eddig nem publikált D-loop (Ht12_{D-loop}, Ht28_{D-loop}, Ht29_{D-loop}, and Ht32_{D-loop}) haplotípust azonosított.

A kapott haplotípusok haplocsoport vizsgálatát is elvégeztük. A 32 D-loop haplotípus – a *Jansen és mtsai* (2002) által meghatározott – hét fő D-loop haplocsoportba sorolható, melyek eloszlása a következő volt: A: 31%, B: 3%, C: 28%, D: 19%, E: 3%, F: 13%, és G: 3% (10. ábra). Az Achilli-féle, összesen 18 haplocsoportot tartalmazó D-loop klasszifikációt figyelembe véve, mindössze az E haplocsoport nem képviseltette magát az általunk vizsgált gidrán kanca populációban.

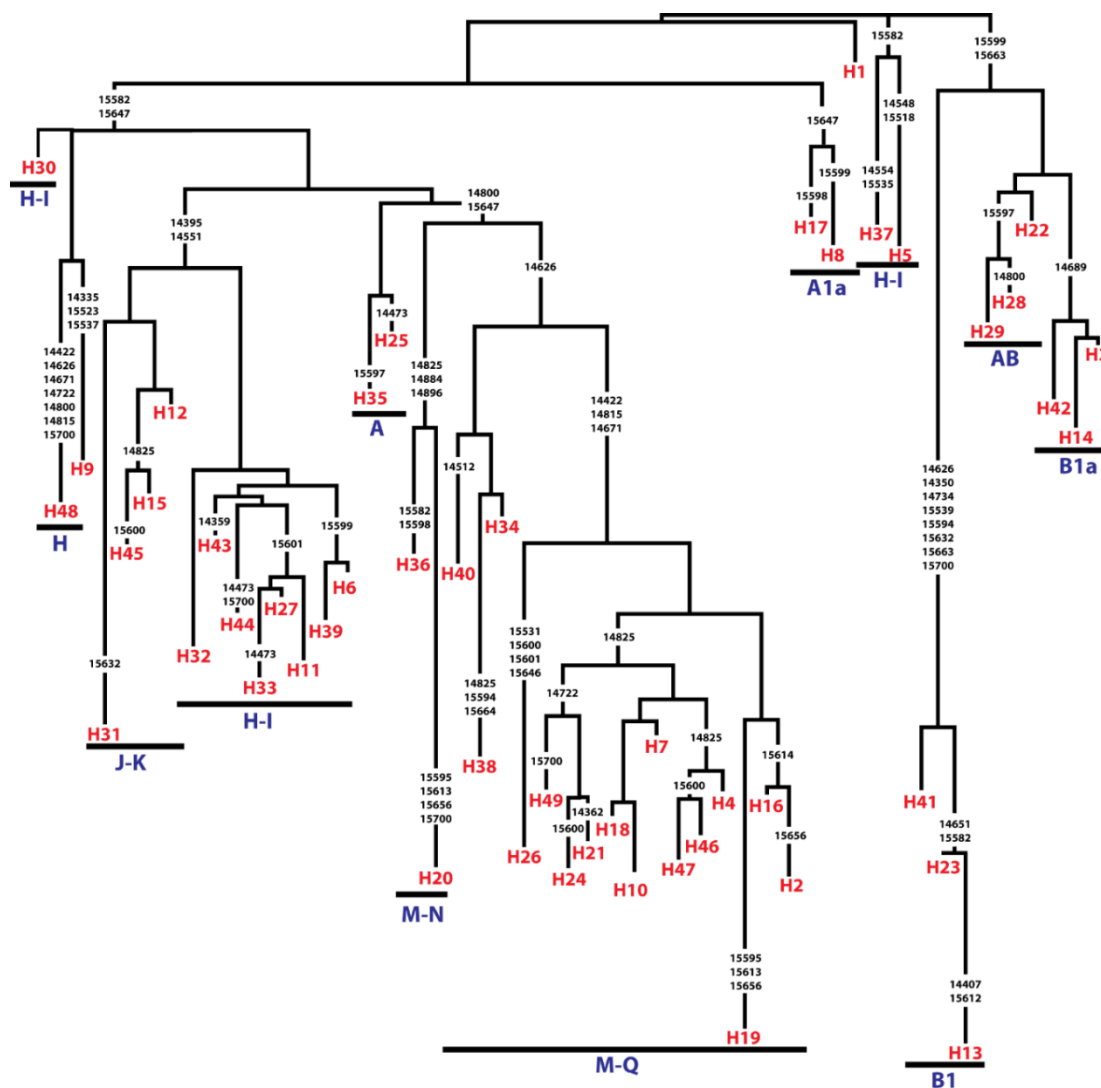


9. ábra: A *CYTB* gén haplotípusaival elkészített maximum likelihood gidrán törzsfa. Csillaggal az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat jelöltük



10. ábra: **A 246 gidrán ló, 32 D-loop haplotípusaival elkészített maximum likelihood törzsfá.** A különböző színek a *Jansen és mtsai* (2002) által meghatározott haplocsoportokat jelentik. Csillaggal az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat jelöltük

A DomeTree (Peng és mtsai, 2015) adatai alapján a kapott *CYTB* haplotípusok tíz (A1b, A-Q, B1a2, D, G1a, G1b, G3, H, H-Q és M-N), míg a D-loop haplotípusok tizenharc (A1d, A3, AB, B1, B1a, D, G, G1, G1a, H-I, I, J1, J2, K, L, O, OP, R) haplocsoportba sorolhatók. Ellentétben a többi haplocsoport klasszifikációval, a DomeTree adatbázis teljes mtDNS szekvencián és nem csak a D-loop markeren alapszik. Ebből kiindulva fontosnak tartottuk a két marker kombinációjából kapott haplocsoportok megnevezését is. Abban az esetben, ha mindkét marker polimorfizmusait figyelembe vesszük, akkor kilenc haplocsoportot kaptunk (A1, AB, H, H-I, J-K, M-N, M-Q, B1, B1a), melyet a **11. ábra** szemléltet.



11. ábra: A *CYTB* és D-loop markerek együttes alkalmazásával kapott haplotípusok csoportosítása a DomeTree adatbázis alapján

4.1.2 Kancacsaládok ellenőrzése molekuláris markerek alkalmazásával

Munkánk során a mtDNS markerek gyakorlati alkalmazását is vizsgálatuk, a méneskönyvekben esetlegesen előforduló hibák/elírások felderítésére, illetve a mtDNS analízis hatásosságának vizsgálata kancacsaládok haplotípus alapján való elkülönítésében.

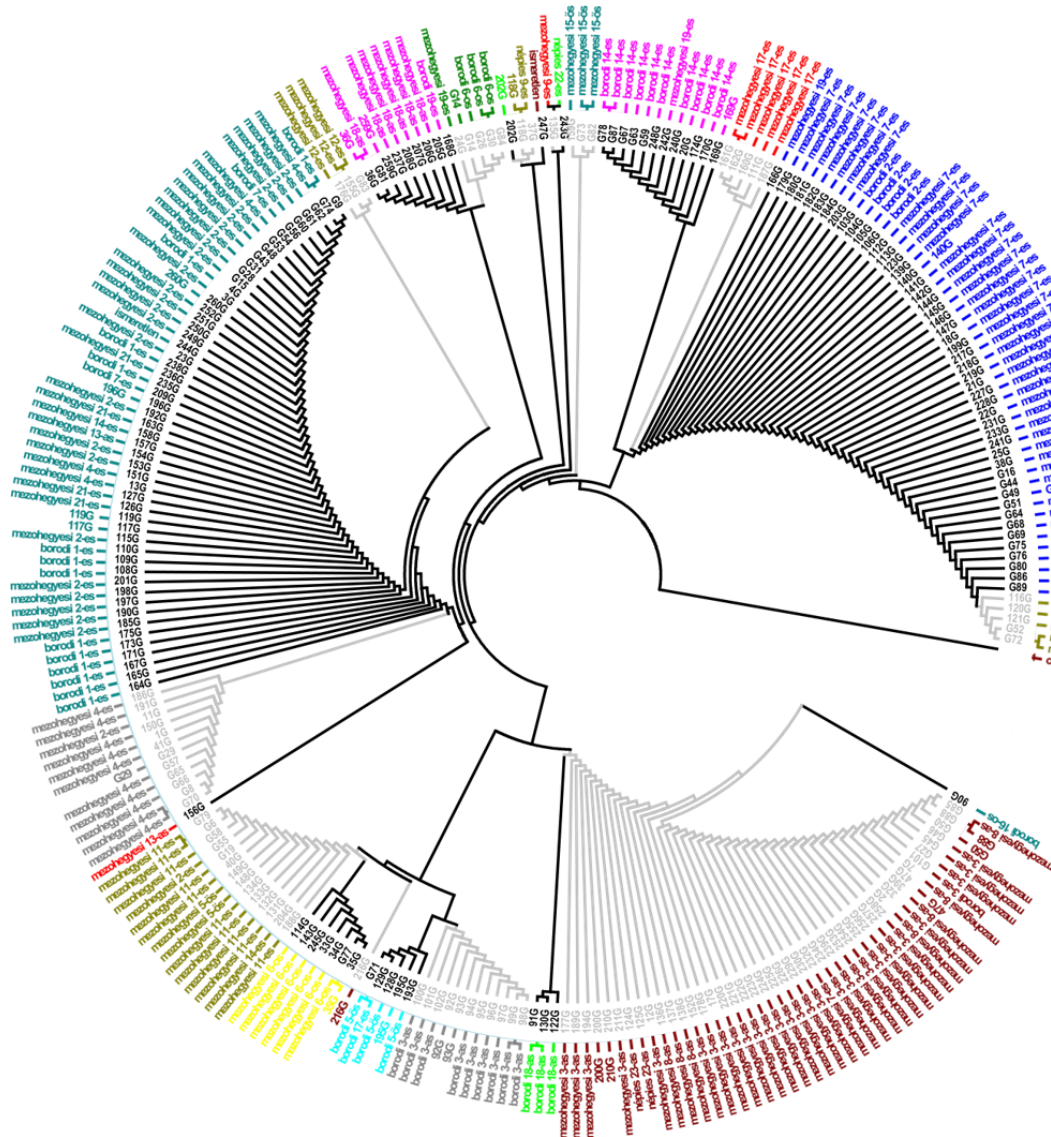
Első lépésben a vizsgált markerekre külön-külön készítettünk filogenetikai törzsfákat. A **12. ábrán** a *CYTB* gén szakaszának vizsgálata által kapott eredmények láthatók, míg a **13. ábra** a D-loop régió analízise által kapott eredményeket tartalmazza. A nagy egyedszámra való tekintettel a törzsfák kör alakban kerültek ábrázolásra. A filogenetikai fa bemutatásánál a belső körben találhatóak a minták egyedi azonosítói, mely alapján a kancák egyértelműen beazonosíthatók, a méneskönyvekben visszakereshetők. A könnyebb áttekinthetőség kedvéért a belső kör színei (szürke, fekete) jelölik a haplotípusokat. A külső köríven az egyed törzskönyvi nyilvántartás szerinti kancacsaládba sorolása látható, különböző színekkel jelöltük az egyedekhez kapcsolódó kancacsaládokat.

A harmincegy kancacsalád közül a *CYTB* marker alkalmazásával 15 (48,4%), míg a D-loop-al 17 (54,8%) haplotípus különült el. A borodi 14, borodi 18 és mezőhegyesi 1 kancacsaládok csak a *CYTB* segítségével, míg a mezőhegyesi 2, 3, 19 és borodi 2 kancacsaládok csak a D-loop-al voltak elkülöníthetők.

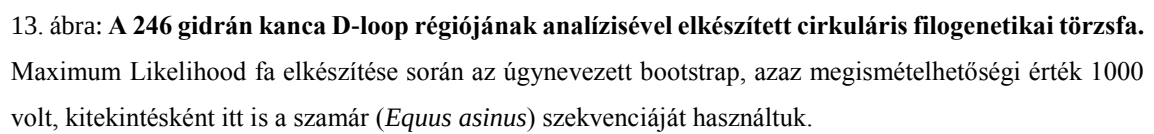
Ahogy a **12. és 13. ábrán** is látható a kancacsaládok nem feltétlenül különültek el külön haplotípusra, illetve egy-egy haplotípuson több kancacsalád is osztozik. Így a *CYTB* és a D-loop markerek kombinált alkalmazása (Pedrosa és mtsai, 2005) egy lehetséges megoldás lehet a pontosabb kancacsalád mtDNS haplotípus megállapításához. Munkánk következő szakaszában így a vizsgálatokat a markerek kombinálásával is elvégeztük. A kombinált analízis alkalmazása esetén – a nagy egyedszámra való tekintettel – a kancacsaládok haplotípusok szerinti hálózatos (network) ábrázolását találtuk legmegfelelőbbnek (14. ábra). Eredményeink alapján cirkuláris törzsfákat a továbbiakban a hucul lovak esetében nem készítettünk.

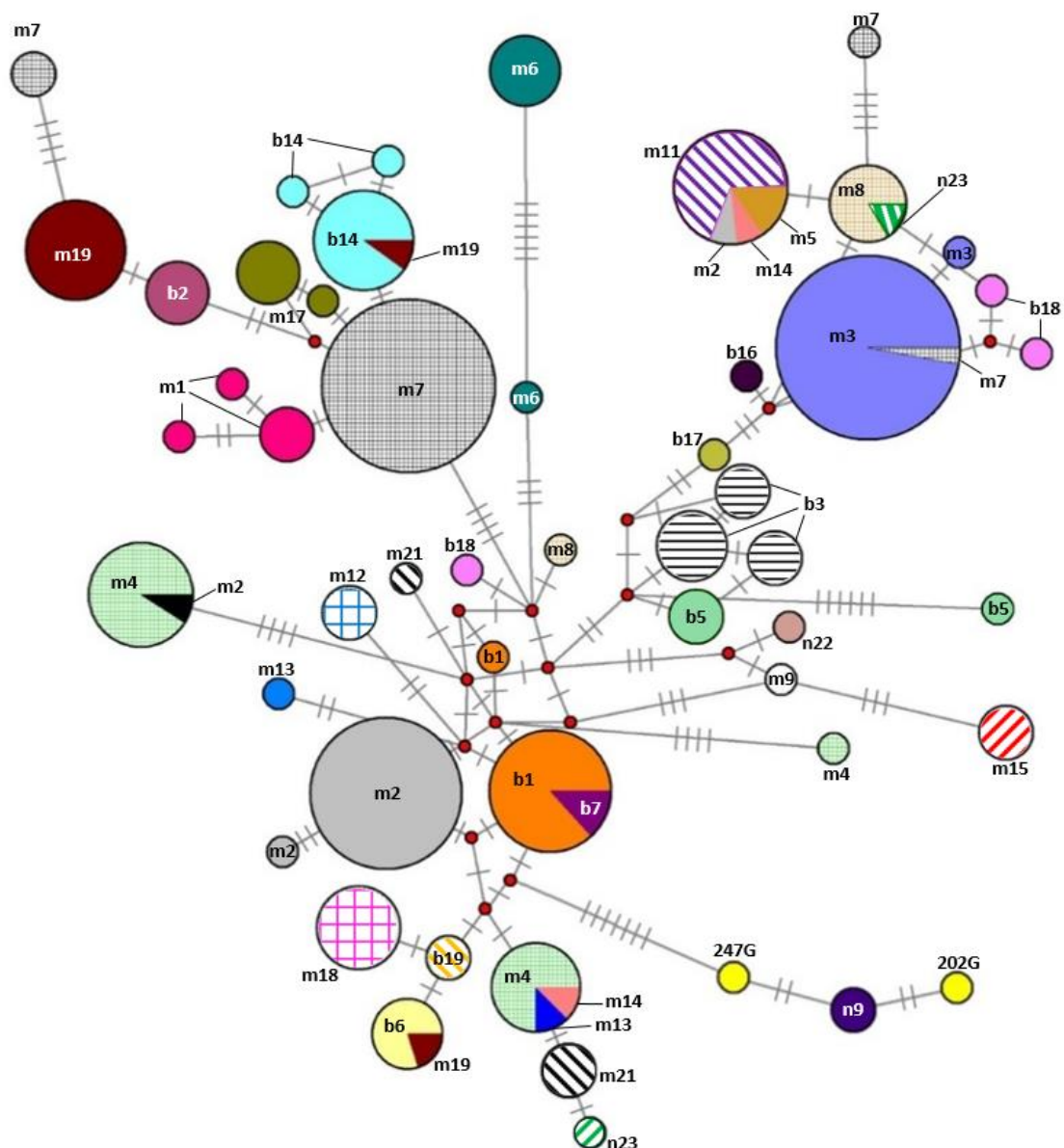
A várakozásunknak megfelelően a *CYTB* és a D-loop együttes használatával pontosabb eredményeket kaptunk, mivel további hét gidrán kancacsalád (mezőhegyesi 7, 8 és 21; borodi 5, 17, és 19; népies 23) is elkülönült. A két marker kombinációjával a borodi 1 és a borodi 7 egy közös haplotípust alkotott. Fontos megemlíteni, hogy öt

kancacsalád (mezőhegyesi 5, 11, 13, 14 és borodi 18) egyik marker használatával sem volt megfeleltethető egyértelműen egy haplotípusnak (14. ábra).



12. ábra: A 250 gidrán kanca *CYTB* szekvenciájának analizésével elkészített cirkuláris filogenetikai **törzsf**a. Maximum Likelihood fa elkészítése során az úgynevezett bootstrap, azaz megismételhetőségi érték 1000 volt, kitekintésként a számár (*Equus asinus*) szekvenciáját használtuk.





14. ábra: A *CYTB* és a D-loop markerek együttes alkalmazásával készített, összesen 242 gidrán minta szekvenciáját magába foglaló median-joining (Bandelt és mtsai, 1999) filogenetikai hálózat. A körök mérete a mintaszámot jelöli, a színek pedig különböző kancacsaládokat ábrázolnak. A polimorfizmusokat a nóduszok között merőleges vonalakkal ábrázoltuk. A kancacsalád nem ismert a sárgával jelölt 247G és 202G minták esetében. Az ábrán feltüntetett kancacsaládok rövidítése a következő: m = mezőhegyesi; b = borodi; n = népies.

Összesen 247 gidrán kanca mintánál végeztük el a lovak méneskönyv szerinti besorolásának mtDNS polimorfizmus alapú ellenőrzését. A molekuláris vizsgálat eredményeként 227 (92%) egyednél sikerült a haplotípusokat a méneskönyvben feltüntetett kancacsaládnak megfeleltetni.

Az összes egyedszámot tekintve kilenc egyednél (3,6%) mondhatjuk azt, hogy olyan haplocsoportba kerültek, melyek más kancacsaládokra jellemzőek, így valamilyen eltérésről lehet szó. Ez az arány kiválónak mondható összehasonlítva a lipicai és a lengyel lovak méneskönyveivel, ahol az eltérés 11-11% körüli (*Kavar és mtsai*, 2002). Az eltérések két-két állat esetén a mezőhegyesi 2-es, 14-es és 19-es, míg egy-egy esetben a mezőhegyesi 7-es, 13-as és a népies 23-as kancacsaládokat érintette.

A minták 1,6%-ában ugyanahhoz a haplocsoporthoz több kancacsalád is tartozott, ilyenkor nem sikerült egyértelműen megállapítani, hogy: 1.) eltérésről, 2.) közös eredetről, vagy 3.) a vizsgált marker polimorfizmusának hiányáról van szó. Következésképpen, két-két kancacsalád közös haplotípust alkotott (borodi 1-es és 7-es, illetve a mezőhegyesi 5-ös és 11-es). A borodi 7-es családba tartozó lovak nem formáltak külön haplotípust, ahogyan a mezőhegyesi 5-ös család tagjai sem. Előbbi kancák a borodi 1-essel, míg utóbbiak a mezőhegyesi 11-es család tagjaival osztoztak közös haplotípusokon. Ezek az eltérések összhangban vannak a gidrán fajta történetében leírt változásokkal (*Mihók*, 2015).

A D-loop régió vizsgálatokor több, összesen 32 haplotípus különítettünk el, így olyan kancacsaládok is feltérképezhetőkké váltak, melyeket a szimpla *CYTB* vizsgálatával nem sikerült elkülönítenünk. Ilyenek voltak a mezőhegyesi 2-es, mezőhegyesi 3-as, mezőhegyesi 19-es, borodi 2-es. Viszont egyes kancacsaládok vizsgálatánál a *CYTB* szakasz mutatkozott informatívabbnak, így a borodi 14-es, a borodi 18-as, a mezőhegyesi 1-es kancacsaládok (14. ábra) egyedei külön haplotípusba rendeződnek. A két mtDNS marker kombinált alkalmazásának jelentőségét kihangsúlyozza, hogy nyolc gidrán kancánál csak a kombinált markerek tették lehetővé a pontos kancacsaládba való besorolást, illetve a borodi 19-es kancacsalád tagjai csak ezzel a megközelítéssel váltak elkülöníthetővé.

