

HAZAI CIGÁJA VÁLTOZATOK BIOKÉMIAI ÉS DNS POLIMORFIZMUSAINAK ÁTTEKINTŐ VIZSGÁLATA

GÁSPÁRDY ANDRÁS – KUKOVICS SÁNDOR – ANTON ISTVÁN –
ZSOLNAI ATTILA – KOMLÓSI ISTVÁN

Összefoglalás

A munka célja volt egyrészt két új cigája nyájnak a hagyományos biokémiai polimorfizmusok alapján való értékelése, másrészt DNS-polimorfizmus (nyolc mikroszatellita) vizsgálatok megkezdése (2002-től). Arra kerestek választ, hogy az egyes cigája állományok között milyen szoros genetikai kapcsolat áll fenn és hogy tartani kell-e a fajta beltenyésztéses leromlásától. A hemoglobin és az arileszteráz rendszerekben az apajpusztai ($Hb^A=0,0636$, 1997) nyáj nem tér el a szalkszentmártoni (Hb^A 0,0595, 1990) nyajától. Ugyanakkor, a Hb^A allél gyakorisága a jákotpusztai hegyi típusban (0,1611, 2003) kiugróan magas és a szalkszentmártoni nyajtól statisztikailag igazoltan eltérő. A hemopexin esetében az apajpusztai nyáj eltérése a szalkszentmártoni nyajtól igazolt. A szalkszentmártoni helyzethez képest az apajpusztai nyájban nincsenek meg a Tf^f , Tf^F és a Tf^p , a jákotpusztai nyájban a Tf^f és a Tf^p allélváltozatok. A nyájaknak a teljes vizsgálati állomány allélszámánál kisebb allélszámú nyájspecifikus mikroszatellita alléleket jelentenek. A teljes állomány átlagos mikroszatellit allélszáma 20,25, hatékony allélszáma 7,42, Shannon indexe 2,29. A biokémiai rendszerek alapján genetikai egyensúlyban talált nyájak a DNS polimorfizmusok szerint nincsenek egyensúlyi helyzetben (az OarFCB11 mikroszatellit kivételével). A hazai őshonos cigáják hegyi és alföldi változatait képviselő nyájak Nei-féle genetikai azonossága alacsony (0,6570); tehát e tájfajták tekintetben is különbözőnek genetikailag egymástól. A várt heterozigotizásban a nyájak külön-külön is (a kardoskúti és a ceglédi nyáj kivételével), de főként együtt elérték a 0,75 feletti kívánatos értéket, tehát, a hazai cigája nyájokban általában nem kell tartani beltenyésztéses leromlástól. A ceglédi tejelő cigája a genetikai polimorfizmus vizsgálatok szerint is egyértelműen elkülönül az őshonos cigájától.

SUMMARY

Gáspárdy, A. – Kukovics, S. – Anton, I. – Zsolnai, A. – Komlósi, I.: STUDIES ON BIOCHEMICAL- AND DNA POLYMORPHISMS OF HUNGARIAN TSIGAI SHEEP VARIANTS

The aim was to study two new Tsigai flocks based on traditional biochemical polymorphisms, to initiate modern population genetic investigation using DNA-polymorphisms (eight microsatellites). The genetic relationship among the individual herds have been estimated. In the haemoglobin and arylesterase systems the flock of Apajpuszta ($Hb^A=0.0636$, 1997) does not differ from the control flock of Szalkszentmárton (Hb^A 0.0595, 1990). However, the relative frequency of Hb^A allele in mountain flock of Jákotpuszta is high (0.1611, 2003), it differs from the control flock significantly. The flocks in Apajpuszta and Szalkszentmárton differ significantly from each others in the case of hemopexin. In comparison to the control flock, the flock of Apajpuszta does not have Tf^f , Tf^F and Tf^p alleles, while Tf^f and Tf^p alleles are missing in Jákotpuszta. The number of alleles per flock being less than the total number of alleles represents herd-specific alleles. The observed- and the effective number of alleles, as well as the Shannon's index in the total population were 20.25, 7.42, and 2.29, respectively. While the flocks were in genetic equilibrium according to the biochemical systems, equilibrium were not observed using DNA polymorphisms (with except of OarFCB11). The Nei's genetic identity of the two Hungarian native Tsigai flocks representing the mountain and lowland variants of the breed is low 0.6570; so these ecotypes differ genetically from each other in this respect too. The expected heterozygosity of the individual flocks (with except of flock in Kardoskút and of dairy flock in Cegléd) and especially together reached the value of 0.75; thus the flocks in this study generally are not endangered by inbreeding. Also according to the DNA polymorphisms the dairy Tsigai clearly differs from the native one.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Hazánkban az 1950-es évektől indult meg a juh vércsoport- és biokémiai polimorf rendszereinek vizsgálata. Juh fajban a vércsoportok és biokémiai polimorfizmusok komplex rendszerének vizsgálatát az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet végezte hivatalosan (Fésűs, 1974). Őshonos juh fajtáinkat 1964-től vonták be ilyen irányú vizsgálatokba, így az őshonos cigája és a tejelő cigája leírása, és a köztük lévő különbség kimutatása – a termelési tulajdonságokon túlmenően - ettől az időtől vált lehetővé.