Érdekes, hogy a mezőhegyesi 4-es kancacsalád egyedeire mindkét markernél két különböző haplotípus is jellemző volt, tehát feltételezhetően a mezőhegyesi 4-es kancacsalád két molekuláris alcsaládra bontható. A mezőhegyesi 4-es kancacsalád

egyedei kombinált, illetve egyedi módszerrel is két különböző haplotípust alkottak. Ez az eltérés is igazolható, mivel a kancacsalád később kettévált (*Mihók*, 2015). Három esetben nem volt ismert a lovak kancacsaládja, de a molekuláris vizsgálatok alapján is elkülönült haplotípust alkottak.

4.2 Hucul lovak molekuláris filogenetikai analízise

4.2.1 Diverzitás vizsgálatok

A begyűjtött hucul minták közül a *CYTB* marker vizsgálatánál összesen 265, míg a D-loop régiónál 267 mintát értékeltünk. A hucul fajta diverzitásmutatóit a **8. táblázat**ban foglaltuk össze. A két mtDNA marker értékei mellett – a gidrán lovakhoz hasonlóan – a két marker szekvenciáinak összeillesztésével kapott eredményeket is feltüntettük.

8. táblázat: A vizsgált mtDNS markerek fő diverzitásmutatói
hucul lovak esetében

mtDNS marker	Nukleoti- dok száma	Egyed- szám	Haplo- típusok száma	Polimorf helyek	Haplotípus diverzitás $\pm$ SD	Nukleotid diverzitás $\pm$ SD
CYTB	686	265	13	13	0,835 $\pm$ 0,009	0,005 $\pm$ 0,001
D-loop	202	267	22	21	0,878 $\pm$ 0,009	0,024 $\pm$ 0,001
együtt*	893	240	30	-	0,889 $\pm$ 0,01	0,009 $\pm$ 0,001

*A *CYTB* és a D-loop markerek együttes, kombinált alkalmazása

9. táblázat: A 13 hucul *CYTB* haplotípus variábilis helyei

Polimorf helyek													
(GenBank azonosító: X79547)	14352	14424	14556	14628	14653	14673	14736	14802	14805	14813	14817	14827	14910
(GenBank azonosító: JN398377)	14350	14422	14554	14626	14651	14671	14734	14800	14803	14811	14815	14825	14908
Haplotípusok	C	T	T	G	A	G	C	T	T	C	A	G	T
Ht1CYTB (n=58)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht2CYTB (n=56)	.	C	.	A	.	A	.	.	C	.	G	.	.
Ht3CYTB (n=16)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
Ht4CYTB (n=1)	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ht5CYTB (n=7)	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Ht6CYTB (n=37)	T	.	.	A	G	.	T	.	.	.	.	.	.
Ht7CYTB (n=16)	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Ht8CYTB (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C
Ht9CYTB (n=3)	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
Ht10CYTB (n=57)	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	A	.
Ht11CYTB (n=2)	.	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.
Ht12CYTB (n=1)	T	.	.	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.
Ht13CYTB (n=10)	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

10. táblázat: **A 22 hucul D-loop haplotípusok variábilis helyei.** Az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat szürkével jelöltük

Polimorf helyek																						
(GenBank azonosító: X79547)	15534	15537	15538	15542	15585	15597	15598	15601	15602	15603	15604	15615	15616	15617	15635	15649	15650	15659	15666	15667	15703	
(GenBank azonosító: JN398377)	15531	15534	15535	15539	15582	15594	15595	15598	15599	15600	15601	15612	15613	15614	15632	15646	15647	15656	15663	15664	15700	
Haplo- típusok	C	A	A	C	G	A	T	T	C	T	G	A	A	T	C	A	A	T	G	A	T	
Ht1D-loop (n=10)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht2D-loop (n=15)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	
Ht3D-loop (n=37)	.	.	.	.	A	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht4D-loop (n=38)	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
Ht5D-loop (n=62)	.	.	.	.	.	G	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	
Ht6D-loop (n=36)	.	.	.	T	A	G	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	G	.	A	.	C	
Ht7D-loop (n=11)	.	.	G	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
Ht8D-loop (n=10)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	A	.	.	
Ht9D-loop (n=17)	T	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	
Ht10D- loop (n=8)	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	.	.	
Ht11D- loop (n=3)	T	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	
Ht12D- loop (n=3)	.	.	.	.	A	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
Ht13D- loop (n=8)	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht14D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	G	.	.	T	.	A	.	.	.	T	.	.	.	.	G	C	
Ht15D-loop (n=1)	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	C	
Ht16D- loop (n=1)	.	C	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht17D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	
Ht18D- loop (n=1)	.	.	.	T	A	G	.	.	T	C	.	.	.	.	T	.	G	.	A	.	C	
Ht19D- loop (n=1)	.	.	.	.	A	.	.	C	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Ht20D- loop (n=1)	T	.	.	.	A	.	.	.	T	C	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	
Ht21D- loop (n=1)	.	.	.	T	A	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	
Ht22D- loop (n=1)	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	G	G	.	.	.	.	.	.	.	C	

A gidrán fajtához hasonlóan a hucul lovak genetikai struktúrájának feltérképezésével számos korábbi publikáció foglalkozik. Ezen tanulmányok főleg a D-loop szekvencia polimorfizmusain, vagy mikroszatellita vizsgálatokon alapulnak (Kusza és mtsai, 2013; Priskin és mtsai, 2010; Georgescu és mtsai, 2011). A *CYTB* marker jelentőségét viszont hucul lovakban még nem elemezték. A vizsgált *CYTB* szakaszban összesen 13 variábilis pozíciót azonosítottunk (9. táblázat), melyek háttérében minden esetben SNP állt. A teljes 686 bp hosszúságú szekvenciát figyelembe véve, a kapott eredmény mindössze 1,9%-os polimorfizmust jelent. Ez a szám jóval kisebb a gidrán lovakkal összehasonlítva, ami azt feltételezi, hogy a *CYTB* kevésbé informatív a hucul fajtánál. A D-loop viszont polimorfabbnak bizonyult a *CYTB*-vel szemben. A 202 bp hosszú D-loop marker 22 polimorf helyet tartalmazott (10. táblázat), ami a teljes szekvencia 10,9%-át fedi le. Ez közel megegyezik a gidránnál tapasztalt aránnyal. A polimorf nukleotidok között mindössze egy inszerció/delécio-t (indel) azonosítottunk.

A mtDNS markerek nukleotid frekvenciáit az **5. táblázat** foglalja össze. Mindkét marker szekvenciája adenin (A) / timin (T)-gazdag volt, ami a *CYTB* markernél az összes nukleotid 64%-át, míg a D-loop-nál 54,52%-át jelentette.

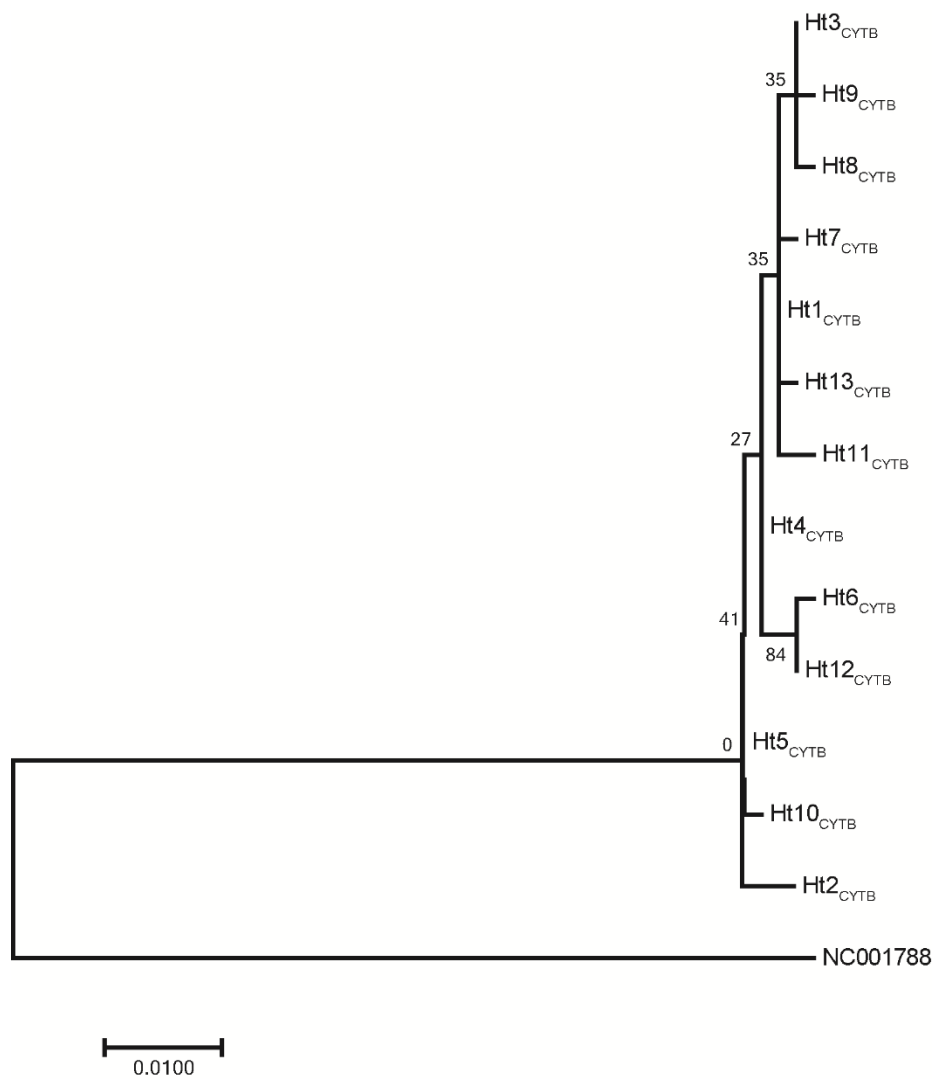
A gidránhoz hasonlóan a hucul lovaknál is magas haplotípus diverzitás értékeket tapasztaltunk: $0,835 \pm 0,009$ a *CYTB*-nél és $0,878 \pm 0,009$ a D-loop-nál. Emellett, a nukleotid diverzitás értékek szintén magasak voltak: $0,005 \pm 0,001$ (*CYTB*) és $0,024 \pm 0,001$ (D-loop). A haplotípusok közötti genetikai távolság a *CYTB* szakasznál $0,001$ – $0,013$, a D-loop régióánál pedig $0,005$ – $0,063$ volt. A vizsgálatokat a két markert kombinálva is elvégeztem (7. táblázat). Korábbi hucul tanulmányok is hasonló diverz struktúráról számolnak be annak ellenére is, hogy a fajta két ismert palacknyak-hatáson is keresztül esett (Kusza és mtsai, 2013; Priskin és mtsai, 2010).

A 31 hucul kancacsalád között a *CYTB* marker segítségével 13, míg a D-loop használatával 22 haplotípust sikerült elkülöníteni. A tizenhárom *CYTB* haplotípus közül a Ht1_{CYTB} (n=58), Ht10_{CYTB} (n=57) és a H2_{CYTB} (n=56) volt a leggyakoribb, míg a Ht4_{CYTB}, Ht8_{CYTB}, Ht12_{CYTB} haplotípusokat csak egy-egy egyed esetében azonosítottuk. A 265 hucul kanca 13 *CYTB* haplotípusa közötti kapcsolatot filogenetikai „maximum likelihood” törzsfán ábrázoltam (15. ábra).

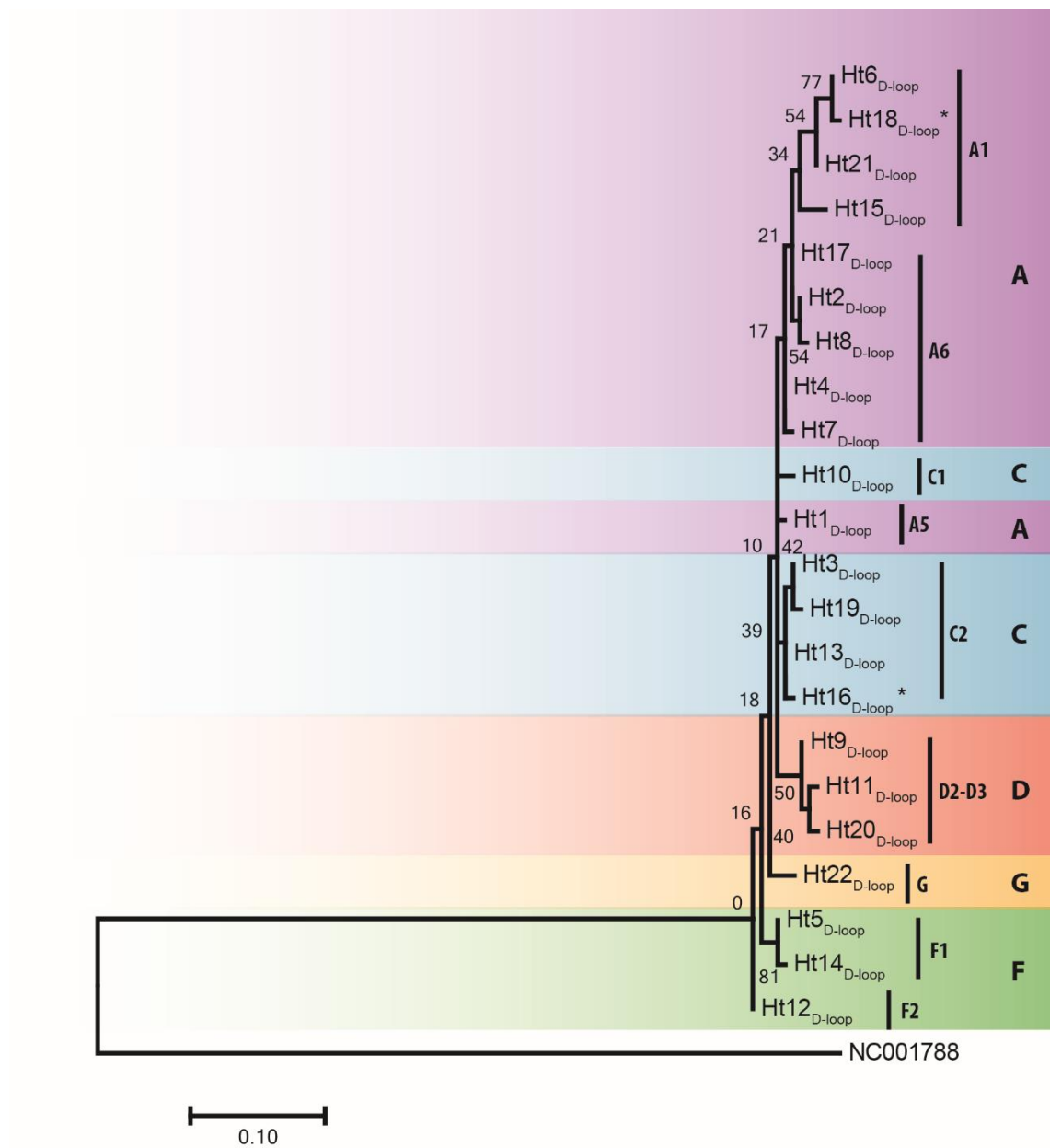
A leggyakoribb D-loop haplotípusok a következők voltak: Ht5_{D-loop} (n=62), Ht4_{D-loop} (n=38), Ht3_{D-loop} (n=37), Ht6_{D-loop} (n=36), míg kilenc haplotípus (Ht12_{D-loop}, Ht14_{D-loop}).

loop, H15_D-loop, Ht16_D-loop, Ht17_D-loop, Ht18_D-loop, Ht19_D-loop, Ht20_D-loop, Ht21_D-loop, Ht22_D-loop csak egy-egy állatra volt jellemző.

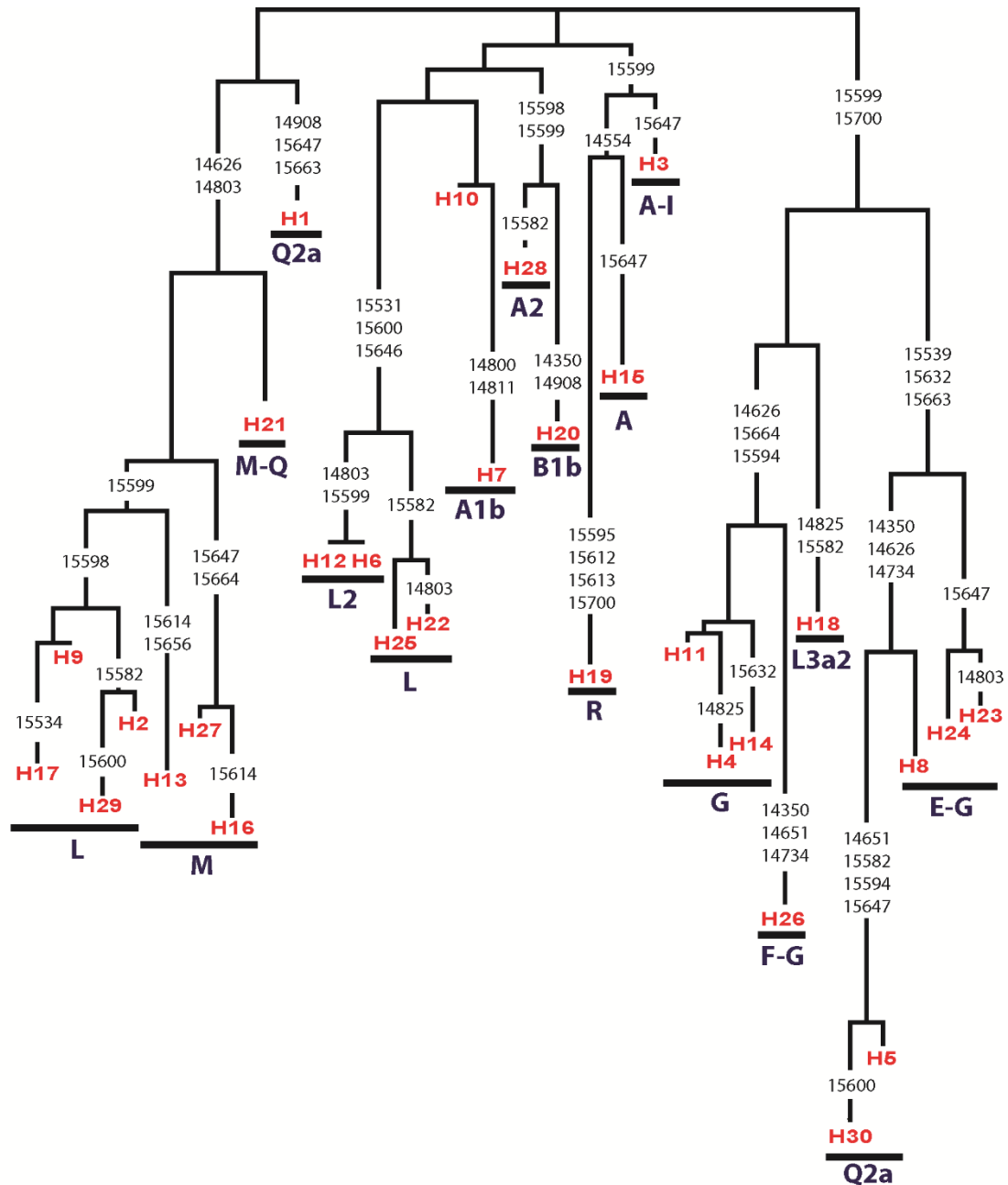
A 22 D-loop haplotípus öt fő D-loop haplocsoportba sorolható: A: 45%, C: 23%, D: 14%, F: 14%, és G: 5% (16. ábra). Megállapíthatjuk, hogy az „A” haplocsoport domináló a hucul lovakban, a *Kusza és mtsai* (2013) által vizsgált 71 hucul egyed között szintén ez a haplocsoport volt a leggyakoribb *Jansen és mtsai* (2002) közleménye kitér arra, hogy – hucul egyik legközelebbi rokona – a przewalski lovak főként az általuk megállapított „A” haplocsoportba, azon belül a 2-es alcsoportba tartoznak. Így a kapott eredmények tovább erősítik ezt a kapcsolatot a fajták között.



15. ábra: A *CYTb* gén haplotípusaival elkészített maximum likelihood hucul törzsfa



16. ábra: A D-loop régió haplotípusaival elkészített maximum likelihood hucul törzsfá. Csillaggal az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat jelöltük.



17. ábra: A *CYTB* és D-loop markerek kombinációjával kapott haplotípusok csoportosítása a DomeTree adatbázis alapján.

Az Achilli-féle D-loop haplocsoportokat figyelembe véve (Achilli és mtsai, 2012) a vizsgált hucul kancák kilenc (A1; A'B'C'D'; E'F'G'; I; L; M; N; O; R) haplocsoportra különültek el. Mivel a DomeTree adatbázisban leírt ló haplocsoportok rendszerezése a teljes mtDNS genom polimorfizmusait veszi figyelembe (Peng és mtsai, 2015), így jelen dolgozat esetében a pontosabb eredmények érdekében a haplocsoportok meghatározása a *CYTB* és a D-loop markerek kombinációján alapult. A DomeTree szerinti csoportosítás

alapján pedig összesen 15 (A; A1b; A2; A-I; B1b; E-G; F-G; G; L; L2; L3a2; M; M-Q; Q2a; R) különböző haplocsoport különült el (17. ábra).

4.2.2 A hucul CYTB és D-loop haplotípusok összehasonlítása további póni, illetve kisló haplotípusokkal

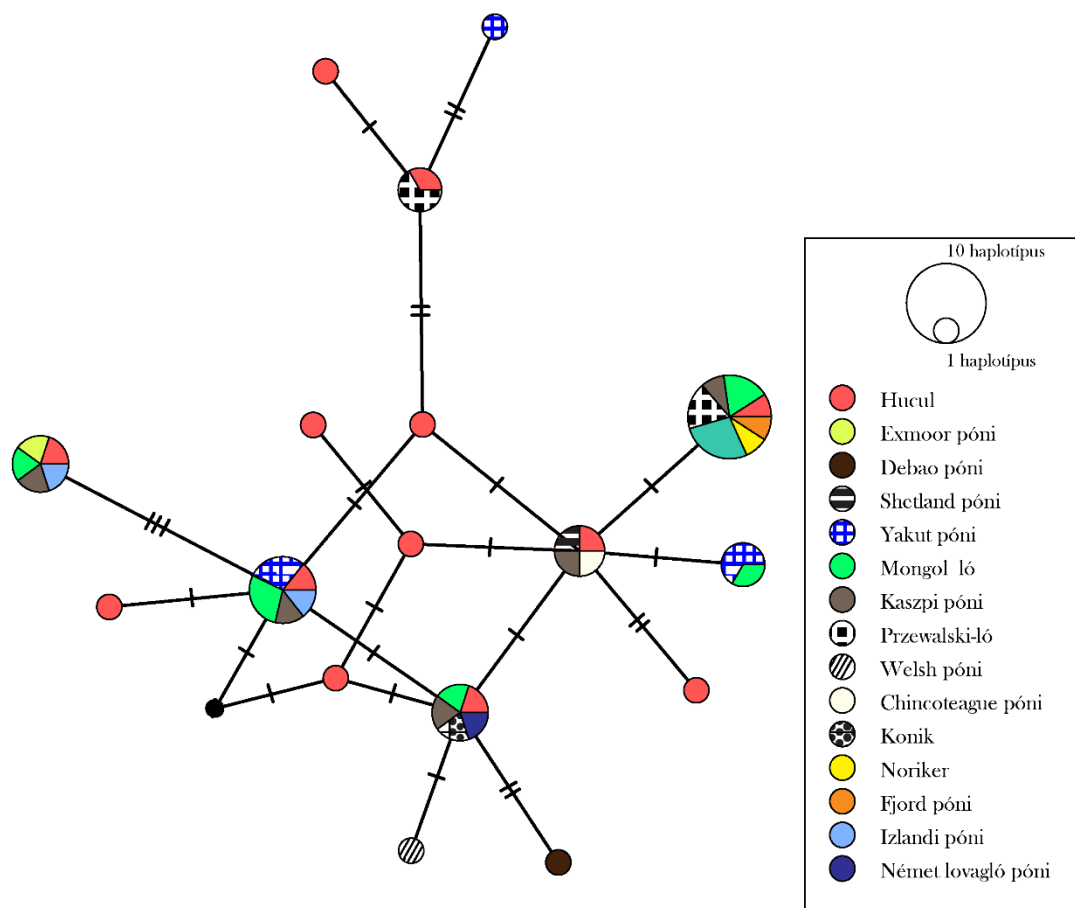
A munkánk során kapott hucul haplotípusokat bioinformatikai analízis során különböző földrajzi területekről származó lovak haplotípusaival hasonlítottuk össze (18. ábra). Vizsgálataink fő célja a hucul kancák genetikai diverzitásának összehasonlítása különböző földrajzi területen élő póni, illetve kisló fajták között.



18. ábra: A bioinformatikai vizsgálatokba bevont póni, illetve kisló szekvenciák származási helyei. A földrajzi lokalizáció vizualizálása a PopArt (<http://popart.otago.ac.nz>) program segítségével történt.

A megbízható eredmények érdekében, összesen 35 minta került kiválasztásra, amelyeknek elérhető volt mind a CYTB, mind a D-loop szekvenciája. A kigyűjtött minták GenBank azonosítóit, illetve földrajzi lokalizációjukat a **2. táblázatban** foglaltuk össze.

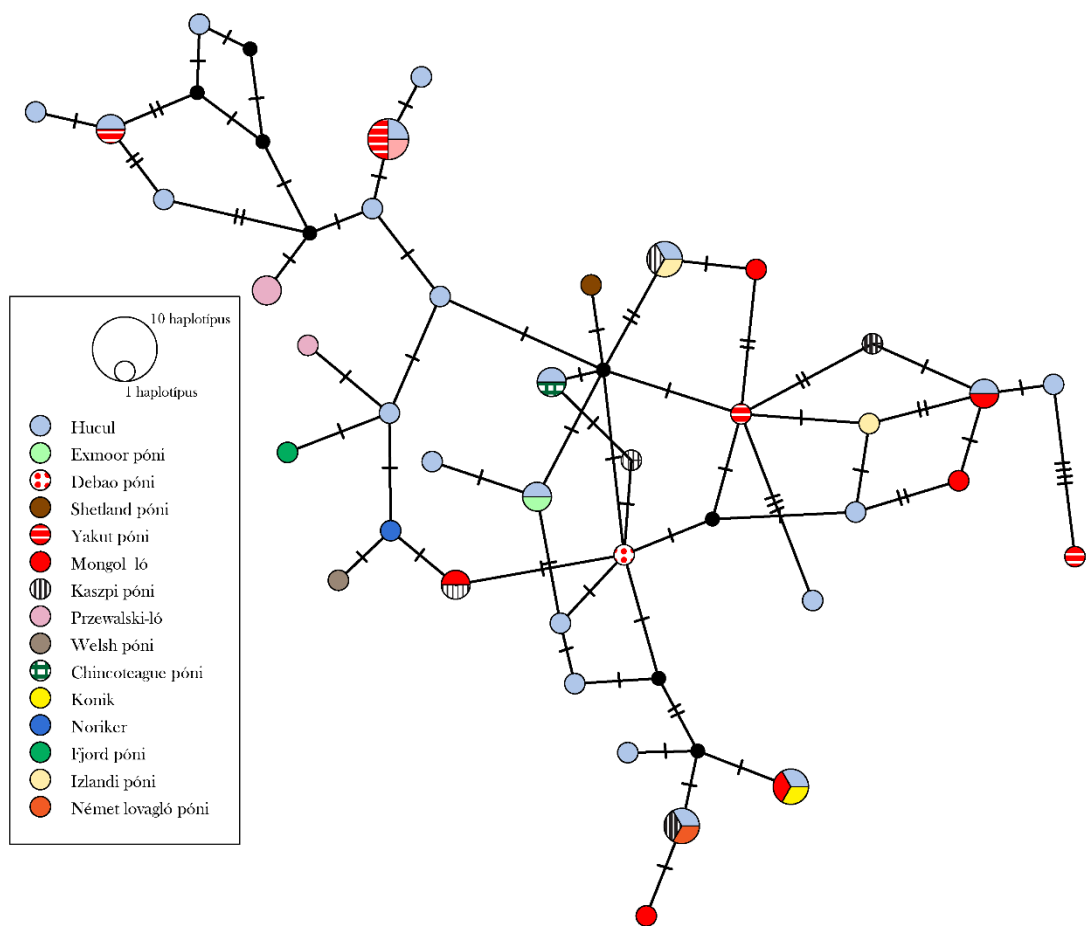
Fontos megemlíteni, hogy a vizsgált minták esetében a teljes mtDNS genom szekvenciája elérhető az NCBI adatbázisban.



19. ábra: A bioinformatikai vizsgálatokba bevont póni, illetve kisló minták *CYTb* haplotípusainak megoszlása. A haplotípus hálózat vizualizálása a PopArt (<http://popart.otago.ac.nz>) program segítségével történt.

Eredményeink alapján arra lehet következtetni, hogy a vizsgálatba bevont magyarországi hucul kancák genetikai struktúrája igen sokszínű, összevetve a rendelkezésre álló póni és kisló fajták adataival.

Hat hucul *CYTb* haplotípus – a debao és a welsh pónikat kivéve – a yakut, shetlandi, przewalski-ló, mongol, kaszpi, chincoteague, exmoor, konik, noriker, fjord, izlandi, német lovagló pónival alkotott közös csoportot, míg hét haplotípus egyedi csoportot alkotott. Eredményeinket a **19. ábra** is szemlélteti.



20. ábra: A bioinformatikai vizsgálatokba bevont póni, illetve kisló minták D-loop haplotípusainak megoszlása. A haplotípus hálózat vizualizálása a PopArt (<http://popart.otago.ac.nz>) program segítségével történt.

A hucul lovak esetében összesen nyolc D-loop haplotípus formált közös haplotípust a yakut, mongol, kaszpi, welsh, chincoteague, exmoor, konik, német lovagló pónival, míg 14 esetben különálló csoportot formáltak (20. ábra).

A kapott eredmények alapján látható, hogy az alkalmazott mtDNS markerek – polimorf voltak miatt – hatásosan alkalmazhatók az adott faján belüli genetikai struktúra feltérképezésére, de akár kancacsaládok, leszármazottsági vonalak elkülönítésére is. Másrészt, nem alkalmasak az állatok földrajzi élőhelye szerinti elkülönítésére.

4.2.3 Kancacsaládok ellenőrzése molekuláris markerek alkalmazásával

A kancacsaládok és haplotípusok mtDNS vizsgálatát összesen 240 kancán végeztük el, mely 19 *Priskin és mtsai* (2010) által vizsgált hucul kanca adatait is tartalmazta (12. táblázat).

A mtDNS analízis 187 (78%) egyednél egyértelműen a méneskönyvvel egyező eredményt mutatott. A magyarországi hucul kancacsaládok közül az aggteleki Aspiráns és Árvácska egyedei alkotják a két legnépesebb családot, továbbá a lucsinai eredetű 12 Sarata és 4 Kitca kancacsalád mérete is számottevőnek mondható. Az elvégzett molekuláris vizsgálatok alapján ezen egyedek jól elkülönült, kancacsalád-specifikus haplotípusokat formálnak. A lehetséges elírások mellett fontos kiemelni, hogy az Aspiráns család esetében minden vizsgált egyed azonos haplotípusokba került.

Lehetséges méneskönyvi eltérésről 30 kancánál (12,5%) beszélhetünk. Ilyenkor a fent említett családokba tartozó egyedek a kombinált markerek alkalmazása esetén sem alkottak a közös haplotípust a méneskönyvben leírt kancacsalád többi tagjával. A nagyméretű populációknak köszönhetően nem meglepő, hogy a legtöbb ilyen eltérés az Árvácska (6), 4 Kitca (5), 12 Sarata (5) családban fordult elő. Az összehasonlítás során azt tapasztaltuk, hogy a szlovákiai népies tenyésztésből kialakult 882 Gelnica családban is előfordul három elírás, ami az egyedszámokhoz viszonyítva jelentősnek mondható. Továbbá a Wrona, 5 Plosca, 3 Tatarca, 2 Lucina, 17 Aglaia, 11 Rotunda és az 1 Panca családoknál 1-1 kanca besorolásában merült fel a hiba lehetősége (12. táblázat). Ezen sok egyedből álló családokra – a genetikai egyensúly fenntartása végett – nagyobb szelekciós nyomást kell kifejteni.

Huszonnégy esetben (10%) egy-egy haplotípushoz több kancacsalád is tartozott. Nyolc esetben az 5 Plosca családba tartozó egyedek az Aspiránsokkal alkottak közös haplotípust. Ezek az eredmények a két kancacsalád közös eredetét valószínűsíthetik.

Ellentétben a nagy létszámú kancacsaládokkal, a kevesebb egyedszámú családokra kisebb szelekciós nyomást kell gyakorolni. Hét kanca pedig a 3 Tatarca, 70 Sekacka és a Wydra család egyedeivel alkotott közös haplotípust. Kilenc lónál pedig a 4 Kitca és a 17 Aglaia szintén közös haplotípuson osztozott. A lecsökkent egyedszám miatt, a hucul kancacsaládok közül a lucsinai 3 Tatarca helyzete veszélyeztetettnek mondható. Eredményeink alapján 3 Tatarca család tagjai mtDNS-ük alapján nem alkottak külön haplotípust, hanem a Lengyelországban meghonosodott, egyébként magyar eredetű

Wydra és a szlovákiai eredetű Sekacka lovakkal osztoztak közös haplotípuson. Fontos kiemelnünk, hogy utóbbi lovak közül négy egyednél feltételezhetünk méneskönyvi eltérést. Két esetben a méneskönyv szerinti kancacsalád az Árvácska volt, viszont a molekuláris vizsgálat alapján az állatok közös haplotípust alkottak 4 Kitca és 17 Aglaia családba tartozó lovakkal. Ugyancsak ezen két család egyedeivel alkotott közös haplotípust egy-egy a méneskönyv szerint a 2 Lucina, illetve a 882 Gelnica családba tartozó kanca. E két család magyarországi egyedszámának a növelése is fontos, de nem lehetetlen, mivel Szlovákiában és Lengyelországban is megfelelő egyedszámban fordulnak elő (Mihók, 2014a). A mtDNS eredmények is igazolják, hogy Magyarországon a 3 Tatarca mellett a Wydra és a Sekacka kancacsalád tagjai is kiemelt figyelmet érdemelnek.

Vizsgálatunkban nyolc kancánál (3%) nem volt ismert a méneskönyv szerinti kancacsalád, de a mtDNS analízis sikeresen meghatározta. Egyedi, a többi kancacsaládtól elkülönülő haplotípus két kancánál volt megfigyelhető (5 Plosca, Wrona). Annak ellenére, hogy négy (825 Agla, 84 Polónia, 90 Macocha, Bajkalka) kancacsaládból is csak egy-egy minta állt rendelkezésünkre, mind a négy család egyedei elkülönült haplotípust alkottak.

A mtDNS haplotípusok és a méneskönyvi kancacsaládok összehasonlítását Priskin és mtsai (2010) által publikált 19 hucul kanca mintán is elvégeztük, melyek a kevésbé gyakori (5 Plosca, 825 Agla, 84 Polónia, Bajkalka, Bukovina, Wolga) kancacsaládokat is képviselték. A vizsgálat célja a kombinált (CYTB – D-loop) markerek alkalmasságának és hatékonyságának tesztelése volt (11. táblázat).

Tizenhárom egyednél (68%) a kombinált markerekkel meghatározott haplocsoportjaink megegyeztek a Priskin és mtsai (2010) által kapott eredményekkel. A 84 Polonia családba tartozó egyed a kombinált módszerrel a többi mintától elkülönülve, egyedi haplotípust alkotott.

Négy mintánál a kombinált markerek alkalmazása bizonyult hatásosabbnak a kancacsaládok haplotípusokkal való társítására. Két – a Bukovina kancacsaládba tartozó – egyed elkülönült haplotípust alkotott. Továbbá egy-egy – a 825 Agla és a Bajkalka családból – szintén elkülönült haplotípust alkotott. Ezek a lovak Priskin tanulmányában a szimpla D-loop marker használatával egy közös „825 Agla/Lucina/Bukovina” haplocsoportot formáltak. A kombinált analízis pontosságát kiemeli, hogy a

vizsgálatunkba bevont 2 Lucina lovak haplotípusa nem mutatott átfedést ezekkel a mintákkal.

Míg Priskin vizsgálatában a 5 Plosca családba tartozó „*Hroby Bolyhos*” elkülönült haplotípust alkotott, addig a mi eredményeink alapján az Aspiráns lovak egy részével alkotott közös haplotípust.

11. táblázat: A kombinált markerek és a *Priskin és mtsai (2010)* által alkalmazott D-loop marker alapján meghatározott kancacsaládok összehasonlítása a méneskönyvi adatokkal

Ló neve	Ménestkönyv szerinti kancacsalád	Priskin és mtsai (2010) által D-loop marker alapján meghatározott kancacsalád	Kombinált CYTB és D-loop markerek alapján meghatározott kancacsalád
Pietrosu X-14 (Tarpán)	12 Sarata	12 Sarata	12 Sarata
34 Hroby VI-3	17 Aglaia	17 Aglaia	17 Aglaia
730 Hroby XII-26	17 Aglaia	17 Aglaia	17 Aglaia
677 Hroby Grad	17 Aglaia	17 Aglaia	17 Aglaia
Ousor IX 32	4 Kitca	4 Kitca	4 Kitca
Prislop X-64	4 Kitca	12 Sarata	12 Sarata
Goral XIX-40	4 Kitca	4 Kitca	4 Kitca
677 Prislop -8	825 Agla	825 Agla/Lucina/Bukovina	egyedi haplotípus
Gurgul Castor HL	84 Polónia	84 Polónia	egyedi haplotípus
655 Ousor III-13	86 Deremoxa	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Hroby XXII-35	86 Deremoxa	4 Kitca	4 Kitca
Pietrosu XI-8	86 Deremoxa	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Félös VI-15	Aspiráns	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Bryf HL	Bajkalka	Pasztuszká	egyedi haplotípus
568 Goral XIII-12	Bukovina	825 Agla/Lucina/Bukovina	Bukovina
514 Goral XIV-14	Bukovina	825 Agla/Lucina/Bukovina	Bukovina
Hroby Orsó HL	Wolga	4 Kitca	4 Kitca
Polan Picur	1 Panca	17 Aglaia	1 Panca
Hroby Bolyhos	5 Plosca	5 Plosca	Aspiráns, 5 Plosca

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A háziállatok biodiverzitásának megőrzése érdekében a hatásos konzervációs stratégiák kidolgozása kiemelten fontos, ami különösen igaz az őshonos gidrán és hucul fajtákra is. A genetikai sokféleség fenntartásnak első lépései lehetnek: a méneskönyv adatainak ellenőrzése, a fajtáknak DNS alapú filogenetikai feltérképezése, a tenyésztési programok hatékonyságának növelése az eredmények tükrében.

Munkám első szakaszában a vizsgált kancapopulációk genetikai struktúrájának vizsgálatát végeztem el. Munkám során két, a molekuláris filogenetikai kutatásokban más fajoknál/fajtáknál is gyakran használt *CYTB* és D-loop mitokondriális DNS markereket alkalmaztam. Az analízis pontosságát kihangsúlyozza, hogy vizsgálatom a magyarországi gidrán, illetve hucul kancá populációk megközelítőleg 90%-át lefedi. Kutatásom célja volt a hagyományos magyar lófajták genetikai sokszínűségének feltérképezése. A bioinformatikai analízis során tapasztalt *CYTB* és D-loop mtDNS haplotípusok száma, valamint a szekvencia polimorfizmusok eloszlása is bizonyította a diverzitást.

A fajták génmegőrzésének fontosságát tovább hangsúlyozza, hogy a GenBank adatbázisban publikált szekvenciákkal összehasonlítva, a gidrán hat egyedi *CYTB* és öt egyedi D-loop, míg a hucul két egyedi D-loop, korábban nem publikált haplotípussal rendelkezik. Ezért a genetikai diverzitás megőrzése érdekében a tenyésztőknek fontos az egyedi haplotípusú gidrán és hucul kancákat kiemelt figyelemmel kezelni.

Az aktív és pontos tenyésztői munka eredményeképpen máig fenntarthatónak bizonyult, de a fajta genetikai sokszínűségének megmaradásához, a génmegőrzés szabályai szerinti tudatos tenyésztéshez okvetlenül szükséges a kancacsaládok pontos ismerete. A méneskönyv-vezetés az idők során sok változáson ment keresztül, ami felveti a pontosítás szükségességét. A fajta fenntartása – a genetikai diverzitás maximális őrzése mellett – ugyan nemzeti keretek között, de nemzetközi integrációban történik. Munkám során fokozott figyelmet szenteltem a kancacsaládok között átfedést mutató haplotípusok azonosítására, és a méneskönyv vezetésében előforduló esetleges hibák vagy elírások felderítésére. Megállapítottam, hogy erre a célra a *CYTB* és a D-loop marker is csak bizonyos, a nagy egyedszámú haplotípusoknál/kancacsaládoknál volt kellően eredményes. Hogy növeljem a filogenetikai analízis, illetve a haplotípus – kancacsalád korreláció szenzitivitását, a két marker kombinált analízisét mindkét fajta egyedeinél is

elvégeztem. Az így kapott eredmények hatásosabbnak bizonyultak a méneskönyvi eltérések azonosítására.

Az elvégzett mtDNS alapú molekuláris vizsgálat bizonyította, hogy a gidrán és a hucul méneskönyvek vezetése magas színvonalú, pontos és megbízható. Emellett vizsgálatom során több érdekességre, tényre is rávilágítottunk. A gidrán lovaknál borodi 7-es kancacsaládból két kanca közös csoportot alkotott a borodi 1-es családdal, míg a mezőhegyesi 5-ös családból származó két állat a mezőhegyesi 11-es kancacsalád egyedeivel alkotott haplotípust. Ezek az eltérések összhangban vannak a gidrán fajta történetében leírt változásokkal. A mezőhegyesi 4-es kancacsalád egyedei kombinált, illetve egyedi módszerrel is két különböző haplotípust alkottak. Ez az eltérés is igazolható, mivel a kancacsalád később kettévált (*Mihók*, 2005).