A cigájában három jelentős, korai vizsgálatot kell megemlíteni, melyek nagyjából évtizedenként követték egymást: az 1964-es (bátmonostori), az 1976-os (csátaljai) és az 1990-es (szalkszentmártoni) mintagyűjtések. E vizsgálatok célja a populációra jellemző géngyakoriság megállapítása, illetőleg azok esetleges időbeli változásának a kimutatása, továbbá a magyarországi cigája fajta standardjának (csátaljai cigája nyáj, 1976) e téren történő megállapítása volt (Fésűs, 1986). A tejelő cigája feltérképezése 1990-ben történt meg először (Fésűs, 1992).

A kilencvenes évek második felében megkezdődött a fehérje polimorfizmusok DNS-alapú kimutatása PCR-RFLP technikával is, mint például a β -laktoglobulin (A, B és C allélek) és az α_s kazein genotipizálása (Anton és mtsai, 1997; 1999a és 1999b).

Az örökítőanyag közvetlen vizsgálata a juh fajban is teret nyert a biokémiai rendszerekben megfogalmazottakhoz hasonló céllal. A kutatók a genetikai információ és változatosság leírásán túlmenően igyekeztek kiválasztott géneknek más tulajdonságokkal (pl. a súlygyarapodással Komlósi és mtsai, 2005; a szaporodással Fésűs, 1999; a túlélőképességgel szintén Fésűs, 2000; a surlókérdéssel szembeni ellenálló-képességgel Zsolnai és mtsai, 2003, valamint Fésűs és mtsai, 2009; a tejtermeléssel Árnay és mtsai, 2009) való kapcsolatát is megállapítani.

Munkánk célja egyrészt új cigája nyájak bevonása és értékelése a hagyományos biokémiai polimorfizmusok alapján, másrészt DNS-polimorfizmusok felhasználása a korszerű állomány-genetikai vizsgálatokba. Feldolgozásunkban arra kerestünk választ, hogy az egyes cigája állományok között milyen szoros genetikai kapcsolat áll fenn és hogy tartanunk kell-e a cigája fajta beltenyésztéses leromlásától.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Biokémiai polimorf rendszer

Vérmintákat vettünk heparinos kémcsőbe Apajpusztán (Szomor Dezső nyája), 1997-ben 55, majd Jákotpusztán (Dedics Imre nyája) 2003 nyarán 82 cigája anyától.

A vérminták feldolgozása poliakrilamid-gél elektroforézissel történt Osfoori és Fésűs (1996) nyomán. Vérpaméter a hemoglobin, a transzferin, a hemopexin és az arileszteráz volt.

DNS polimorf rendszer

A vizsgált vérminták öt tenyészetből származnak. A kiválasztott tenyészetek közül két gazdaságban az őshonos cigája típusát, egyben a vegyes típust, és kettőben a

tejelő cigáját tartják. Tenyészetenként 48 egyedi vérmintát vettünk. Az őshonos cigája alföldi típusát képviseli a kardoskúti (Kőrös-Maros Nemzeti Park nyája) és a makói (Dani János nyája) tenyészet. A kardoskúti tenyészet erdélyi és délvidéki genetikai háttérrel rendelkezik. A Dani János tulajdonát képező juhállomány szintén az alföldi típust reprezentálja, bár jelen van ebben a tejelő cigája is. Az őshonos cigája hegyi típusát a jákotpusztai tenyészet képviseli. A tejelő cigáját reprezentáló vérminták Lédeczi Benő ceglédi nyájából és Opauszki János akasztói nyájából származnak. A vérmintákat 2002-ben és 2003-ban gyűjtöttük, EDTA-t tartalmazó csövekben történő levételüket követően azonnal fagyasztásra kerültek. A DNS sokszorosítására Perkin Elmer programozható PCR készüléket (DNA Thermal Cycler) használtunk. Multiplex PCR formájában a következő nyolc lókuszt vizsgáltuk: CSRD247, HSC, INRA063, MAF214, OarFCB304, OarFCB11, OarAE129, OarCP49.

A PCR elegy összemérésére steril fülkében került sor. Az amplifikálást a következő PCR körülmények között végeztük: 94 °C 1,5 perc, 49 °C 30 másodperc, 72 °C 30 másodperc. Ciklusszám: 26. A PCR termékek (mikroszatellit allélek) detektálását és analízisét ABI PRISM 310 Genetic Analyzer-rel (Applied-Biosystems) végeztük. Az adatbegyűjtés az ABI PRISM 310 Data Collection Software segítségével történt. Az allélok hosszának megállapítására a 310 GeneScan Analysis 2.1 és Genotyper programokat használtunk.

Mind a biokémiai-, mind a DNS polimorfizmusok feldolgozása az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet genetikai laboratóriumában zajlott; az utóbbi módszer bővebb leírása *Zsolnai és Orbán* (1999) munkájában megtalálható.

A biokémiai polimorfizmusok vizsgálatában a megfigyelt allél- és genotípus számból kiszámítottuk az allélok- és genotípusok megfigyelt gyakoriságát a Hardy-Weinberg egyenlettel. Az apajpusztai és a jákotpusztai nyájakat a korábban már vizsgált szalkszentmártoni értékekhez hasonlítottuk.

Chi²-tesztet alkalmaztunk a genetikai egyensúlyi helyzet ellenőrzésére, és a nyájak összehasonlítására (Statistica version 12., *StatSoft, Inc.*, 2005). A DNS-polimorfizmusok esetében a megfigyelt allélszámból a hatékony allélszámot, a Shannon-féle indexet (génikus változatosság), és a várt heterozigotitást határoztuk meg. Az adatok értékelésében a Wright-féle fixációs indexet alkalmaztuk a heterozigóta hiány és fölény jellemzésére. A Nei-féle genetikai távolságokat az allélgyakoriság ismeretében számoltuk ki (*Popgene 1.31*, 1999).

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Az 1. táblázat foglalja magába a hazai cigája nyájak korábbi eredményeit. E kutatások megállapították, hogy a nyájak genetikai egyensúlyban voltak, és az alföldi cigája nyájban nem mutatkozott időbeli változás. A három populáció voltaképpen ugyanaz az állomány, ami 1964-ben a bátmonostori Kossuth MgTsz-hez, 1976-ban a csátaljai Új Tavasz MgTsz-hez, majd pedig Szalkszentmártonba került kihelyezésre bértartásban. Ezek a tények a következetesen jól végrehajtott tenyésztői munkát dicsérik.

A 2. táblázatban találjuk meg újabb vizsgálataink eredményét. A hemoglobin rendszer kapcsán azt látjuk, hogy az apajpusztai nyáj nem tér el a szalkszentmártoni nyajtól. Az őshonos alföldi cigája Hb^A allél gyakorisága a későbbi felmérések idejére kicsit csökkent a korábbi vizsgálatokhoz (Bátmonostor 1964) képest, de az

utóbbi felmérések nem mutatnak változást. A Hb^A allél gyakorisága a jákotpusztai állatok esetében, amelyek az őshonos cigája hegyi típusát képviselik, kiugróan magas. A jákotpusztai és a szalkszentmártoni nyáj közötti különbség statisztikailag igazolt ($p < 0,001$). A ceglédi tejelő cigája állományban ez az érték feltűnően a legalacsonyabb volt.