A hucul kancacsaládok molekuláris vizsgálata alapján az Aspiráns, Árvácska, 12 Sarata és 4 Kitca kancacsaládok egyedei is jól elkülönült, úgynevezett kancacsalád-specifikus haplotípusokat formálnak. A nagy egyedszámú populációknak köszönhetően nem meglepő, hogy a legtöbb feltételezhetően méneskönyvi eltérés az Árvácska, 4 Kitca és a 12 Sarata családban fordult elő. Továbbá a 882 Gelnica családban is előfordult három elírás, ami az egyedszámokhoz viszonyítva jelentősnek mondható. A kapott eredmények alapján 3 Tatarca család tagjai mtDNS-ük alapján nem alkottak külön haplotípust, hanem a Lengyelországban meghonosodott, egyébként magyar eredetű Wydra, és a szlovákiai eredetű Sekacka lovakkal osztoztak közös haplotípuson. E két család magyarországi létszámának a növelése is fontos, de nem lehetetlen, mivel Szlovákiában és Lengyelországban is megfelelő egyedszámban fordulnak elő. A mtDNS eredmények is igazolják, hogy Magyarországon a 3 Tatarca mellett a Wydra és a Sekacka kancacsalád tagjai is kiemelt figyelmet érdemelnek.

A kombinált markerek relevanciáját – *Priskin és mtsai* (2010) által csak a D-loop marker alapján – vizsgált hucul kancákon is elvégeztük. Azt tapasztaltam, hogy azokban az esetekben, ahol a D-loop marker már elkülönítette a kancacsaládra jellemző haplotípust, a kombinált módszer is megegyező eredményt mutatott. Továbbá, a markerek együttes használatával sikerült olyan ritka kancacsaládok haplotípusait is meghatározni (825 Agla, Bajkalka és a Bukovina), melyek a D-loop markerrel csak egy közös haplotípust alkottak.

Végül, a *CYTB* és a D-loop markerek segítségével 22 hucul haplotípus variabilitását az NCBI adatbázisban elérhető póni és/vagy kisló szekvenciákkal hasonlítottam össze. Megállapítottam, hogy a markerek hasznosak a fajtán belüli genetikai struktúra feltérképezésére és a kancacsaládok, leszármazottsági vonalak elkülönítésére. Eredményeim alapján nem alkalmasak az állatok földrajzi élőhely alapú elkülönítésére. Annak ellenére, hogy az ősi és a modern lovak mtDNS analízise egyaránt rávilágított az egyes tenyészetek és fajták közötti nagyfokú genetikai variabilitásra, csak kevés összefüggés található az egyes haplotípusok földrajzi eloszlása között. Ez a diszkrepancia azzal magyarázható, hogy a lovak házasítási folyamatában a földrajzilag elkülönült populációk is részt vettek, aminek köszönhetően a házasított lovak rendkívül diverz genetikai struktúrával rendelkeznek és több, összetett leszármazási ágra vezethetők vissza (*Jansen és mtsai, 2002*).

Összegzésként kijelenthetem, hogy a vizsgált két mtDNS marker alkalmasnak bizonyult a gidrán és hucul lófajták genetikai struktúrájának feltárása. Az eredmények tükrében megállapítható, hogy mindkét fajta diverz génállománnyal rendelkezik, ami a tenyésztői munka érdemét, illetve eredményességét hangsúlyozza. Az elvégzett mtDNS alapú vizsgálatok továbbá arról is tanúskodnak, hogy a vizsgált lófajták méneskönyvének vezetése – a néhány eltérés ellenére is – pontosnak mondható.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A munkám során kapott adatok alapján az alábbi új tudományos eredmények fogalmazhatók meg:

1. Dolgozatomban a gidrán és a hucul lófajták anyai vonalainak genetikai struktúráját vizsgáltam. Ismereteink szerint a gidrán lovak esetében jelen kutatás volt az első széleskörű mitokondriális DNS alapú analízis. Emellett a *CYTB* gén szekvencia-polimorfizmusait, illetve az általuk meghatározott haplotípusokat a hucul lovaknál szintén először írtam le. A vizsgált *CYTB* szakasz polimorfizmusai alapján 24 gidrán és 13 hucul haplotípust, míg a D-loop régió szekvenciája alapján 32 gidrán és 22 hucul haplotípust határoztam meg. Munkám során a gidrán fajtánál hat korábban még nem publikált *CYTB* (Ht5_{*CYTB*}, Ht8_{*CYTB*}, Ht11_{*CYTB*}, Ht14_{*CYTB*}, Ht20_{*CYTB*}, Ht21_{*CYTB*}) és négy D-loop (Ht12_{D-loop}, Ht28_{D-loop}, Ht29_{D-loop}, Ht32_{D-loop}) haplotípust, míg a hucul lovaknál két új D-loop (Ht16_{D-loop}, Ht18_{D-loop}) haplotípust azonosítottam. A meghatározott *CYTB* és a D-loop haplotípusok szekvenciáit szabadon elérhetővé tettem a GenBank adatbázisban.
2. Megállapítottam, hogy a gidrán és a hucul hagyományos magyar lófajták magasfokú genetikai változatossággal rendelkeznek, amit a magas haplotípus diverzitás mutatók is alátámasztanak. A haplotípus diverzitás a *CYTB* haplotípusok esetében a gidrán kancáknál 0,874, míg a hucul kancáknál 0,835 volt, a D-loop haplotípusoknál a gidrán lovaknál 0,914, míg a hucul lovaknál 0,878 értékeket kaptam.
3. A hucul haplotípusokat különböző földrajzi területekről származó lovak haplotípusaival összehasonlítva megállapítottam, hogy *CYTB* és D-loop a markerek alkalmazhatók az adott fajtán belüli genetikai struktúra feltérképezésére, de nem alkalmasak az állatok földrajzi élőhelye szerinti elkülönítésére.

4. Igazoltam, hogy a méneskönyvek vezetése mindkét fajta esetében pontosnak mondható. A gidrán kancáknál a kancacsalád és haplotípusok között elvégzett mtDNS analízis alapján az esetek 91,9%-a, míg a hucul lovaknál az esetek 78%-a egyértelműen a méneskönyvvel egyező eredményt mutatott.
5. Megállapítottam, hogy a *CYTB* és a D-loop mtDNS markerek kombinált alkalmazása pontosabb molekuláris és méneskönyvi összehasonlítást tesz lehetővé. A markerek jövőben alkalmazhatóak lehetnek más lófajták genetikai struktúrájának feltérképezésre, illetve a méneskönyvek genetikai alapú ellenőrzésére is.

7. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

1. Munkám során a gidrán és a hucul kancavonalak diverzitását vizsgáltam mtDNS markerek segítségével. A meghatározott mtDNS haplotípusok szekvenciáit szabadon elérhetővé tettem a GenBank adatbázisban. Kimutattam, hogy mindkét fajtánál léteznek olyan specifikus mtDNS haplotípusok, amelyekbe csak az adott kancacsalád egyedei tartoznak.
2. Vizsgálataim újdonsága és eredménye, hogy a *CYTB* és a D-loop markerek kombinálása hatékonyan alkalmazható a méneskönyvi adatok és a mtDNS polimorfizmusok által meghatározott haplotípusok összehasonlítására.
3. A mtDNS vizsgálat során kapott eredményeket, illetve a feltárt méneskönyvi eltéréseket a Kisbéri-félvér és Gidrán Lótenyésztő Országos Egyesület és a Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesülete, mint a gidrán, illetve a hucul fajtafenntartó, egyesületei a tenyésztési programjaikban hasznosíthatják.
4. Eredményeim alapján felhívom a figyelmet a lovak molekuláris markerekkel történő csoportosításának jelentőségére. Bár a méneskönyvi adatok az esetek közel 90%-ában pontosnak mondhatók, kérdéses esetekben a mtDNS markerek egyes kancacsaládoknál biztonsággal alkalmazhatók a lovak kancacsaládba sorolásához.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám fő célja a gidrán és hucul kancacsaládok genetikai diverzitásának feltérképezése volt két mtDNS marker segítségével. A lovak genetikai struktúrájának meghatározása mellett, a mtDNS markerek gyakorlati alkalmazását is vizsgáltam. Célom volt a gidrán, illetve hucul méneskönyvekben esetlegesen előforduló hibák/elírások felderítése, illetve a módszer hatásosságának vizsgálata kancacsaládok haplotípus alapján való elkülönítésében.

Vizsgálataim során összesen több mint ötszáz (250 gidrán és 267 hucul) különböző magyarországi ménesekből származó kancától vett szőrminta analízisét végeztem el. Első lépésben primereket terveztem a *CYTB* és a D-loop szakaszaira, majd specifikitást gradiens PCR segítségével teszteltem. A hét primerpárt (A-G) tíz hibridizációs hőmérsékleten vizsgáltuk meg, majd kiválasztottam a legoptimálisabb párokat.

A bioinformatikai ellenőrzés után a *CYTB* szekvencián belül 686 nukleotidnak, a D-loop régióan belül pedig 202 nukleotidnak a vizsgálata valósult meg. A begyűjtött minták közül a *CYTB* vizsgálatánál (**gidrán**: 250; **hucul**: 265), a D-loop régióan pedig (**gidrán**: 246; **hucul**: 267) minta került statisztikai értékelésre.

A mtDNS markerek szekvenciaanalízise mindkét fajtánál megerősítette genetikai variabilitásukat. Ezt jól mutatják a kapott haplotípus számok (**gidrán**: *CYTB*=24, D-loop=32 haplotípus; **hucul**: *CYTB*=13, D-loop=22 haplotípus) és a magas haplotípus diverzitás mutatók (**gidrán**: *CYTB*=0,874, D-loop=0,914; **hucul**: *CYTB*=0,835, D-loop=0,878) is. A kapott haplotípusokat a GenBank adatbázisban publikált adatokkal összehasonlítva a gidránnál hat egyedi *CYTB* és öt D-loop, míg a huculnál két egyedi D-loop haplotípust azonosítottunk. A filogenetikai analíziseket mindkét lófajtánál a két marker együttes használatával is elvégeztem.

A hucul kancák vizsgálata során kapott haplotípusokat különböző földrajzi területen élő póni, illetve kisló fajtákkal hasonlítottam össze. Összesen 35 minta került kiválasztásra, amelyeknek elérhető volt mind a *CYTB*, mind a D-loop szekvenciája. Hat hucul *CYTB* haplotípus – a debao és a welsh pónikat kivéve – a yakut, shetlandi, przewalski, mongol, kaszpi, chincoteague, exmoor, konik, noriker, fjord, izlandi, német lovagló pónival alkotott közös csoportot, míg hét haplotípus egyedi csoportot alkotott.

Nyolc D-loop haplotípus pedig a yakut, mongol, kaszpi, welsh, chincoteague, exmoor, konik, német lovagló pónival alkotott közös csoportot, míg 14 esetben egyedi csoportokat formáltak. A kapott eredmények alapján a mtDNS markerek nem megfelelőek az állatok földrajzi élőhelye szerinti elkülönítésére, míg a kancacsaládok, leszármazottsági vonalak vizsgálatánál sikeresnek bizonyultak.

Dolgozatom másik célja az egyes kancacsaládok között átfedő haplotípusok azonosítása, és a méneskönyvben előforduló esetleges elírások felkutatása volt. A gidrán kancáknál a molekuláris vizsgálat alapján 227 egyednél (91,9%) sikerült a korreláció. Az összes egyedszámot tekintve kilenc esetben kerültek olyan haplotípusba, melyek más kancacsaládokra jellemzőek, így valamilyen eltérésről lehet szó. A hucul lovaknál a kancacsalád és haplotípusok között elvégzett mtDNS analízis 187 (78%) egyednél egyértelműen a méneskönyvvel egyező eredményt mutatott. Méneskönyvi eltérésről 30 kancánál (12,5%) beszélhetünk. Hét egyednél a méneskönyvi adatok nem voltak elérhetőek, így a kancacsaládokat csak a mtDNS markerek alapján tudtam meghatározni. Külön megemlítendő, hogy az Aspiráns családnál nem találtuk eltérést a hagyományos és a mtDNS alapú csoportosítás között.

A vizsgált *CYTB* és D-loop mtDNS markereket megfelelőnek találtam a hagyományos lófajták genetikai struktúrájának feltárása. Mind a gidrán, mind a hucul kancavonalak diverz genetikai állománnyal rendelkeznek. A filogenetikai vizsgálatokon túl, a két marker – különösen kombinálva – alkalmazható a kancacsaládok haplotípusok szerinti elkülönítésére is. A kapott eredmények alapján a vizsgált lófajták méneskönyvének vezetése – a néhány eltérés ellenére is – pontosnak mondható.

9. SUMMARY

The main aim of my study was to map the genetic diversity of Gidrán and Hucul horses using two mitochondrial markers. Besides the characterization of horses' genetic structure, the practical usage of the mtDNA markers was also evaluated. My additional purpose was to test the efficiency of mtDNA analysis for the classification of mare families, according to their haplotypes, thereby reveal the possible inconsistencies in stud books.

My analysis involved more than 500 (250 Gidrán & 267 Hucul) hair samples of mares originated from different Hungarian breeds. In the first step of my work, primers targeting *CYTB* and D-loop sequences were designed and their specificity was also tested using gradient PCR. The seven primer pairs (named from A to G) were analysed at ten different hybridization temperatures. Finally, the optimal primer pair was selected for further studies.

After bioinformatic normalization of sequencing data, 686 bps length PCR products of *CYTB* and 202 bps fragments of D-loop sequences were involved in further analyses. Among the collected samples 250 Gidrán & 265 Hucul in case of *CYTB* and 246 Gidrán & 267 Hucul in case D-loop were involved in the final statistical calculations.

The sequence analysis of the mtDNA markers confirmed that both breeds assessed significant genetic variability. These results are also supported by the observed haplotype numbers (Gidrán: *CYTB*=24, D-loop=32 haplotípus; Hucul: *CYTB*=13, D-loop=22 haplotípus), as well as the high haplotype diversity values (Gidrán: *CYTB*=0.874, D-loop=0.914; Hucul: *CYTB*=0.835, D-loop=0.878). Comparing haplotypes with sequence data in GenBank, six new *CYTB* and five D-loop, while two novel D-loop haplotypes were detected in Gidrán and Hucul horses, respectively. All phylogenetic analysis were performed with *CYTB* and D-loop markers separately, and with the combination of the markers.

Haplotypes of hucul mares were compared with additional pony breeds originated from different geographical areas. Altogether 35 samples with available whole mtDNS genome sequences were involved to the analysis. Six hucul haplotypes shared groups with Yakut, Shetland, Przewalski, Mongolian, Caspian, Chincoteague, Exmoor, Konik, Noriker, Fjord, Icelandic, German riding pony (except only Debaó and Welsh ponies),

while seven haplotypes formed unique groups. On the other hand, eight D-loop haplotypes shared groups Yakut, Mongol, Caspian, Welsh, Chincoteague, Exmoor, Konik, German riding pony, while fourteen haplotypes formed unique groups. Although, according to these results the selected mtDNA markers are not sufficient to separate horses by their geographical origin, but they are useful for the analysis of mare families and genealogy.

The additional goal of my dissertation was to identify overlapping mtDNA haplotypes among mare families, and to discern eventually errors in the studbook. The association between Gidrán mares and the molecular results was complete in case of 227 horses (91.9%). Considering the maximum case number, only nine individuals shared haplotypes with horses of other mare families implying discrepancies in the management of studbook. The mtDNA analysis of Hucul horses showed a clear association between haplotypes and mare families in 187 cases (78%). Possible discrepancy was observed in case of 30 mares (12.5%). Mare family records of seven horses were unknown, therefore their mare family classification was conducted by only mtDNA markers. In particular, no error was found between classical and mtDNA based classification in case of Aspiráns family.

The analysed *CYTB* and D-loop mtDNA markers were found to be appropriate for mapping the genetic structure of traditional horses. Both Gidrán and Hucul mares assess genetically diverse populations. Besides their phylogenetic usefulness, the markers are also adaptable for the classification of mare families per mtDNA haplotypes. Based on these results, the management of the studbooks is rather adequate.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Achilli, A. - Olivieri, A. - Soares, P. - Lancioni, H. - Kashani, B. H. - Perego, U. A. - Nergadze, S. G. - Carossa, V. - Santagostino, M. - Capomaccio, S. (2012): Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109. 2449-2454.
2. Ádám, V. (2001): Orvosi biokémia. Budapest, Medicina Könyvkiadó.
3. Ali, M. E. - Razzak, M. A. - Hamid, S. B. A. - Rahman, M. M. - Al Amin, M. - Rashid, N. R. A. (2015): Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods. *Food Chemistry* 177. 214-224.
4. Ángyán, J. - Bela, G. - Horváth, Z. (2009): Tájgazdálkodás, tájfajták, génmegőrzés. Budapest, Országgyűlés Mezőgazdasági Bizottsága.
5. Balog, Á. (1997): A biodiverzitás megőrzése. Budapest OMIKK.
6. Ballard, J. W. O. és Rand, D. M. (2005): The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 621–42.
7. Bandelt, H.J. - Forster, P. - Röhl, A. (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37–48.
8. Barker, D. C. (1989): Molecular approaches to DNA diagnosis. *Parasitology* 99: 125-S146.
9. Besze, S. (2010): Biodiverzitás. Budapest, Europe Direct Pest Megyei Európai Információs Pont.
10. Beuzen, N. D. - Stear, M. J. - Chang, K. C. (2000): Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal* 160. 42-52.
11. Blaine, D. P. (1840): *An Encyclopaedia of Rural Sports: Or a Complete Account, Historical, Practical, and Descriptive, of Hunting, Shooting, Fishing, Racing, and Other Field Sports and Athletic Amusements of the Present Day*, Longman, Orme, Brown, Green and Longmans.
12. Bodó, I. (1991): A géntartalékok megőrzése az állattenyésztésben. MTA doktori disszertáció.

13. *Bodó, I.* (1998): A ló tenyésztése. Lótenyésztők kézikönyve. Bodó I. - Hecker W. Budapest, Mezőgazda Kiadó 3: 89-211.
14. *Bodó, I.* (2002): A fajta és a típus szerepe a genetikai sokféleség fenntartásában. Génmegőrzés; Kutatási eredmények régi háziállatfajták értékeiről. Jávor A. - Mihók S. Debrecen, Lícium-Art Könyvkiadó- és Kereskedelmi Kft.: 69-76.
15. *Bodó, I. - Alderson, L. - Langlois, B.* (2005): Conservation genetics of endangered horse breeds. Wageningen Academic Pub.
16. *Bodó, I. - Hecker, W.* (1998): Bevezetés. Lótenyésztők kézikönyve. Bodó I. - Hecker W. Budapest, Mezőgazda Kiadó. 3.: 15-24.
17. *Bokor, A. - Jonas, D. - Ducro, B. - Nagy, I. - Bokor, J. - Szabari, M.* (2013): Pedigree analysis of the Hungarian Thoroughbred population. Livestock Science 151. 1-10.
18. *Boore, J. L.* (1999): Animal mitochondrial genomes. Nucleic Acids Research 27. 1767-1780.
19. *Bowling, A. T. - Clark, R. S.* (1985): Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics 16. 93-108.
20. *Bowling, A. T. - Del Valle, A. - Bowling, M.* (2000): A pedigree-based study of mitochondrial d-loop DNA sequence variation among Arabian horses. Animal Genetics 31. 1-7.
21. *Bowling, A. T. - Eggleston-Stott, M. L. - Byrns, G. - Clark, R. S. - Dileanis, S. - Wictum, E.* (1997): Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. Animal genetics 28. 247-252.
22. *Brady, M. T.* (2016): On the Origin of Modern Horse Breeds from Four Distinct Subspecies of *Equus Caballus*. Circulation 701. 8888.
23. *Britton, T. - Anderson, C. L. - Jacquet, D. - Lundqvist, S. - Bremer, K.* (2007): Estimating divergence times in large phylogenetic trees. Systematic Biology 56. 741-752.
24. *Brown, T. A.* (2007): Molecular Phylogenetics. Genomes 3. T. A. Brown. New York, London, Garland Science Publishing. III.: 595-617.