Evans és munkatársai (1957) szerint a Hb^A allél (ami a hemoglobin-A molekula változatot határozza meg) gyakoribb a hegyi juhajtókban, mint a síkvidékiekben, mert a hemoglobin-A oxigénkötő képessége jobb, mint a hemoglobin-B-é. Úgy gondoljuk ez alapján, hogy a jákotpusztai nyáj magasabb Hb^A allél gyakorisági értéke utal hegyvidéki eredetére, megerősíti hovatartozását.

Glazko (1998) adatai alapján az ukrán és a moldáv cigája Hb^A gyakorisága nagyobb (f0,21 és f0,18), mint a hazaié. A szovjet cigájáé hasonló a mi „hegyi cigájánkhoz” (f0,15; Spiridonov, 1973 cit. *Kukovics és Jávör*, 2002), a jugoszláv cigájáé pedig figyelemre méltóan alacsony és a mi tejelő cigájánkéval egyező (f0,01; Ivanković és mtsai, 1985 cit. *Kukovics és Jávör*, 2002). *Wassmuth és munkatársainak* (2001) az alpesi juhajtókat felölelő összegző munkájában azt látjuk, hogy e fajták Hb^A gyakorisága 50% feletti (a bergschaf barna

1. táblázat

Négy biokémiai polimorfizmus korábbi relatív allélgyakoriságai

Polimorfizmus(1)	Bátmonostor, 1964 ¹ (2) (n=224)	Csátalja, 1976 ¹ (3) (n=224)	Szalkszentmárton, 1990 ² (4) (n=235)	Cegléd, 1990 ^{2*} (5) (n=227)
Hb ^A	0,0817	0,0594	0,0595	0,0163
Hb ^B	0,9183	0,9406	0,9405	0,9837
Tf ^I	0,0000	0,0435	0,0000	0,0000
Tf ^A	0,1313	0,1105	0,2064	0,2364
Tf ^B	0,2236	0,1173	0,2425	0,3158
Tf ^C	0,1393	0,2545	0,3192	0,0398
Tf ^D	0,4510	0,3783	0,2255	0,4603
Tf ^E	0,0117	0,0658	0,0042	0,0000
Tf ^F	0,0431	0,0301	0,0022	0,0343
Hpx ^A	-	-	0,9765	0,9711
Hpx ^B	-	-	0,0235	0,0289
EsA ⁺	-	0,2500	0,1830	0,4332
EsA ⁻	-	0,7500	0,8170	0,5668

* – Yates korrigált Chi²-tesztel vizsgáltuk a tejelő cigája eltérését a szalkszentmártoni cigájától: hemoglobin p=0,279; transferrin nem meghatározható; hemopexin p=1,000; arylesteráz p<0,001

Table 1. Relative allelic frequencies of four biochemical polymorphisms in earlier studies polymorphism (1); Tsigai flock of Bátmonostor (2); Tsigai flock of Csátalja (3); Tsigai flock of Szalkszentmárton (4); Dairy Tsigai flock of Cegléd (5)

* - Difference between flock of Szalkszentmárton and of Cegléd was controlled by Yates corrected Chi²-test: haemoglobin p=0.279; transferrin not determined; hemopexin p=1.000; arylesterase p<0.001

¹ – Fésűs, 1986

² – Fésűs és Al Dabbagh, 1991

színváltozatában ez az érték 0,857). Tibeti juhban szintén beigazolódott, hogy a tengerszint feletti magasság növekedése a Hb^B allélváltozat gyakoriságának csökkenését okozza, a heterozigóták aránya 40-50% közötti 2000 és 3000 m-es magasságban (de 4000 m felett a Hb^B ismét gyakoribbá vált; *Caijun és mtsai*, 1988).

Boujenane és munkatársai (2008) marokkói helyi juhajtásban a Hb^A allél lényegesen ritkább előfordulását állapították meg, a hemoglobin egy másik allélváltozatának (Hb^H) rendszeres jelenléte mellett. Ritka hemoglobin változatot (Hb^D) fedeztek fel 3 jugoszláviai egyedben (*Tucker*, 1971). *Fésüs* (1984a és 1984b) a Hb^A gyakoriságát a merinóban 0,1538-nek, a fekete rackában 0,0966-nak, a fehér rackában 0,0989-nek, míg a ciktaban 0,1410-nek találta.

A transzferin viszonylagosan kiegyensúlyozott gyakoriságot mutat, sem az apajpusztai, sem a jákotpusztai nyáj nem tér el számottevően a kontrollként felhasznált szalkszentmártonitól (bár statisztikai próbát a hiányzó genotípusok miatt nem volt módunkban végezni).

2. táblázat

**A biokémiai polimorfizmusok vizsgálatának újabb eredményei
(relatív allélgyakoriság (f) és szórás (±sd))**

Polimorfizmus(1)	„alföldi cigája” Apajpuszta, 1997*1(2) (n=55) q ±sd		„hegyi cigája” Jákotpuszta, 2003*2(3) (n=82) q ±sd	
Hb ^A	0,0636	0,0233	0,1611	0,0289
Hb ^B	0,9364	0,0233	0,8388	0,0289
Tf ^A	0,2364	0,0405	0,3171	0,0182
Tf ^B	0,3000	0,0437	0,1707	0,0136
Tf ^C	0,2454	0,0410	0,1768	0,0166
Tf ^D	0,2182	0,0394	0,2561	0,0111
Tf ^E	0,0000	0,0000	0,0793	0,0124
Tf ^F	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Hpx ^A	0,9910	0,0090	0,9752	0,0121
Hpx ^B	0,0090	0,0090	0,0247	0,0121
EsA ⁺	0,1818	0,0368	0,1585	0,0285
EsA ⁻	0,8182	0,0368	0,8415	0,0285

* - Yates korrigált Chi²-tesztel vizsgáltuk az apajpusztai és a jákotpusztai nyáj eltérését a szalkszentmártoni cigájától: hemoglobin p=0,239, ill. p<0,001; transzferin egyikben sem meghatározható; hemopexin p<0,001, ill. p=0,611; arileszteráz p=0,840, ill. p<0,001

Table 1. Recent results on biochemical polymorphisms (relative allelic frequencies (q) and standard deviations (sd))

polymorphism (1); “lowland ecotype” Tsigai flock of Apajpuszta (2); “mountain ecotype” Tsigai flock of Jákotpuszta (3)

* - Difference between flock of Szalkszentmárton and of Apajpuszta or of Jákotpuszta was controlled by Yates corrected Chi²-test: haemoglobin p=0.239 or p<0.001; transferrin none determined; hemopexin p<0.001 or p=0.611; arylesterase p=0.840 or p<0.001, respectively

¹ – Gáspárdy, 1998

² – Gáspárdy és mtsai, 2004

A transzferin rendszer vonatkozásában megállapítottuk, hogy az apajpusztai nyájban nincsenek meg a Tf^I , Tf^E és a Tf^P , a jákotpusztai nyájban, hasonlóan, a Tf^I és a Tf^P allélváltozatok. A Tf^I 1964-ben nem volt fellelhető a cigájában, de 1976-ban megjelent, ami merinó behatást sejtet (mindkét évben a teljes nyáj mintavételre került). Később ez az allélváltozat eltűnt, ezt a szalkszentmártoni nyájban sem lehetett már megtalálni. Fésűs (1978) szerint a Tf^I gén feltételezhetően ázsiai eredetű és valószínűleg merinóvérral került a cigájába. Viszont, bolgár és csehszlovák kutatók nem mutatták ki a Tf^I jelenlétét a cigájában (Fésűs, 1986).

Tf^I allélváltozatot találtak Wassmuth és munkatársai (2001) a waldschaf fehér színváltozatában.

A Tf^A allél génfrekvenciájának értéke a jákotpusztai állományban a legmagasabb, míg a Tf^B allél esetében a legalacsonyabb a legutolsó három vizsgálat alapján.

Fésűs (1978) úgy véli, hogy a Tf^B gén nagy valószínűséggel a kezdettől fogva jelen van a cigájában. Bulgáriai és csehszlovák cigája állományokat vizsgálva nem számoltak be a Tf^B allél jelenlétéről a kutatók (pl. Tyankov, 1972).