25. *Bruford, M. W. - Bradley, D. G. - Luikart, G. (2003): DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. Nature Reviews Genetics 4. 900-910.*
26. *Castresana, J. (2001): Cytochrome b Phylogeny and the Taxonomy of Great Apes and Mammals. Molecular Biology and Evolution 18. 465-471.*
27. *Chalkley, L. W. - Cook, W. R. - Wagoner, D. M. (1978): Equine genetics & selection procedures, Equine Research Publications.*
28. *Cieslak, M. - Pruvost, M. - Benecke, N. - Hofreiter, M. - Morales, A. - Reissmann, M. - Ludwig, A. (2010): Origin and History of Mitochondrial DNA Lineages in Domestic Horses. PLoS One 5. e15311.*
29. *Cloete, S. - Olivier, J. - Sandenbergh, L. - Snyman, M. (2014): The adaption of the South Africa sheep industry to new trends in animal breeding and genetics: A review. South African Journal of Animal Science 44. 307-321.*
30. *Cothran, E. - Juras, R. - Macijauskiene, V. (2005): Mitochondrial DNA D-loop sequence variation among 5 maternal lines of the Zemaitukai horse breed. Genetics and Molecular Biology 28. 677-681.*
31. *Cozzi, M. C. - Strillacci, M. G. - Valiati, P. - Bighignoli, B. - Cadedda, M. - Zanotti, M. (2004): Mitochondrial D-loop sequence variation among Italian horse breeds. Genet. Sel. Evol. 36. 663-672.*
32. *Csaba, Gy. (1988). Sejtbiológia. Orvosi biológia. Gy. Csaba. Budapest, Medicina. 3: 83-207.*
33. *Daetwyler, H. D. - Capitan, A. - Pausch, H. - Stothard, P. - Van Binsbergen, R. - Brøndum, R. F. - Liao, X. - Djari, A. - Rodriguez, S. C. - Grohs, C. (2014): Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. Nature Genetics 46. 858-865.*
34. *Dekkers, J. C. M. - Hospital, F. (2002): The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. Nature Reviews Genetics 3. 22-32.*
35. *Devi, K. M. - Ghosh, S. K. (2013): Molecular phylogeny of Indian horse breeds with special reference to Manipuri pony based on mitochondrial D-loop. Molecular Biology Reports 40. 5861-5867.*

36. *Duensing, J. - Stock, K. F. - Krieter, J. (2014): Implementation and prospects of linear profiling in the Warmblood horse. Journal of Equine Veterinary Science 34. 360-368.*
37. *Ellegren, H. - Galtier, N. (2016): Determinants of genetic diversity. Nature Reviews Genetics. 17. 422-433.*
38. *Falkenberg, M. - Larsson, N.-G. - Gustafsson, C. M. (2007): DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. Annu. Rev. Biochem. 76. 679-699.*
39. *Farias, I. P. - Orti, G. - Sampaio, I. - Schneider, H. - Meyer, A. (2001): The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. Journal of Molecular Evolution. 53. 89-103.*
40. *FAO/IAEA (2004): Agriculture Biotechnology Laboratory. Handbook of laboratory exercises. Seibersdorf, Austria: IAEA Laboratories.*
41. *Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014): Domestic Animal Diversity Information System database of the FAO. Available at <http://dad.fao.org/>.*
42. *Fehér, D. - Jávorka, L. (2004): A magyar állattenyésztés nagyjai. Budapest, Agroinform Kiadó és Nyomda Kft.*
43. *Fernández-Silva, P. - Enriquez, J. A. - Montoya, J. (2003): Replication and transcription of mammalian mitochondrial DNA. Experimental Physiology 88. 41-56.*
44. *Fésüs, L. (2000): A direkt géntesztek és a marker vizsgálatok gyakorlati alkalmazása. Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A. Budapest, AGROINFORM Kiadó és Nyomda Kft.: 142-173.*
45. *Galtier, N. - Nabholz, B. - Glémin, S. - Hurst, G. D. D. (2009): Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. Molecular Ecology 18. 4541-4550.*
46. *Gelányi, I. - Obádovics, C. (2014): A ló ökogazdasági hasznosíthatósága; Ecological Utilization of the Horse. Gazdaság és Társadalom 2014. 133-151.*

47. *Georgescu, S. E. - Manea, M. A. - Dudu, A. - Costache, M. (2011):* Phylogenetic relationships of the Hucul horse from Romania inferred from mitochondrial D-loop variation. *Genetics and Molecular Research*. 10. 4104-4113.
48. *Głazewska, I. - Jezierski, T. (2004):* Pedigree analysis of Polish Arabian horses based on founder contributions. *Livestock Production Science* 90. 293-298.
49. *Groeneveld L. F. - Lenstra J. A. - Eding H. - Toro M. A. - Scherf B. - Pilling D. - Negrini R. - Finlay E. K. - Jianlin H. - Groeneveld E. - Weigend S.(2010):* Genetic diversity in farm animals—a review. *Animal Genetics*. 41: 6-31
50. *Gupta, G. D. - Lakritz, J. - Kim, J.-H. - Kim, D.-Y. - Kim, J.-K. - Marsh, A. E. (2002):* Seroprevalence of Neospora, Toxoplasma gondii and Sarcocystis neurona antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Veterinary Parasitology* 106. 193-201.
51. *Hagemann, R. (2010):* The foundation of extranuclear inheritance: plastid and mitochondrial genetics. *Molecular Genetics and Genomics* 283. 199-209.
52. *Harpending, H. C. (1994):* Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*. 591-600.
53. *Hartl, G. B. - Schleger, A. - Slowak, M. (1986):* Genetic variability in fallow deer, Dama dama L. *Animal Genetics* 17. 335-341.
54. *Hasegawa, M. - Kishino, H. - Yano, T. A. (1985):* Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22. 160-174.
55. *Hecker, W. (2014):* A Bábolnai Arab Ménes. Budapest, Magyarországi Arab lótenyésztők Egyesülete.
56. *Hecker, W. - Bodó, I. (1998):* Bevezetés. Lótenyésztők kézikönyve. Bodó, I. - Hecker, W. Budapest, Mezőgazda Kiadó: 15-24.
57. *Hillis, D. M. - Huelsenbeck, J. P. (1992):* Signal, noise, and reliability in molecular phylogenetic analyses. *Journal of Heredity* 83. 189-195.
58. *Horn, A. (1955):* Általános állattenyésztés. Budapest, Mezőgazda Kiadó.
59. *Huson, D. H. - Bryant, D. (2006):* Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23. 254-267.

60. *Hutchison, C. A. - Newbold, J. E. - Potter, S. S. - Edgell, M. H. (1974): Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. Nature 251. 536-538.*
61. *Ibáñez-Escriche, N. - Forni, S. - Noguera, J. L. - Varona, L. (2014): Genomic information in pig breeding: Science meets industry needs. Livestock Science 166. 94-100.*
62. *Ingman, M. - Kaessmann, H. - Paëaëbo, S. - Gyllensten, U. (2000): Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. Nature 408. 708-713.*
63. *Ivanković, A. - Ramljak, J. - Konjačić, M. - Kelava, N. - Dovč, P. - Mijić, P. (2009): Mitochondrial D-loop sequence variation among autochthonous horse breeds in Croatia. Czech Journal of Animal Sciences. 3. 101-111.*
64. *Iwona, G. - Anna, W. - Barbara, G. - Renata, P. - Jerzy, S. (2007): A new view on dam lines in Polish Arabian horses based on mtDNA analysis. Genetics Selection Evolution. 39. 609-619.*
65. *Jakabová, D. - Gralak, B. - Burócziová, M. - Buleca Jr, J. - Maróti-Agóts, Á. - Massányi, P. - Zöldág, L. (2009): Diversity analysis of Hucul horse population based on molecular genetic data. Magyar Állatorvosok Lapja 131. 685-691.*
66. *Jansen, T. - Forster, P. - Levine, M. A. - Oelke, H. - Hurles, M. - Renfrew, C. - Weber, J. - Olek, K. (2002): Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. Proceedings of the National Academy of Sciences 99. 10905-10910.*
67. *Jiang, Q. - Wei, Y. - Huang, Y. - Jiang, H. - Guo, Y. - Lan, G. - Liao, D. (2011): The complete mitochondrial genome and phylogenetic analysis of the Debao pony (*Equus caballus*). Molecular Biology Reports 38. 593-599.*
68. *Jianxing, C. - Yujiang, S. - Qingjie, P. - Lingjiang, M. - Lai, M. (2012): Analyses of Differences in the Maternal Structure of Different Geographical Domestic Horses. Chinese Agricultural Science Bulletin 14. 013.*
69. *Jónás, S. - Hajba, N. - Mihók, S. - Vörös, J. (2006): Monograph of the Gidran horse. Debrecen, Hungary, Center-Print Press.*
70. *Kakoi, H. - Tozaki, T. - Gawahara, H. (2007): Molecular Analysis Using Mitochondrial DNA and Microsatellites to Infer the Formation Process of Japanese Native Horse Populations. Biochemical Genetics 45. 375-395.*

71. *Kanthaswamy, S. (2015): Review: domestic animal forensic genetics—biological evidence, genetic markers, analytical approaches and challenges. Animal Genetics 46. 473-484.*
72. *Kavar, T. - Brem, G. - Habe, F. - Sölkner, J. - Dovč, P. (2002): History of Lipizzan horse maternal lines as revealed by mtDNA analysis. Genetics Selection Evolution 34. 635-648.*
73. *Kim, I. - Rodriguez-Enriquez, S. - Lemasters, J. J. (2007): Selective degradation of mitochondria by mitophagy. Archives of Biochemistry and Biophysics 462. 245-253.*
74. *Komosa, M. - Purzyc, H. (2009): Konik and Hucul horses: A comparative study of exterior measurements. Journal of Animal Science 87. 2245-2254.*
75. *Kopasz, M. (2005): A fenntartható magyar mezőgazdaság lehetőségei és esélyei.*
76. *Koskinen, M. T. (2003): Individual assignment using microsatellite DNA reveals unambiguous breed identification in the domestic dog. Animal Genetics 34. 297-301.*
77. *Kowaltowski, A. J. - De Souza-Pinto, N. C. - Castilho, R. F. - Vercesi, A. E. (2009): Mitochondria and reactive oxygen species. Free Radical Biology and Medicine 47. 333-343.*
78. *Kusza, S. - Priskin, K. - Ivankovic, A. - Jedrzejewska, B. - Podgorski, T. - Jávör, A. - Mihók, S. (2013): Genetic characterization and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. Biological Journal of the Linnean Society 109. 54-65.*
79. *Kusza, S. - Zakar, E. - Budai, C. - Csiszter, L.-T. - Padeanu, I. - Gavojdian, D. (2015): Mitochondrial DNA variability in Gyimesi Racka and Turcana sheep breeds. Acta Biochimica Polonica 62. 273-280.*
80. *Láng, I. (2003): A fenntartható fejlődés Johannesburg után. Környezetgazdák kiskönyvtára. Agroinform Kiadóház. Budapest*
81. *Larkin, M. A. - Blackshields, G. - Brown, N. - Chenna, R. - Mcgettigan, P. A. - Mcwilliam, H. - Valentin, F. - Wallace, I. M. - Wilm, A. - Lopez, R. (2007): Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics 23. 2947-2948.*

82. *Larson, G. - Burger, J. (2013): A population genetics view of animal domestication. Trends in Genetics 29. 197-205.*
83. *Li, J.-L. - Shi, Y.-F. - Bu, R.-Q. - Mang, L. (2006): PCR-RFLP analysis of the mtDNA Cytb gene in three different horse breeds. Yi chuan 28. 933-938.*
84. *Li, W. - Richter, R. A. - Jung, Y. - Zhu, Q. - Li, R. W. (2016): Web-based bioinformatics workflows for end-to-end RNA-seq data computation and analysis in agricultural animal species. BMC genomics 17. 761.*
85. *Librado, P. - Fages, A. - Gaunitz, C. - Leonardi, M. - Wagner, S. - Khan, N. - Hanghøj, K. - Alquraishi, S. A. - Alfarhan, A. H. - Al-Rasheid, K. A. (2016): The Evolutionary Origin and Genetic Makeup of Domestic Horses. Genetics 204. 423-434.*
86. *Lippold, S. - Matzke, N. J. - Reissmann, M. - Hofreiter, M. (2011): Whole mitochondrial genome sequencing of domestic horses reveals incorporation of extensive wild horse diversity during domestication. BMC Evolutionary Biology 11. 328-328.*
87. *Liu, J. - Ding, X. - Zeng, Y. - Yue, Y. - Guo, X. - Guo, T. - Chu, M. - Wang, F. - Han, J. - Feng, R. (2016): Genetic Diversity and Phylogenetic Evolution of Tibetan Sheep Based on mtDNA D-Loop Sequences. PloS one 11. e0159308.*
88. *Lopes, M. S. - Mendonça, D. - Cymbron, T. - Valera, M. - Da Costa-Ferreira, J. - Da Câmara Machado, A. (2005): The Lusitano horse maternal lineage based on mitochondrial D-loop sequence variation. Animal Genetics 36. 196-202.*
89. *Lowe, C. B. - Allison, W. (1898): Breeding racehorses by the figure system, Jenkins.*
90. *Luís, C. - Bastos-Silveira, C. - Cothran, E. G. - Do Mar Oom, M. (2006): Iberian origins of New World horse breeds. Journal of Heredity 97. 107-113.*
91. *Mackowski, M. - Mucha, S. - Cholewinski, G. - Cieslak, J. (2015): Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. Archiv für Tierzucht 58. 23.*
92. *Mannella, C. A. (2006): Structure and dynamics of the mitochondrial inner membrane cristae. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research 1763. 542-548.*

93. *Mátyás, C. S.* (2002): Erdészeti és természetvédelmi genetika. Mezőgazda Kiadó Budapest.
94. *McDonagh, L. M. - West, H. - Harrison, J. W. - Stevens, J. R.* (2016): Which mitochondrial gene (if any) is best for insect phylogenetics?. *Insect Systematics & Evolution*. (DOI 10.1163/1876312X-47032142)
95. *Mckay, S. D. - Schnabel, R. D. - Murdoch, B. M. - Matukumalli, L. K. - Aerts, J. - Coppieters, W. - Crews, D. - Neto, E. D. - Gill, C. A. - Gao, C.* (2007): Whole genome linkage disequilibrium maps in cattle. *BMC Genetics* 8. 74.
96. *Mihók, S.* (2002): Az elkötelezett génmegőrzés eredménye: újra él a gidrán. Génmegőrzés; Kutatási eredmények régi háziállatfajták értékeiről. Jávor, A. - Mihók, S. Debrecen, Lícium-Art Könyvkiadó- és Kereskedelmi Kft.: 7-22.
97. *Mihók, S.* (2012): Gidrán Méneskönyv. Budapest, Kisbéri és Gidrán Lótenyésztő Országos Egyesület.
98. *Mihók, S.* (2006a): Bevezetés. Génmegőrzés - "Hagyományos háziállatfajták genetikai és gazdasági értékének tudományos feltárása". Mihók, S. Debrecen, Debreceni Agrártudományi Centrum: 13-19.
99. *Mihók, S.* (2006b): A gidrán ló monográfiája. Debrecen, Kisbéri és Gidrán Lótenyésztő Országos Egyesület.
100. *Mihók, S.* (2006c): A póniló és a kisló. Budapest, Mezőgazda kiadó.
101. *Mihók, S.* (2011a): A hucul lófajta génállományának megőrzése napjainkban. Debreceni Szemle 19. 421-427.
102. *Mihók, S.* (2011b): Hucul Méneskönyv. Debrecen, Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesülete.
103. *Mihók, S.* (2013): Génmegőrzés: készségvizsgák sportolva, szórakozva. Debrecen, Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesülete.
104. *Mihók, S.* (2014a): A hucul. Budapest, Mezőgazda Kiadó.
105. *Mihók, S.* (2014b): A hucul lófajta törzseinek ménjei 1895-2014. Debrecen, Póni és Kislótenyésztők Országos Egyesülete.
106. *Mihók, S.* (2014c): A hucul ma, képekben: egy régi fajta beillesztése az új használatba. Debrecen, Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesülete.

107. *Mihók, S.* (2016): Fajtafenntartás, génmegőrzés, lóhasználat (változás) Debrecen, Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesülete
108. *Mihók, S. - Bodó, I.* (2003): Utilisation of animal genetic resources in Hungary 1. Hungarian Agricultural Research (Hungary). 12:4-5
109. *Mihók S. – Ernst J.* (2015): A Gidrán, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 300 p.
110. *Mihók, S. - Kalm, E. - Pataki, B.* (2001): Ló és szamár, Mezőgazda Kiadó.
111. *Mihók, S. - Pataki, B.* (2003a): A ló szerepe az emberiség történetében. Lófajták. Budapest, Mezőgazda kiadó: 7-13.
112. *Mihók, S. - Pataki, B.* (2003b): Melegvérű lófajták. Lófajták. Budapest, Mezőgazda Kiadó: 16-78.
113. *Mihók, S. - Pataki, B.* (2003c): Pónik és kislovak. Lófajták. Budapest, Mezőgazda Kiadó.
114. *Ming, L. - Yi, L. - Guo, F. C. - Siriguleng, S. - Jirimutu, J.* (2016): Molecular phylogeny of the Bactrian camel based on mitochondrial Cytochrome b gene sequences. Genetics and Molecular Research: GMR 15.
115. *Moridi, M. - Masoudi, A. - Vaez Torshizi, R. - Hill, E.* (2013): Mitochondrial DNA D-loop sequence variation in maternal lineages of Iranian native horses. Animal Genetics 44. 209-213.
116. *Mrode, R. - Han, J. - Mwacharo, J. - Koning, D.* (2016): Novel tools to inform animal breeding programs.
117. *Nabholz, B. - Glémin, S. - Galtier, N.* (2009): The erratic mitochondrial clock: variations of mutation rate, not population size, affect mtDNA diversity across birds and mammals. BMC Evolutionary Biology 9. 54.
118. *Novotni, P.* (2012). Magyar lovak: fókuszban a magyar lófajták Nyíregyháza, Pro-Team.
119. *Ócsag, I.* (1984): A nóniusz. Budapest, Akadémiai Kiadó.
120. *Ócsag, I.* (1992): Lovaskönyv. Budapest, Kolibri.
121. *Ócsag, I.* (1995): A gazdasági ló. Budapest, Gazda Kistermelő Lap és Könyvkiadó Kft.

122. *Ócsag, I.* (1999): A kishéri félvér. Budapest, Mezőgazda Kiadó.
123. *Olsen, H. G. - Knutsen, T. M. - Lewandowska-Sabat, A. M. - Grove, H. - Nome, T. - Svendsen, M. - Arnyasi, M. - Sodeland, M. - Sundsaasen, K. K. - Dahl, S. R.* (2016): Fine mapping of a QTL on bovine chromosome 6 using imputed full sequence data suggests a key role for the group-specific component (GC) gene in clinical mastitis and milk production. *Genetics Selection Evolution* 48. 79.
124. *Pataki, B.* (1996): Questions of preservation of the Gidran horse breed. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 45:215-220.
125. *Pecsenye, K.* (2006): Populációgenetika. Nagykovácsi, Pars Kft.
126. *Pedrosa, S. - Uzun, M. - Arranz, J.-J. - Gutiérrez-Gil, B. - San Primitivo, F. - Bayón, Y.* (2005): Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 272. 2211-2217.
127. *Peng, M. S. - Fan, L. - Shi, N. N. - Ning, T. - Yao, Y. G. - Murphy, R. W. - Wang, W. Z. - Zhang, Y. P.* (2015): DomeTree: a canonical toolkit for mitochondrial DNA analyses in domesticated animals. *Molecular Ecology Resources* 15. 1238-1242.
128. *Phua, S. - Hyndman, D. - Baird, H. - Auvray, B. - Mcewan, J. - Lee, M. - Dodds, K.* (2014): Towards genomic selection for facial eczema disease tolerance in the New Zealand sheep industry. *Animal Genetics* 45. 559-564.
129. *Platt, H.* (1973): Aetiological aspects of abortion in the Thoroughbred mare. *Journal of Comparative Pathology* 83. 199-205.
130. *Podani, J.* (2003): A szárazföldi növények evolúciója és rendszertana, ELTE Eötvös Kiadó, Budapest.
131. *Posada, D.* (2008): jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25. 1253-1256.
132. *Priskin, K. - Szabo, K. - Tomory, G. - Bogacsi-Szabo, E. - Csanyi, B. - Eordogh, R. - Downes, C. S. - Rasko, I.* (2010): Mitochondrial sequence variation in ancient horses from the Carpathian Basin and possible modern relatives. *Genetica* 138. 211-18.

133. *Prystupa, J. M. - Hind, P. - Cothran, E. G. - Plante, Y. (2012a):* Maternal lineages in native Canadian equine populations and their relationship to the Nordic and Mountain and Moorland pony breeds. *Journal of Heredity* 103. 380-390.
134. *Prystupa, J. M. - Juras, R. - Cothran, E. G. - Buchanan, F. C. - Plante, Y. (2012b):* Genetic diversity and admixture among Canadian, Mountain and Moorland and Nordic pony populations. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience* 6. 19-30.
135. *Qin, F. - Wang, X.-B. - Zhang, Y.-S. - Zhang, M.-L. - Li, X.-F. - Lei, C.-Z. (2009):* Analyses on mtDNA cytb genetic diversity in Lichuan horse. *Hubei Agricultural Sciences* 12. 11-12.
136. *Rand, D. M. (2001):* The units of selection on mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32. 415-448.
137. *Rola, J. - Larska, M. - Rola, J. G. - Belák, S. - Autorino, G. L. (2011):* Epizootiology and phylogeny of equine arteritis virus in hucul horses. *Veterinary Microbiology* 148. 402-407.
138. *Rozas, J. - Librado, P. - Sánchez-Delbarrio, J. - Messeguer, X. - Rozas, R. (2009):* DnaSP v5. *DNA* 9. 16.
139. *Rutschmann, F. (2006):* Molecular dating of phylogenetic trees: a brief review of current methods that estimate divergence times. *Diversity and Distributions* 12. 35-48.
140. *Sadler, T. W. (2011):* Langman's medical embryology, Lippincott Williams & Wilkins.
141. *Simon, C. - Buckley, T. R. - Frati, F. - Stewart, J. B. - Beckenbach, A. T. (2006):* Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37. 545-579.
142. *Sutovsky, P. - Moreno, R. D. - Ramalho-Santos, J. - Dominko, T. - Simerly, C. - Schatten, G. (2000):* Ubiquitinated Sperm Mitochondria, Selective Proteolysis, and the Regulation of Mitochondrial Inheritance in Mammalian Embryos. *Biology of Reproduction* 63. 582-590.

143. *Szőke, S. - Komlósi, I. - Korom, E. - Ispány, M. - Mihók, S. (2004): A statistical analysis of population variability in Bronze Turkey considering gene conservation. Arch. Tierz 47. 377-385.*
144. *Taberlet, P. - Coissac, E. - Pansu, J. - Pompanon, F. (2011): Conservation genetics of cattle, sheep, and goats. Comptes Rendus Biologies 334. 247-254.*
145. *Takasu, M. - Ishihara, N. - Tozaki, T. - Kakoi, H. - Maeda, M. - Mukoyama, H. (2014): Genetic Diversity of Maternal Lineage in the Endangered Kiso Horse Based on Polymorphism of the Mitochondrial DNA D-Loop Region. The Journal of Veterinary Medical Science 76. 1451-1456*
146. *Tamura, K. (1992): Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C content biases. Molecular Biology and Evolution. 9: 678–687.*
147. *Tamura, K. - Stecher, G. - Peterson, D. - Filipski, A. - Kumar, S. (2013): MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution 30. 2725-2729.*
148. *Tóth, L. (1980): A lipicai ló Magyarországon. Budapest, Akadémiai Kiadó.*
149. *Tóth, S. - Hegyesi, H. (2007): Bevezetés a humángenetikába. Budapest, Semmelweis Kiadó.*
150. *Tőzsér, J. - Bedő, S. (2009): Történelmi állatfajtáink enciklopédiája. Budapest, Mezőgazda Kiadó.*
151. *V. Oettingen, B. (1910): Horse breeding in theory and practice. Molecular and General Genetics (MGG) 4. 377-378.*
152. *Vignal, A. - Milan, D. - Sancristobal, M. - Eggen, A. (2002): A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. Genetics Selection Evolution 34. 275-306.*
153. *Vilstrup, J. T. - Sequin-Orlando, A. - Stiller, M. - Ginolhac, A. - Raghavan, M. - Nielsen, S. C. A. - Weinstock, J. - Froese, D. - Vasiliev, S. K. - Ovodov, N. D. (2013): Mitochondrial phylogenomics of modern and ancient equids. PLoS One 8. e55950.*

154. Wallace, D. C. - Fan, W. (2010): Energetics, epigenetics, mitochondrial genetics. *Mitochondrion* 10. 12-31.
155. Wan, Q. H. - Wu, H. - Fujihara, T. - Fang, S. G. (2004): Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis* 25. 2165-2176.
156. Whittaker, D. J. - Morales, J. C. - Melnick, D. J. (2007): Resolution of the *Hylobates* phylogeny: congruence of mitochondrial D-loop sequences with molecular, behavioral, and morphological data sets. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45. 620-628.
157. Willett, P. (1991): *A History of the General Stud-book*, Weatherbys.
158. Williams, J. G. K. - Kubelik, A. R. - Livak, K. J. - Rafalski, J. A. - Tingey, S. V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18. 6531-6535.
159. Yang, W. - Kang, X. - Yang, Q. - Lin, Y. - Fang, M. (2013): Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 4. 1.
160. Yang, Y. H. - Kim, K. I. - Cothran, E. G. - Flannery, A. R. (2002): Genetic Diversity of Cheju Horses (*Equus caballus*) Determined by Using Mitochondrial DNA D-loop Polymorphism. *Biochemical Genetics* 40. 175-186.
161. Yue, X. P. - Qin, F. - Campana, M. G. - Liu, D. H. - Mao, C. C. - Wang, X. B. - Lan, X. Y. - Chen, H. - Lei, C. Z. (2012): Characterization of cytochrome b diversity in Chinese domestic horses. *Animal Genetics* 43. 624-626.
162. Zhang, D.-X. és Hewitt, G. M. (1996): Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. *Tree* 2: 247-251,
163. Zhang, T. - Lu, H.-Z. - Cao, L. - Zeng, Z. (2008): Genetic Diversity of Microsatellite on Ningqiang Pony. *Hubei Agricultural Sciences* 8. 7.
164. Zhang, T. - Lu, H.-Z. - Chen, R. - Zhou, J.-J. (2009): Genetic Variation of Growth Hormone Gene on Ningqiang Pony. *Scientia Agricultura Sinica* 12. 44.

11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/259/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Sziszkosz Nikolett
Neptun kód: KL9K79
Doktori Iskola: Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10050429

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű könyvrészletek (1)

1. **Sziszkosz, N.**, Kusza, S., Jávor, A., Mihók, S.: Gidrán lovak kancacsaládjainak ellenőrzése a D-loop régió egy szakaszának vizsgálatával.
In: III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2014. Konferenciakötet [elektronikus dokumentum]. Szerk.: Schaub Anita, Szabó István, Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat, Pécs, 1061-1066, 2015. ISBN: 9789636427412

Idegen nyelvű, hazai könyvrészletek (1)

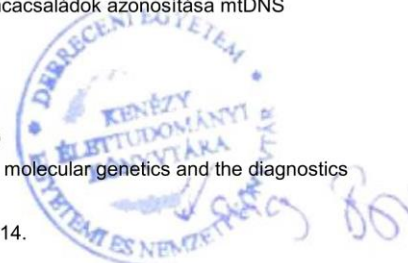
2. **Sziszkosz, N.**, Kusza, S., Jávor, A., Mihók, S.: Determining Gidran mare families using mitochondrial DNA marker.
In: 20th Youth Scientific Forum. Ed.: Bene Szabolcs, University of Pannonia, Georgikon Faculty, Keszthely, 528-537, 2014. ISBN: 9789639639577

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (2)

3. **Sziszkosz, N.**, Kusza, S., Jávor, A., Mihók, S.: Méneskönyvi és molekuláris genetikai egybeesések a gidrán kancacsaládjainál az mtDNS alapján.
Agrártud. közl. 65, 69-73, 2015. ISSN: 1587-1282.
4. **Sziszkosz, N.**, Kusza, S., Jávor, A., Mihók, S.: A hucul kancacsaládok azonosítása mtDNS markerrel.
Agrártud. közl. 57, 75-79, 2014. ISSN: 1587-1282.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

5. **Sziszkosz, N.**, Jávor, A., Kusza, S.: Development of horse molecular genetics and the diagnostics of most important monogenic hereditary diseases.
Állatteny. takarm. 65 (3), 71-81, 2016. ISSN: 0230-1814.



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. □ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: www.lib.unideb.hu



Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (1)

6. **Sziszkosz, N.**, Mihók, S., Jávör, A., Kusza, S.: Genetic diversity of the Hungarian Gidran horse in two mitochondrial DNA markers.
PeerJ. 4, 1-15, 2016. EISSN: 2167-8359.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.1894>
IF: 2.177

További közlemények

Magyar nyelvű könyvek (1)

7. Czeglédi, L., **Sziszkosz, N.**, Kusza, S.: Molekuláris biológiai technikák az élelmiszer eredetvizsgálatban. [s.n.], [s.l.], 79 p., 2015.

Idegen nyelvű közlemények külföldi folyóiratban (2)

8. Kusza, S., **Sziszkosz, N.**, Nagy, K., Masala, A., Kukovics, S., Jávör, A.: Preliminary result of a genetic polymorphism of [beta]-lactoglobulin gene and the phylogenetic study of ten balkan and central european indigenous sheep breeds.
Acta Biochim. Pol. 62 (1), 109-112, 2015. ISSN: 0001-527X.
DOI: http://dx.doi.org/10.18388/abp.2014_846
IF: 1.187
9. Tropea, G., Parmakelis, A., **Sziszkosz, N.**, Balanika, K., Boudierka, A.: A New Species of *Euscorpius* Thorell, 1876 from Naples Province, Italy (Scorpiones: Euscorpiidae).
Euscorpius. 182, 1-12, 2014. EISSN: 1536-9307.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 3,364

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 2,177

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudásmetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.08.28.

12. MELLÉKLET

12. táblázat: **A kutatásba bevont gidrán kancák adatai.** A táblázat tartalmazza a lovak nevét, méneskönyvi azonosítóját és kancacsaládját, valamint a molekuláris vizsgálat által meghatározott kancacsaládokat. Szürke színnel emeltük ki azokat a mintákat, ahol a mtDNS vizsgálat eredménye, illetve a méneskönyvi kancacsalád nem egyeztethető össze.

Név	Azonosító	Méneskönyv szerinti kancacsalád	Molekuláris vizsgálat szerinti kancacsalád
Gidrán XXIV-3 (Nóra)	GI03003Gi24	borodi 7-es	borodi 1-es, borodi 7-es
Gidrán XI-39 (Nimfa)	GI97039Gi11	borodi 7-es	borodi 1-es, borodi 7-es
Gidrán XXIV-149 (Fergeteg)	GI09149Gi24	mezőhegyesi 5-ös	mezőhegyesi 5-ös, mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXIV-25 (Felhő)	GI03025Gi24	mezőhegyesi 5-ös	mezőhegyesi 5-ös, mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXIV-126 (Sirály)	GI07126Gi24	mezőhegyesi 13-as	mezőhegyesi 4-es
Gidrán Razbeg I-15 (Cirmos)	IM931222006	mezőhegyesi 14-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán-70 (Árvácska)	GI090700000	mezőhegyesi 14-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XI-45 (Kedves)	GI98045Gi11	mezőhegyesi 19-es	borodi 6-os
Déva Gidrán-18 (Linda)	GI000180000	mezőhegyesi 19-es	borodi 14-es
Gidrán XXI-40 (Nóra)	GI01040Gi21	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXVIII-23 (Balerína)	GI050230000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán Razbeg-23 (Szentál)	GI020230000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Mersuch-48 (Pötyi)	GI090480000	népies 23-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán Deva-71 (Isabeau)	GI970710000	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán-25 (Viola)	GI110250000	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXVIII-33 (Veronika)	GI050330000	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XI-44 (Vihar)	GI97044Gi11	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXIV-121 (Igáz)	GI07121Gi24	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXVIII-13 (Vidám)	GI040130000	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXIII-60 (Pipacs)	GI08060Gi23	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXII-42 (Bodza)	GI01942Gi22	borodi 14-es	borodi 14-es

Gidrán -29 (Bíbor)	GI060290000	borodi 14-es	borodi 14-es
Káder Gidrán 16 (Allűr)	GI000160000	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán-19 (Lejla)	GI030190000	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXVI-8 (Irisz)	GI09008Gi26	borodi 14-es	borodi 14-es
Gidrán XXVIII-34 (Erzsike)	GI050340000	borodi 16-os	borodi 16-os
Mabrouk Gidrán-20 (Bolondos)	SP900200000	borodi 17-es	borodi 17-es
Gidrán XVI-17 (Szalonka)	GI95017Gi16	borodi 18-as	borodi 18-as
Gidrán XXX-7 (Szandra)	GI11007Gi30	borodi 18-as	borodi 18-as
Mersuch Gidrán-50 (Szonja)	GI070500000	borodi 18-as	borodi 18-as
Gidrán XIX-34 (Zsinór)	GI98034Gi19	borodi 19-es	borodi 19-es
Déva Gidrán-20 (Bóbita)	GI010200000	borodi 19-es	borodi 19-es
204 Gidrán XI-55 (Brigitte)	GI98055Gi11	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán X-22 (Pántlika)	GI00022Gi10	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán-19 (Zille)	GI050190000	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán-31 (Pirkadat)	GI060310000	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán-131 (Panka)	GI051310000	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán-12 (Piri)	GI990120000	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán XIX-23 (Zárda)	GI97023Gi19	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán XIX-31 (Zsálya)	GI98031Gi19	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán XXIII-59 (Zefir)	GI08059Gi23	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán XXIV-93 (Emőke)	GI05093Gi24	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán XVI-31 (Ujdonság)	S95031Gi16	borodi 1-es	borodi 1-es
Déva Gidrán I-30 (Hajnalka)	GI070300000	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán XI-55 (Brigite)		borodi 1-es	borodi 1-es
Catalin Gidrán-13 (Zsófi)	GI070530000	borodi 1-es	borodi 1-es
Gidrán Kecses	GI100160000	borodi 2-es	borodi 2-es
Gidrán-17 (Kettri)	GI100170000	borodi 2-es	borodi 2-es
Déva Gidrán II-13 (Kényes)	GI080130000	borodi 2-es	borodi 2-es
Déva Gidrán (Kincs)	GI050360000	borodi 2-es	borodi 2-es
Gidrán Johanna	GI100110000	borodi 3-as	borodi 3-as
Gidrán-18 Jenna	GI100180000	borodi 3-as	borodi 3-as

Balu Gidrán-13 (Julia)	GI090130000	borodi 3-as	borodi 3-as
Balu Gidrán-16 (Jó tett)	GI090160000	borodi 3-as	borodi 3-as
Gidrán XXIV-117	GI07117Gi24	borodi 3-as	borodi 3-as
Gidrán XXIV-116 (Jegyes)	GI07116Gi24	borodi 3-as	borodi 3-as
Déva Gidrán-19 (Jutalom)	GI010190000	borodi 3-as	borodi 3-as
Déva Gidrán-15 (Jókedv)	GI010150002	borodi 3-as	borodi 3-as
Káder Gidrán (Jessy)	KB981670000	borodi 3-as	borodi 3-as
Káder Gidrán (Jósnő)	KB951450000	borodi 3-as	borodi 3-as
111 Gidrán VIII-9 (Jóság)	SP87009Gi08	borodi 3-as	borodi 3-as
Gidrán-13 (Vénusz)	GI 970130000	borodi 5-ös	borodi 5-ös
Gidrán Mersuch-11 (Alma)	GI090110000	borodi 5-ös	borodi 5-ös
Gidrán Déva-21 (Augusztá)	GI000210000	borodi 5-ös	borodi 5-ös
Gidrán Gruia-19 (Agota)	GI110190000	borodi 5-ös	borodi 5-ös
My Colt Gidrán-6 (Oberon)	GI990060000	borodi 6-os	borodi 6-os
Gidrán XI-49 (Ozirisz)	GI98049Gi11	borodi 6-os	borodi 6-os
Mersuch Gidrán-6 (Opál)	GI040060000	borodi 6-os	borodi 6-os
Gidrán XXIII-21 (Aluka)	GI00021Gi23	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXVII-8 (Bokréta)	GI08008Gi27	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXVIII-9 (Stefi)	GI110099Gi28	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán Cselszövő-23 (Boróka)	GI060230000	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXIII-46 (Enikő)	GI06046Gi23	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXVII-16 (Sellő)	GI09016Gi27	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXIV-36 (Dolina)	GI03036Gi24	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XI-93 (Léva)	GI02093Gi11	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán XXXVIII-37 (Anissa)	IM942100000/98	mezőhegyesi 11-es	mezőhegyesi 11-es
Gidrán X-43 (Ráchel)	GI03043Gi10	mezőhegyesi 12-es	mezőhegyesi 12-es
Gidrán XXIV-133 (Renáta)	GI07133Gi24	mezőhegyesi 12-es	mezőhegyesi 12-es
Gidrán XXIII-26 (Rebeka)	GI00026Gi23	mezőhegyesi 12-es	mezőhegyesi 12-es
Gidrán XXVII-10 (Fanni)	GI08010Gi27	mezőhegyesi 13-as	mezőhegyesi 13-as
Catalin Gidrán-2 (Uccu)	GI110020000	mezőhegyesi 15-ös	mezőhegyesi 15-ös
Gidrán-14 (Udvarhölgy)	GI040140000	mezőhegyesi 15-ös	mezőhegyesi 15-ös

Gidrán XXIV-114 (Luna)	GI06114Gi24	mezőhegyesi 15-ös	mezőhegyesi 15-ös
Gidrán XXIV-112 (Szumátra)	GI06112Gi24	mezőhegyesi 17-es	mezőhegyesi 17-es
Gidrán XXXIX-49 (Dóríka)	IM950342002	mezőhegyesi 17-es	mezőhegyesi 17-es
Gidrán XXVII-19 (Szárca)	GI09019Gi27	mezőhegyesi 17-es	mezőhegyesi 17-es
Gidrán XXIII-24 (Szucsevica)	GI00024Gi23	mezőhegyesi 17-es	mezőhegyesi 17-es
Gidrán-3 (Szúnyog)	GI040030000	mezőhegyesi 17-es	mezőhegyesi 17-es
Gidrán Razbeg I-8 (Imágó)	GI030080000	mezőhegyesi 18-as	mezőhegyesi 18-as
Gidrán XI-81 (Inka)	GI00081Gi11	mezőhegyesi 18-as	mezőhegyesi 18-as
Gidrán XI-30 (Illanó)	GI97030Gi11	mezőhegyesi 18-as	mezőhegyesi 18-as
Gidrán XXIV-103 (Ikon)	GI06103Gi24	mezőhegyesi 18-as	mezőhegyesi 18-as
Gidrán Razbeg II-9 (Idea)	GI080090000	mezőhegyesi 18-as	mezőhegyesi 18-as
Gidrán XXIII-33 (Fantázia)	GI00033Gi23	mezőhegyesi 18-as	mezőhegyesi 18-as
Cselszövő Gidrán I-25 (Karo)	GI070250000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Siglavý Bagdady Gidrán- 16 (Kelepce)	GI020160000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán Razb. I-13 (Kártyavár)	GI010130000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán Cselsz. I-38 Gidrán Cselszövő I-38 (kevény) (Kevely)	GI050380000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán-31 (Kedves)	GI050310000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán XXII-926 (Kökörccsin)	GI01926Gi22	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán-37 (Kökény)	GI090370000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Balu Gidrán-20 (Kaláris)	GI090200000	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán XI-26 (Katáng)	GI96026Gi11	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán XI-27 (Rita)	GI94027Gi11	mezőhegyesi 19-es	mezőhegyesi 19-es
Gidrán XXII-26 (Afrodité)	GI01026Gi22	mezőhegyesi 1-es	mezőhegyesi 1-es
Gidrán-49 (Szélmalom)	GI070490000	mezőhegyesi 1-es	mezőhegyesi 1-es
137 Gidrán XI-3 (Szamóca)	SP90003Gi11	mezőhegyesi 1-es	mezőhegyesi 1-es
Gidrán-17 (Klára)	GI110170000	mezőhegyesi 1-es	mezőhegyesi 1-es

Gidrán XXII-40 (Kátya)	GI01040Gi22	mezőhegyesi 1-es	mezőhegyesi 1-es
Gidrán XXVII-11 (Jázmin)	GI09011Gi27	mezőhegyesi 21-es	mezőhegyesi 21-es
Gidrán XXIII-53 (Jókedv)	GI07053Gi23	mezőhegyesi 21-es	mezőhegyesi 21-es
Gidrán XXII-33 (Jólélek)	GI01033Gi22	mezőhegyesi 21-es	mezőhegyesi 21-es
Gidrán XXIX-8 (Jerma)	GI11008Gi29	mezőhegyesi 21-es	mezőhegyesi 21-es
Gidrán-15 (Sába)	GI060150000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XII-36 (Selymes)	GI93036Gi12	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Deva Gidrán-19 Surda	GI920190000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XI-75 (Spiritusz)	GI00075Gi11	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XIX-40 (Smaragd)	GI99040Gi19	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán VI-2 (Spiné)	S 87002Gi06	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Sigl. Bagd. G-24 (Selyem)	GI080240000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán Razbeg I-12 (Sógorasszony)	GI020120000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXVIII-21 (Serény)	GI050210000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XI-34 (Sujtás)	GI97034Gi11	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXII-25 (Sárika)	GI01025Gi22	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXVIII-12 (Suhogó)	GI040120000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
235 Szikrázó Zita	KB920010000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXIV-144 (Varázslatos)	GI09144Gi24	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán Mersuch-9 (Hortenzia)	GI090090000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXIII-57 (Hamis)	GI07057Gi23	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XVI-18 (Hamvas)	GI02018Gi16	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXIV-81 (Hajnalka)	GI05081Gi24	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán Gruia-20 (Hóvirág)	GI110200000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XII-7 (Hanka)	GI95007Gi12	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán-66 (Hópehely)	GI090660000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán-45 (Hamupipőke)	GI090450000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán XXI-33 (Heroin)	GI00033Gi21	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Káder Gidrán-15 (Árnyék)	GI000150000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán Surdut-10 (Szisi)	GI040100000	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es

Gidrán XXI-25 (Sopron)	GI99025Gi21	mezőhegyesi 2-es	mezőhegyesi 2-es
Gidrán-33 (Szépség)	GI070330000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XXIV-120 (Sellő)	GI07120Gi24	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Razb. I-3 (Sulyom)	GI030030000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Kegyúr Gidr-19 (Maróca)	GI080190000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Razbeg I-4 (Mecénás)	GI030040000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XXIII-39 (Mimóza)	GI05039Gi23	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XXIV-150 (Mecéna)	GI10150Gi24	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XXIV-129 (Mese)	GI07129Gi24	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XXIV-2 (Szivárgó)	GI03002Gi24	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán-13 (Szamóca)	GI050130000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XXVII-9 (Pálma)	GI08009Gi27	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XVI-15 (Párta)	GI02015Gi16	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán-22 (Pannika)	GI110220000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Balu Gidrán-41 (Rezeda)	GI100410000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Siglavy Bagdady-2 (Rokokó)	GI020020000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Andor Gidrán-1 (Szandra)	GI010010000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
174 Gidrán XI-15 (Szendergő)	GI95015Gi11	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Andor Gidrán-17 (Szikra)	GI000170000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
181 Gidrán XI-14 (Mirza)	GI96014Gi11	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Siglavy Gidrán-18 (Szeder)	GI040180000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Razbeg-46 (Szirén)	GI050460000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Razbeg I-22 (Sztella)	GI030220000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
186 Gidrán XI-23 (Szirom)	GI96023Gi11	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Andor Gidrán-18 (Színarany)	GI010180000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Andor Gidrán-1 (Kacér)	GI990010000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Razbeg-45 (Szende)	GI050450000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as

Gidrán XXIV-40 (Szellő)	GI04040Gi24	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán XI-84 (Szentelen)	GI00084Gi11	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Ozora Szeles	KB933750000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
124 Gidrán VI-9 (Szenvedély)	S88009Gi06	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Balu Gidrán-21 (Pipacs)	GI120210000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán-74 (Pacsirta)	GI070740000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidrán Déva-5 (Pántlika)	GI980050000	mezőhegyesi 3-as	mezőhegyesi 3-as
Gidra-8 (Gerlice)	GI070080000	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán Déva-15 (Méri)	GI980150000	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán-17 (Zsöli)	GI080170000	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXIII-42 (Moha)	GI05042Gi23	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XVII-24 (Bársony)	GI95024Gi17	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán-24 (Gina)	GI110240000	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXVIII-28 (Márta)	GI050280000	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán-41 (Mákvirág)	GI090410000	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXII-34 (Galambom)	GI01034Gi22	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXVII-14 (Veretes)	GI09014Gi27	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XVII-31 (Aranyos)	GI94031Gi17	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXVII-28 (Vanda)	GI11028Gi27	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XIX-75 (Júlia)	GI02075Gi19	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XIX-74 (Viki, Vanda)	GI02074Gi19	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XXIII-50 (Méri)	GI07050Gi23	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XVI-16 (Gazella)	GI02016Gi16	mezőhegyesi 4-es	mezőhegyesi 4-es
Gidrán XI-4 (Nekeresd)	GI95004Gi11	mezőhegyesi 6-os	mezőhegyesi 6-os
Gidrán Razb. I-5 (Nagysád)	GI030050000	mezőhegyesi 6-os	mezőhegyesi 6-os
Gidrán XXIV-118 (Násztánc)	GI07118Gi24	mezőhegyesi 6-os	mezőhegyesi 6-os
Gidrán XII-11 (Nápolyi)	GI93011Gi12	mezőhegyesi 6-os	mezőhegyesi 6-os
Gidrán XXIII-1 (Niké)	GI99001Gi23	mezőhegyesi 6-os	mezőhegyesi 6-os
Gidrán XXII-27 (Napsugar)	GI01027Gi22	mezőhegyesi 6-os	mezőhegyesi 6-os

Siglavý Bagdady Gidrán-17 (Héber)	GI070170000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán-25 (Honvagy)	GI080250000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XI-11 (Hóvirág)	GI96011Gi11	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Balu Gidrán-19 (Harangszó)	GI090190000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXIV-61 (Harangvirág)	GI04061Gi24	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXVIII-7 (Hópehely)	GI10007Gi28	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Balu Gidrán-19 (Gréta)	GI100190000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gruia Gidrán-12 (Gruia)	IM951752000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XI-90 (Brokkoli)	GI0209Gi11	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXVII-12 (Bíbor)	GI09012Gi27	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XVIII-2 (Anikó)	GI99002Gi18	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Mersuch Gidrán-12 (Anettka)	GI090120000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXIV-137 (Anda)	GI08137Gi24	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Mersuch Gidrán -11 (Pehely)	GI080110000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXXIX-62 (Penta)	IM981231006	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXIV-48 (Szépség)	GI04048Gi24	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Diletant Gidrán-11 (Szikra)	GI920110000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
1809 Déva Gidrán-4 (Stefi)	GI940040000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXIV-1 (Sátán)	GI03001Gi24	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXIV-97 (Saci)	GI06097Gi24	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XI-85 (Sára)	GI01085Gi11	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Siglavý Bagdady Gidrán-19 (Séna)	GI060190000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXVI-1 (Sellő)	GI08001Gi26	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXIV-28 (Babona)	GI03028Gi24	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Mersuch XXII Gidrán-9	IM901400098	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán XXX-44 (Harmat)	GI07044Gi30	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es

Andor Gidrán-16 (Hercegnő)	GI010160002	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
171 Gidrán XI-2 (Szeszély)	GI95002Gi11	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán Razbeg-47 (Hóvirág)	GI050470000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Siglavy Gidrán-13 (Harangvirág)	GI030130000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán Razbeg-48 (Hérics)	GI050480000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Siglavy Gidrán-19 (Héra)	GI040190000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán-6 (Zsuzsa)	GI070060000	mezőhegyesi 7-es	mezőhegyesi 7-es
Gidrán Naum-51 (Dingir)	GI050510000	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán XI-3 (Sára)	GI96003Gi11	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán Razbeg I-16 (Sajna)	GI010160000	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán XXIV-114 (Suhanó)	GI07114Gi24	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán XXVII-18 (Fahéj)	GI09018Gi27	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán XXII-39 (Sármány)	GI01039Gi22	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Gidrán XXIV-27 (Futótűz)	GI03027Gi24	mezőhegyesi 8-as	mezőhegyesi 8-as
Mersuch Gidrán (Tia)	IM042002012	mezőhegyesi 9-es	mezőhegyesi 9-es
Gidrán XXIV-84 (Mosoly)	GI05084Gi24	nem ismert	egyedi haplotípus
Gidrán XXII-12 (Marina)	GI00012Gi22	nem ismert	egyedi haplotípus
Siglavy Bagdady Gidrán- 16 (Olimpia)	GI070160000	nem ismert	borodi 6-os
Gidrán Cselszövő. I-28 (Mézvirág)	GI080280000	nem ismert	mezőhegyesi 4-es
Gidrán-26 (Irónia)	GI080260000	nem ismert	mezőhegyesi 18-as
Gidrán XXIV-7 (Románc)	GI03007Gi24	nem ismert	mezőhegyesi 3-as
Szépség	BA051350000	nem ismert	egyedi haplotípus
Gidrán XIX-18 (Zelda)	GI97018Gi19	népies 22-es	népies 22-es
Gidrán XXIV-91 (Pörölő)	GI05091Gi24	népies 23-as	népies 23-as
Gidrán XXVII-23 (Bokréta)	GI09023Gi27	népies 9-es	népies 9-es
Gidrán XII-8 (Bokréta)	GI95008Gi12	népies 9-es	népies 9-es

13. táblázat: **A kutatásba bevont hucul kancák adatai.** A táblázat tartalmazza a lovak nevét, méneskönyvi azonosítóját és kancacsaládját, valamint a molekuláris vizsgálat által meghatározott kancacsaládokat. Szürke színnel emeltük ki azokat a mintákat, ahol a mtDNS vizsgálat eredménye, illetve a méneskönyvi kancacsalád nem egyeztethető össze. Csillaggal (*) a *Priskin és mtsai*, (2010) által is vizsgált mintákat jelöltük.

Név	Azonosító	Méneskönyv szerinti kancacsalád	Molekuláris vizsgálat szerinti kancacsalád
Hrobi Pacsi	HUN K HL060420000	882 Gelnica	882 Gelnica
Ousor Sunshine	HUN K TA962840000	Árvácska	Árvácska
Hrobby Hilka	HUN K HL100010000	12 Sarata	12 Sarata
Goral Jolan	HUN K HL050590000	4 Kitca	4 Kitca
Ousor Masni	HUN K HL020440000	12 Sarata	12 Sarata
Hrobby Hirvi	HUN K HL100020000	Árvácska	Árvácska
Goral Ejja	HUN K HL070040000	12 Sarata	12 Sarata
Goral Furge	HUN K HL080770000	Árvácska	Árvácska
Hrobby Iglic	HUN K HL110020000	Árvácska	Aspiráns
Hrobby Csenge	HUN K HL070580000	Árvácska	Árvácska
Polan Ostya	HUN K ZO990050000	Aspiráns	Aspiráns
Hrobby Luba	HUN K IM953992009	Wrona	Árvácska
Polan Okos	HUN K ZO990040000	Árvácska	Árvácska
Goral Fokos	HUN K HL080760000	Árvácska	Árvácska
Goral	XVII-26	nem ismert	2 Lucina
*Polan Picur	HUN K ZO00015000	1 Panca	1 Panca
Polan Rubin	HUN K ZO010050000	Árvácska	Árvácska
Ousor X-6 Csóka	HUN K IM011262006	4 Kitca	12 Sarata
Ousor Varádics	HUN K HL05075000	Aspiráns	Aspiráns
Goral Delibab	HUN K HL060290000	Árvácska	Árvácska
Hrobby Szende	HUN K HL080010000	4 Kitca	4 Kitca
Hrobby Gála	HUN K HL090040000	Árvácska	Árvácska
Hrobby Alíz	HUN K HL090030000	Aspiráns	Aspiráns
Pietrosu Zsazsa	IM084282008	12 Sarata	12 Sarata
Goral Angyal	HUN K HL04080000	Árvácska	Árvácska
Pietrosu Juliar	HUN K HL090390000	4 Kitca	4 Kitca
Pietrosu Őszike	HUN K HL090370000	12 Sarata	12 Sarata

Prislop X-16	N.A.	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Polan Galagonya	HUN K HL081240000	12 Sarata	86 Deremoxa
Goral Rozi	HUN K HL100430000	1 Panca	1 Panca
Pietrosu Picúr	HUN K HL101030000	3 Tatarca	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Prislop X-23 (Parázs)	IM014232010	17 Aglaia	17 Aglaia
Ousor X-38	IM083762012	5 Plosca	Aspiráns, 5 Plosca
Prislop Mókus	IM073772012	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Ousor Márta	HUN K HL030510000	2 Lucina	2 Lucina
Pietrosu Parázs	IM084232008	3 Tatarca	Árvácska
Pietrosu Csókos	IM084192008	4 Kitca	12 Sarata
Ousor Judit	HUN K HL030520000	4 Kitca	4 Kitca
Pietrosu XI-2 (Stea)	IM012482007	4 Kitca	4 Kitca
Pietrosu Pitypang	IM084222008	11 Rotunda	11 Rotunda
*Pietrosu X-14 (Tarpán)	IM951702008	12 Sarata	12 Sarata
Prislop X-33 (Maya)	IM032492007	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Prislop Lola	HUN K HL060040000	Árvácska	Árvácska
Ousor VIII-20 (Anett)	IM898910000	1 Panca	1 Panca
Goral Sudárka	HUN K HL020220000	Árvácska	Árvácska
Prislop T-1	import	nem ismert	2 Lucina
Prislop T-6	import	nem ismert	2 Lucina
Goral Sió Hl	HUN K HL020100000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Hajnal	HUN K HL100030000	12 Sarata	12 Sarata
Hroby Huncut	HUN K HS990030000	12 Sarata	12 Sarata
Polan Articsóka	HUN K HL070300000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Április	HUN K HL070490000	Árvácska	12 Sarata
Hroby Áldás	HUN K HL070170000	Árvácska	Árvácska
Prislop Aida	HUN K HL070150000	Árvácska	Árvácska
Hroby Angyal	HUN K HL070190000	12 Sarata	12 Sarata
Hroby Ágnes	HUN K HL070080000	Aspiráns	Aspiráns
Goral Olga	HUN K HL060310000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Hroby Boróka	HUN K HL080870000	Árvácska	Árvácska

Polan PEPI	HUN K ZO000080000	12 Sarata	12 Sarata
Polan ORSZÁG	HUN K ZO990070000	Árvácska	Árvácska
Goral Tengerszem	HUN K HL030610000	Aspiráns	Aspiráns
Goral Ursula	HUN K HL040110000	Árvácska	Árvácska
Goral Süni	HUN K HL020170000	Árvácska	Árvácska
Polan Optika (Olga)	HUN K ZO990030000	1 Panca	Árvácska
Ousor Enikő	HUN K ZO890090000	Aspiráns	Árvácska
Goral Suta/Csipke	HUN K HL020090000	12 Sarata	12 Sarata
Goral Szerénke	HUN K HL020080000	12 Sarata	12 Sarata
Hroby Csillag	HUN K HL090290000	Árvácska	Árvácska
Polan Nemes	HUN K ZO980080000	Árvácska	Árvácska
Hroby Borostyán	HUN K HL080880000	Aspiráns	Aspiráns
Polan Pikó	HUN K ZO000050000	Árvácska	Árvácska
Ousor Gertrud	HUN K ZO910080000	Árvácska	Árvácska
*Hroby Bolyhos	HUN K HL081030000	5 Plosca	Aspiráns, 5 Plosca
Hroby Becses	HUN K HL080950000	12 Sarata	12 Sarata
Prislop Bestia	HUN K HL081070000	1 Panca	1 Panca
Hroby Borsó	HUN K HL080850000	Aspiráns	Aspiráns, 5 Plosca
Hroby Boglárka	HUN K HL080840000	Aspiráns	Aspiráns, 5 Plosca
Polan Ormos	HUN K ZO990090000	Árvácska	Árvácska
Boglárka	HUN K HL080840000	12 Sarata	12 Sarata
Goral Szüvellő	HUN K HL020230000	Aspiráns	Aspiráns, 5 Plosca
Hroby Cirbolya	HUN K HL090240000	Aspiráns	Aspiráns, 5 Plosca
Prislop Bársony	HUN K HL080890000	Wydra	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Prislop Árvácska	HUN K HL070130000	Árvácska	Árvácska
Goral Ulrika (Boglárka)	HUN K HL040290000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Anka	HUN K HL070220000	Aspiráns	Aspiráns
Polan Naiv	HUN K ZO980090000	5 Plosca	egyedi haplotípus
Goral Tincs	HUN K HL030640000	Árvácska	Árvácska
Goral Vackor	HUN K HL050880000	Aspiráns	Aspiráns
Goral Ajno	HUN K HL030750000	Árvácska	Árvácska
Hroby Csenge	HUN K HL090220000	Árvácska	Árvácska
Hroby Adél	HUN K HL070060000	Árvácska	Árvácska
Hroby Bűvös	HUN K HL081040000	Árvácska	Árvácska

Hroby Csinos	HUN K HL090170000	Árvácska	Árvácska
Hroby Csöpke	HUN K HL090570000	Aspiráns	Aspiráns
Prislop Alma	HUN K HL070200000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Bíbor	HUN K HL080910000	Aspiráns	Aspiráns
Fundacja	41165	Wrona	egyedi haplotípus
Hroby Arany	HUN K HL070070000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Askam	HUN K HL070260000	Árvácska	Árvácska
Hroby Álom	HUN K HL070250000	Aspiráns	Aspiráns
Polan Zafir	HUN K ZO980010000	Aspiráns	Aspiráns
Goral Saci	HUN K HL020050000	Árvácska	Árvácska
Wazna	10441	Wydra	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Polan Nóri	HUN K ZO980030000	Aspiráns	Aspiráns
Ousor Lankás	HUN K ZO960020000	Aspiráns	Aspiráns
Ousor Dina	HUN K HL100550000	Árvácska	Árvácska
Goral Delfin	HUN K HL100680000	Árvácska	Árvácska
Polan Orsi	HUN K ZO990060000	Aspiráns	Aspiráns
Polan Nomád	HUN K ZO980070000	Árvácska	Árvácska
Pehely	N.A.	12 Sarata	12 Sarata
Polan Ordas	HUN KZO990080000	Árvácska	Árvácska
Hroby Bigyó	HUN K HL081050000	Árvácska	Árvácska
Ousor Dolina	HUN K HL100460000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Emma	HUN K HL110610000	1 Panca	1 Panca
Hroby Hamis	IM922272001	4 Kitca	4 Kitca
Goral Titkos	HUN K HL030660000	Árvácska	Árvácska
Hroby Mandula	HUN K HL051060000	70 Sekacka	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Goral Táncos	HUN K HL030730000	Árvácska	Árvácska
Hroby Wilia	IM021202008	Wydra	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Hroby Hurrikán	HUN K HL051020000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Gurgul Ékszer	HUN K HL110600000	12 Sarata	12 Sarata
Ousor Donna	HUN K HL100540000	Árvácska	Árvácska
Polan Nelli	HUN K ZO980020000	Aspiráns	Aspiráns
Ousor Dudás	HUN K HL100580000	Árvácska	Árvácska
Hroby Szemes	HUN K HL040380000	2 Lucina	4 Kitca, 17 Aglaia
Hroby Anita	HUN K HL070120000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Árven	HUN K HL070160000	Árvácska	Árvácska
Polan Rózsa	HUN K ZO010060000	Aspiráns	Aspiráns

Hroby Ledér	HUN K HL040510000	4 Kitca	4 Kitca
Polan Panni	HUN K ZO000030000	Aspiráns	Aspiráns
Polan Orgona	HUN K ZO990100000	12 Sarata	12 Sarata
Prislop Zelma (Kispatak)	HUN K HL060240000	Árvácska	1 Panca
Ousor Lidia	HUN K ZO96007000	1 Panca	1 Panca
Goral Fecske (F18)	HUN K HL120850000	Árvácska	Árvácska
Prislop Feeling	HUN K HL120950000	Aspiráns	Aspiráns, 5 Plosca
Goral Fanni (F20)	HUN K HL120870000	Aspiráns	Aspiráns
Prislop Ficánka (F6)	HUN K HL120740000	Árvácska	Árvácska
Pietrosu XI-11 (Veverica)	N.A.	5 Plosca	Aspiráns, 5 Plosca
Hroby Zerge	HUN K HL090590000	11 Rotunda	11 Rotunda
Hroby Zabola	HUN K HL100610000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Hroby Szamóca	HUN K HL100760000	12 Sarata	12 Sarata
Pietrosu Szelíd	HUNK HL100110000	4 Kitca	882 Gelnica
Pietrosu Bogár	HUN K HL100090000	4 Kitca	4 Kitca
Pietrosu Hajnal	HUN K HL100130000	Árvácska	Árvácska
Hroby Ilba	HUN K HL100620000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby Tormás	HUN K HL100630000	Árvácska	4 Kitca, 17 Aglaia
Pietrosu Jómadár	HUN K HL100100000	11 Rotunda	12 Sarata
Prislop IX-99 (Küklöpsz)	IM980272003	2 Lucina	2 Lucina
Pietrosu X-33	IM980302003	17 Aglaia	4 Kitca, 17 Aglaia
Prislop X-10	IM980282003	4 Kitca	4 Kitca
Ousor Bisztra	HUN K HL100310000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Ousor Ciróka	HUN K HL110250000	12 Sarata	12 Sarata
Goral Hera (Sorka)	IM023612011	882 Gelnica	882 Gelnica
Ousor Árva (E. Valika)	IM951472011	70 Sekacka	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Ousor Turgargur	HUN K HL081320000	11 Rotunda	11 Rotunda
Hroby Gyönyörű	HUN K HL020330000	882 Gelnica	882 Gelnica
Ousor Valcer	HUN K HL050730000	Árvácska	Árvácska
Polan Nuca	HUN K HL060600000	12 Sarata	12 Sarata
Ousor Csoda	HUN K HL081300000	17 Aglaia	882 Gelnica

Bravíz Baba	N.A.	nem ismert	Aspiráns
Hroby Tücsök	HUN K HL020360000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby XX-62 Aqua	IM922080098	4 Kitca	4 Kitca
Ousor Diana	HUN K ZO960060000	Árvácska	Árvácska
Hroby Csámpás	HUN K HL020390000	12 Sarata	12 Sarata
Hroby Böte	HUN K HL 051200000	12 Sarata	12 Sarata
Polan Árvácska	HUN K HL070340000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Obszidian	HUN K PT 010240000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Lena Prislop	IM033022011	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Galóca	HUN K HL040350000	12 Sarata	86 Deremoxa
Goral XIX-26	IM970342003	4 Kitca	86 Deremoxa
Goral Tüнемény	HUN K HL030580000	Aspiráns	Aspiráns
Gurgul VIII-15 (Miska)	N.A.	90 Machocha	egyedi haplotípus
Hroby Gabi	HUN K PT000310000	882 Gelnica	882 Gelnica
Hroby Fáklya	HUN K HL060430000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Patak	HUN K PT000300000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Virradat	HUN K HL020320000	Árvácska	4 Kitca
Ousor-112 (Pöttyös)	HUN K HL081120000	12 Sarata	882 Gelnica
Ousor-113 (Csíkos)	HUN K HL 081130000	12 Sarata	12 Sarata
Hroby Holdsugár	HUN K HL 030900000	882 Gelnica	Aspiráns
Hroby Rosszlány (Szelidecske)	HUN K HL 040340000	11 Rotunda	12 Sarata
Mira Csikója	N.A.	nem ismert	Árvácska
Hroby Tarsy	HUN K PT990360000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Kökény	HUN K HL020400000	882 Gelnica	882 Gelnica
Hroby Hortenzia	HUN K HL030780000	882 Gelnica	882 Gelnica
Goral Süsü	HUN K HL020130000	Árvácska	Árvácska
Goral Pünkösöd	HUN K HL090120000	Árvácska	Árvácska
Polan Pipacs	HUN K HL040330000	Árvácska	Árvácska
Goral Borzas	HUN K HL090110000	Árvácska	Árvácska
Hroby Boróka	HUN K HL020430000	Árvácska	Árvácska
Pietrosu X-31	Törzskancasz.: 767	nem ismert	4 Kitca, 17 Aglaia
Pietrosu X-8	Törzskancasz.: 748	nem ismert	12 Sarata
Hroby XXIII-20	N.A.	nem ismert	11 Rotunda

Polan Árnyék	HUN K HL070420000	882 Gelnica	882 Gelnica
Polan Adoma	HUN K HL070410000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Ánizs	HUN K HL070470000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Hroby Szipka	HUN K HL070610000	12 Sarata	2 Lucina
Polan Alkony	HUN K HL070370000	4 Kitca	4 Kitca
Polan Angyal	HUN K HL 070330000	11 Rotunda	11 Rotunda
Polan Akác	HUN K HL 070350000	17 Aglaia	4 Kitca, 17 Aglaia
Polan Ázsió	HUN K HL070380000	4 Kitca	4 Kitca
Ousor Pitypang	HUN K HL 120190000	882 Gelnica	4 Kitca, 17 Aglaia
Ousor Kincsem	HUN K HL 081190000	2 Lucina	2 Lucina
Hroby XX-62 Aqua	IM92208098	4 Kitca	4 Kitca
Prislop Róna	HUN K HL 110950000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Gáncsos	HUN K HL 030800000	12 Sarata	12 Sarata
Hroby Mandula	N.A.	70 Sekacka	70 Sekacka, Wydra, 3 Tatarca
Hroby Hajni	HUN K HL 120480000	Árvácska	4 Kitca, 17 Aglaia
Prislop Ánizs	HUN K HL 120600000	4 Kitca	882 Gelnica
Prislop Álom	HUN K HL 110490000	882 Gelnica	882 Gelnica
Hroby Galamb	HUN K HL 040530000	882 Gelnica	2 Lucina
Goral Szirom	IM020622003	882 Gelnica	882 Gelnica
Pietrosu X-29 Amazon	IM970292003	11 Rotunda	11 Rotunda
Prislop Kösöntyű	HUN K HL110720000	17 Aglaia	4 Kitca, 17 Aglaia
Hroby Kedves	HUN K HS000050000	Aspiráns	Aspiráns
Prislop Csillám	HUN K HL110800000	4 Kitca	4 Kitca
Hroby Antracit	HUN K HL030810000	86 Deremoxa	86 Deremoxa
Hroby Gilice	HUN K HL110750000	12 Sarata	12 Sarata
Polan Sziszi	HUN K HL 040560000	12 Sarata	882 Gelnica
Prislop Fellleg	HUN K HL 110510000	882 Gelnica	882 Gelnica
Ousor Gyöngyöm	HUN K HL 030500000	Aspiráns	Aspiráns
Goral Gyopár	HUN K HL 100220000	Aspiráns	Aspiráns
Ében	HUN K ZO890050000	Aspiráns	Aspiráns
Hroby XXII-36 Huri	IM012782009	Árvácska	Árvácska
Pietrosu Odett	HUN K HL 090360000	17 Aglaia	4 Kitca, 17 Aglaia
Goral Kecses	HUN K HL090340000	12 Sarata	12 Sarata
Polan Reni	HUN K ZO010100000	1 Panca	1 Panca
*Hroby Orsó HI		Wolga	4 Kitca

*Hroby Bryf HI		Bajkalka	egyedi haplotípus
*Gurgul Castor HI		84 Polónia	egyedi haplotípus
*677 Hroby Grad		17 Aglaia	17 Aglaia
*677 Prislop -8		825 Agla	egyedi haplotípus
*655 Ousor III-13		86 Deremoxa	86 Deremoxa
*568 Goral XIII-12		Bukovina	Bukovina
*34 Hroby VI-3		17 Aglaia	17 Aglaia
*514 Goral XIV-14		Bukovina	Bukovina
*730 Hroby XII-26		17 Aglaia	17 Aglaia
*Ousor IX 32		4 Kitca	4 Kitca
*Hroby XXII-35		86 Deremoxa	4 Kitca
*Pietrosu XI-8		86 Deremoxa	4 Kitca
*Prislop X-64		4 Kitca	12 Sarata
*Goral XIX-40		4 Kitca	4 Kitca
*Hroby Félős VI-15		Aspiráns	Aspiráns

14. táblázat: A gidrában kimutatott D-loop haplotípusok különböző elnevezései (*Nem publikált adatok; **Haplocsoportok)

D-loop haplotípusok	GenBank azonosító	Ning, T. et al. 2011* (PopSet: 401761235)	Qi, A. et al. 2012* (PopSet: 42626059)	Flannery, A.R. et al., 2003* (PopSet: 29650781)	Moridi, M. et al., 2013* (PopSet: 356650048)	Juras, R. et al., 2004* (PopSet: 50916302)	Achilli, A. et al., 2013** (PopSet: 374725290)	Peng M.S. et al., 2015* (DomeTree)
H1 _{10-loop}	KT818898	Hap_322, Hap_307, Hap_306, Hap_287, Hap_276, Hap_250	A2, A1	nk3, hf1, cs8, be2	-	-	-	AB
H1 _{20-loop}	KT818892	Hap_266	M1	-	-	P1	M	AB
H1 _{30-loop}	KT818893	Hap_290, Hap_242	-	fr5, fr6	-	HU1	C	J1
H1 _{40-loop}	KT818894	Hap_238, Hap_227, Hap_167	L8, L4, L37, L34, L33, L28, L13, L11, L27, L26, L24, L23, L22, L20, L2, L17, L16, L10, L1	fr1, d5, d4, be8, be7	-	PH3	-	J1
H1 _{50-loop}	KT818895	-	N4, N3, N2, N1	ex6, q2	-	-	N	L
H1 _{60-loop}	KT818896	-	N4, N3, N2, N1	-	-	PO2, GT1	-	L
H1 _{70-loop}	KT818897	-	-	-	-	-	-	R
H1 _{80-loop}	KT818891	Hap_272, Hap_230, Hap_216, Hap_189, Hap_163	N4, N3, N2, N1	-	H40	-	-	A1d
H1 _{90-loop}	KT818899	Hap_215	B2	ar2	-	H42	B	B1a
H1 _{100-loop}	KT818900	Hap_213, Hap_188, Hap_176	-	-	-	-	G	G1
H1 _{110-loop}	KT818901	-	H1	-	-	PV3	H	H-I
H1 _{120-loop}	KT818902	-	-	-	-	-	-	L
H1 _{130-loop}	KT818903	Hap_243	-	ar2	-	-	-	J2
H1 _{140-loop}	KT818904	-	-	-	-	-	-	K
H1 _{150-loop}	KT818905	-	L7	gr4	-	TK1	-	L
H1 _{160-loop}	KT818906	-	L6, L5, L31, L30, L29, L18, L15, L12	ba4, tb3, fr2, fr2	H10	HU2	L	L
H1 _{170-loop}	KT818907	Hap_291, Hap_225	-	sh1, sh4, gr5, at5, at6	-	-	-	OP
H1 _{180-loop}	KT818908	-	-	cb3	H41	-	-	J2
H1 _{190-loop}	KT818909	Hap_298, Hap_296, Hap_246, Hap_233	B1	ar6	H18	GT3	B	B1
H1 _{200-loop}	KT818910	Hap_300, Hap_229	-	-	-	-	-	D
H1 _{210-loop}	KT818911	-	I11, I12	-	H28	-	-	I
H1 _{220-loop}	KT818912	-	-	cj8	-	PO1, FH1	P	OP
H1 _{230-loop}	KT818913	Hap_341, Hap_283	M6, M5, M4, M3, M2	nk4, gr3, cb2, cb5, be5, at1	-	-	M	AB
H1 _{240-loop}	KT818914	Hap_222	-	-	-	-	-	G1a
H1 _{250-loop}	KT818915	-	-	-	-	-	-	J2
H1 _{260-loop}	KT818916	Hap_338	-	-	H32, H21	-	Q	G
H1 _{270-loop}	KT818917	Hap_310	-	so1, so7, ar5	-	H43	G	G
H1 _{280-loop}	KT818918	-	-	-	-	-	-	L
H1 _{290-loop}	KT818919	-	-	-	-	-	-	AB
H1 _{300-loop}	KT818920	Hap_272, Hap_230, Hap_216, Hap_189, Hap_163	-	nk6, at3	-	-	Q	A1d
H1 _{310-loop}	KT818921	-	-	gr4	-	TH1	L	G
H1 _{320-loop}	KT818922	-	-	-	-	-	-	A3

15. táblázat: A gidránban kimutatott *CYTb* haplotípusok különböző elnevezései (*Nem publikált adatok; **Haplocsoportok)

CYTb haplotípusok	GenBank azonosító	Qi, A. Et al., 2012* (PopSet: 426260659)	Ning, T. et al., 2014 (PopSet: 262348272)	Ning, T. et al., 2014 (PopSet: 183181282)	Achilli, A. et al., 2013** (PopSet: 374725290)	Peng M.S. et al., 2015 (DomeTree)
Ht1CYTB	KT792934	A1, A2, B1	101, 100, 98, 95, 94, 76, 70, 67, 59	hap30	A, B, C, D	H
Ht2CYTB	KT792935	M1, M2, M4, M5, M6, N2, N3, N4	80, 79, 57	hap13, hap12	N, M	M-N
Ht3CYTB	KT792936	-	93, 65	-	B	B1a2
Ht4CYTB	KT792937	-	-	-	-	
Ht5CYTB	KT792938	-	-	-	-	H
Ht6CYTB	KT792939	L9, L8, L6, L5, L4, L36, L35, L32, L31, L30, L3, L27, L23, L21, L19, L18, L17, L16, L15, L14, L13, L12, L10, L1	89	hap17	L	A1b
Ht7CYTB	KT792940	H1	-	hap43, hap44	H	H
Ht8CYTB	KT792941	-	-	-	-	M-N
Ht9CYTB	KT792942	L29	-	-	-	A-Q
Ht10CYTB	KT792943	-	48, 50, 97	-	K, J	JK
Ht11CYTB	KT792944	-	-	-	-	G1a
Ht12CYTB	KT792945	-	-	-	J	J2
Ht13CYTB	KT792946	-	92	hap37, hap38	R	A-Q
Ht14CYTB	KT792947	-	-	-	-	M-N
Ht15CYTB	KT792948	-	-	-	G	G1a
Ht16CYTB	KT792949	-	-	-	-	G1b
Ht17CYTB	KT792950	-	58	hap24, hap35, hap36	Q,P	M-Q
Ht18CYTB	KT792951	I9, I7, I6, I5, I4, I3, I16, I15, I14, I13, I12, I11, I10	53	-	I	H
Ht19CYTB	KT792952	-	-	hap31	O	M-Q
Ht20CYTB	KT792953	-	-	-	-	J2
Ht21CYTB	KT792954	-	-	-	-	M-Q
Ht22CYTB	KT792955	G8, G7, G6, G5, G4, G3, G2, G1	-	hap24, hap35, hap36	G, F	G3
Ht23CYTB	KT792956	-	-	-	-	D
Ht24CYTB	KT792957	-	-	hap18	L	L1b

13. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A – adenin

AHRA – Amerikai arab lovak jegyzéke,
Arabian Horse Registry of America

C – citozin

CYTB – citokróm b

COI/II – citokróm c oxidáz 1 és 2
alegysége

DAD-IS – Domestic Animal Diversity
Information System database of the FAO

dNTP – deoxiribonukleozid trifoszfát

ENSZ – Egyesült Nemzetek Szervezete

FAO – Egyesült Nemzetek
Szervezetének Élelmezésügyi és
Mezőgazdasági Szervezete, Food and
Agriculture Organization of the United
Nations

G – guanin

Ht – haplotípus

MEGA6 – Molecular Evolutionary
Genetics Analysis 6

mM – millimol

mtDNS – mitokondriális DNS

n – mintaszám

NCBI – National Center for
Biotechnology Information, Nemzeti
Biotechnológiai Információs Központ

PASB – Lengyel arab törzskönyv, Polish
Arabian Stud Book

PCR – polimeráz láncreakció,
polymerase chain reaction

SNP – egy nukleotidot érintő
polimorfizmus, Single Nucleotide
Polimorphism

T – timin

tRNS – transzfer ribonukleinsav

14. ÁBRÁK JEGYZÉKE

- 1. ábra:** Három éves fiatal gidrán kanca (Fotó: Novotni P.).
- 2. ábra:** A magyarországi gidrán egyedszám alakulása a FAO-DAD adatbázis alapján.
- 3. ábra:** Goral FÜRGE hucul mén (Fotó: Mihók S.)
- 4. ábra:** A magyarországi hucul egyedszám alakulása a FAO-DAD adatbázis alapján.
- 5. ábra:** A hucul fajta egyedszámainak megoszlása a különböző országok között a FAO-DAD adatbázisa alapján. Zárójelben a bejegyzés időpontja.
- 6. ábra:** A ló mitokondriális DNS sematikus ábrázolása. Külön kiemelve az általunk vizsgált *CYTB* és D-loop szakaszok láthatók.
- 7. ábra:** A ló mtDNS D-loop és *CYTB* szekvenciárészletei FASTA formátumban. A színek a szekvenciával identikus primerpárokat jelölik. Munkánk további szakaszában a piros színnel kiemelt „E” primerpárt találtuk legoptimálisabbnak.
- 8. ábra:** A tervezett primerpárok specifikálásának tesztelése gradiens PCR készülékkel. A képen 1 Kbp-os DNS létra (M), illetve a hét primerpár (A-G), tíz különböző hőmérsékletet (1=55 °C; 2=55,9 °C; 3=56,7 °C; 4=57,8 °C; 5=59,3 °C; 6=61 °C; 7=62,4 °C; 8=63,5 °C; 9=64,3 °C; 10=65 °C) jelöl.
- 9. ábra:** A *CYTB* gén haplotípusaival elkészített maximum likelihood gidrán törzsfa. Csillaggal az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat jelöltük.
- 10. ábra:** A 246 gidrán ló, 32 D-loop haplotípusaival elkészített maximum likelihood törzsfa. A különböző színek a *Jansen és mtsai* (2002) által meghatározott haplocsoportokat jelentik. Csillaggal az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat jelöltük.
- 11. ábra:** A *CYTB* és D-loop markerek együttes alkalmazásával kapott haplotípusok csoportosítása a DomeTree adatbázis alapján.
- 12. ábra:** A 250 gidrán kanca *CYTB* szekvenciájának analízisével elkészített cirkuláris filogenetikai törzsfa. Maximum Likelihood fa elkészítése során az úgynevezett bootstrap, azaz megismételhetőségi érték 1000 volt, kitekintésként a szamár (*Equus asinus*) szekvenciáját használtuk.

13. ábra: A 246 gidrán kanca D-loop régiójának analízisével elkészített cirkuláris filogenetikai törzsfá. Maximum Likelihood fa elkészítése során az úgynevezett bootstrap, azaz megismételhetőségi érték 1000 volt, kitekintésként itt is a szamár (*Equus asinus*) szekvenciáját használtuk.

14. ábra: A *CYTB* és a D-loop markerek együttes alkalmazásával készített, összesen 242 gidrán minta szekvenciáját magába foglaló median-joining filogenetikai hálózat. A körök mérete a mintaszámot, a színek pedig különböző kancacsaládokat ábrázolnak. A polimorfizmusokat a nóduszok között merőleges vonalakkal ábrázoltuk. A kancacsalád nem ismert a sárgával jelölt 247G és 202G minták esetében. Az ábrán feltüntetett kancacsaládok rövidítése a következő: m = mezőhegyesi; b = borodi; n = népies.

15. ábra: A *CYTB* gén haplotípusaival elkészített maximum likelihood hucul törzsfá.

16. ábra: A D-loop régió haplotípusaival elkészített maximum likelihood hucul törzsfá. Csillaggal az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat jelöltük.

17. ábra: A *CYTB* és D-loop markerek együttes alkalmazásával kapott haplotípusok csoportosítása a DomeTree adatbázis alapján.

18. ábra: A bioinformatikai vizsgálatokba bevont póni, illetve kisló minták származási helyei.

19. ábra: A bioinformatikai vizsgálatokba bevont póni, illetve kisló minták *CYTB* haplotípusainak megoszlása.

20. ábra: A bioinformatikai vizsgálatokba bevont póni, illetve kisló minták D-loop haplotípusainak megoszlása.

15. TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

- 1. táblázat:** A hucul fajta nemzetközi szervezete által elfogadott kancacsaládok
- 2. táblázat:** Az NCBI adatbázisból felhasznált póni, illetve kisló minták adatai
- 3. táblázat:** A vizsgálat során tervezett primerek specifikációi
- 4. táblázat:** A vizsgált mtDNS markerek fő diverzitásmutatói gidrán lovak esetében
- 5. táblázat:** A mtDNS markerek nukleotid frekvenciái a gidrán és a hucul lovakban
- 6. táblázat:** A 24 gidrán *CYTB* haplotípusok variábilis helyei. Az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat szürkével jelöltük.
- 7. táblázat:** A 32 gidrán D-loop haplotípusok variábilis helyei. Az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat szürkével jelöltük.
- 8. táblázat:** A vizsgált mtDNS markerek fő diverzitásmutatói hucul lovak esetében
- 9. táblázat:** A 13 hucul *CYTB* haplotípus variábilis helyei
- 10. táblázat:** A 22 hucul D-loop haplotípusok variábilis helyei. Az új, a GenBank adatbázisban korábban nem publikált haplotípusokat szürkével jelöltük

Melléklet:

- 11. táblázat:** A kombinált markerek és a *Priskin és mtsai* (2010) által alkalmazott D-loop marker alapján meghatározott kancacsaládok összehasonlítása a méneskönyvi adatokkal
- 12. táblázat:** A kutatásba bevont gidrán kancák adatai. A táblázat tartalmazza a lovak nevét, méneskönyvi azonosítóját és kancacsaládját, valamint a molekuláris vizsgálat által meghatározott kancacsaládokat. Szürke színnel emeltük ki azokat a mintákat, ahol a mtDNS vizsgálat eredménye, illetve a méneskönyvi kancacsalád nem egyeztethető össze.
- 13. táblázat:** A gidránban kimutatott D-loop haplotípusok különböző elnevezései. (*Nem publikált adatok; **Haplocsoportok)
- 14. táblázat:** A gidránban kimutatott *CYTB* haplotípusok különböző elnevezései. (*Nem publikált adatok; **Haplocsoportok)

16. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, **Dr. Jávor András** professzor úrnak szakmai támogatásáért, munkám irányításáért és a vizsgálatokhoz szükséges feltételek biztosításáért.

Köszönetet mondok **Dr. Kusza Szilviának** a vizsgálatok lebonyolításában nyújtott szakmai segítségért, hasznos tanácsaiért.

Hálásan köszönöm **Dr. Mihók Sándornak** a minták begyűjtésében nyújtott segítségét, munkám koordinálását, útmutatásait.

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani a **Kisbéri-félvér és Gidrán Lótenyésztő Országos Egyesületnek** és a **Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesületének** a molekuláris vizsgálatok anyagi támogatásáért, a minták rendelkezésemre bocsájtásáért.

Hálásan köszönöm Opponenseimnek, hogy elvállalták doktori munkám bírálatát és hasznos megjegyzéseiket.

Külön köszönöm az **Állatgenetikai Laboratórium összes munkatársának** a segítségét, türelmét, támogatását.

Az **Állattenyésztéstudományi Tanszék** valamennyi dolgozójának köszönöm a kisebb-nagyobb segítségét az eddigi szakmai életemben.

Rendkívül hálás vagyok **Családomnak és Barátaimnak** lelkes támogatásukért.

Külön szeretném megköszönni **fiamnak, Zsombornak és páromnak, Murnyák Baláznak**, hogy végig biztattak, mellettem álltak és segítettek, támogatásuk nélkül nem készülhetett volna el a dolgozatom.

17. NYILATKOZAT

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2017. 06. 26.

Sziszkosz Nikolett

Doktorjelölt

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy **Sziszkosz Nikolett** doktorjelölt 2012-2017 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításunkkal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységgel meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javasoljuk.

Debrecen, 2017. 06. 26.

Dr. Jávor András CSc.

Témavezető