Ha a ceglédi tejelő cigája Tf^C és Tf^D alléljainak a gyakoriságát összevetjük a jákotpusztai és az apajpusztai értékekkel, akkor azt tapasztaljuk, hogy mindkét allél esetében magasabb, mint a másik két nyájban. A Tf^E allél az alföldi típusból az idők folyamán eltűnt, és nem található meg a tejelő cigájában sem, de a jákotpusztai állományban jelen van. Miután a tejelő cigájából és a hegyi típus esetén csak egy-egy vizsgálat áll rendelkezésünkre, nem zárhatjuk ki, hogy korábban az allél a tejelőben is jelen volt, illetve nem tudjuk, hogy a hegyi típusban milyen irányba változik az allél frekvenciája.

Úgy tudjuk, hogy az apajpusztai nyáj szalkszentmártoni eredetű. A gyakorisági értékek alapján az apajpusztai és a szalkszentmártoni állomány genetikai azonossága a Tf^I , valamint a Tf^E és Tf^P kivételével elfogadhatónak tekinthető.

Az apajpusztai nyáj hemopexin allélgyakoriságai igazolt eltérést mutattak a szalkszentmártoni gyakoriságoktól, de ez az eltérés szakmailag nem tekinthető lényegesnek. Hemopexin BB genotípust nem találtunk sem Jákotpusztán, sem Apajpusztán. Itt jegyezzük meg, hogy a megfigyelt- és a várt genotípus gyakorisági értékek alapján a statisztikai teszt genetikai egyensúlyi helyzetet igazolt a fenti három paraméterben, és mindkét nyájban.

Az EsA^- allél mindkét őshonos típusban gyakoribb, míg a tejelőben az EsA^+ és az EsA^- közel egyforma arányban fordul elő.

Csehszlovák cigájában a szérum D-vitamin-kötő fehérjéjének (Gc) jellegzetes változatai (F és S) mellett Kalab és munkatársai (1990) a V változatot ($f_v=0,015$) is kimutatták. Az apajpusztai nyájban végeztünk erre vonatkozó kiértékelést is, de nem találtunk V változatot ($S=0,9636$ és $F=0,0364$). A szóban forgó fehérje Gc^V allél változatát a waldschaf-ban Wassmuth és munkatársai (2001) kimutatták. Fésűs (1986) a cigájában kifejezetten gyakori X -protein jelenlétét ($X^+ 0,7193$) jellemző fajtabélyegnek tartja.

A 3. táblázatban figyelhetjük meg a nyolc mikroszatellit adataiból számított génikus változatosságot. A vizsgált mikroszatelliták megfigyelt allél változatainak nyájankénti száma viszonylag magas (magasabb, mint a biokémiai polimorf rendszerekben). A teljes vizsgálati állomány allélszámánál alacsonyabb üzemenként meghatározott értékek ritka, nyájspecifikus mikroszatellit alléleket jelentenek (a keresztezett makói állomány kivételével, amiben nincs nyájpecifikus allél). Né-

hány példát megemlítve: csak a jákotpusztai nyájban volt jelen az OarFCB304 z-alléja (f0,0222), illetve csak az akasztói nyájban fordult elő az OarCP49 s-alléja (f0,0104). Kizárólag a kardoskúti nyájban találtuk meg a HSC s-allélját (f0,0104). Az OarFCB304 h-alléja mindegyik őshonos nyájban előfordult, a tejelő cigájában viszont nem; a tejelő cigája sajátja az OarAE129 p-allél (f0,0641). A ritka allélek jelenlétét erősíti meg a teljes állományra is vonatkozó jelentősen lecsökkent hatékony allélszám és Shannon-féle index. A megfigyelt és effektív allélszám-érték közötti különbség felhívja a figyelmet a ritka allélváltozatok korai, néhány nemzedéken belüli elvesztésének veszélyére. A Shannon-féle index általánosan a vizsgált rendszer entrópiáját írja le, azonban kiválóan felhasználható az őshonos állományok „rendezettségének” megállapítására is (Szőke és mtsai, 2004). Az entrópia szintje kizárólag az allélgyakoriságtól függ. Ha egy bizonyos mikroszatellit allél gyakorisága csökken, az entrópia szintén csökken. Amennyiben az entrópia magasabb értékű, meg van a lehetőség a kérdéses allélváltozat populációban való megtartására. A 3. táblázat utolsó oszlopában szereplő viszonylagos entrópia (%) megmutatja, hogy a teljesen kiegyenlített allél gyakorisági esethez képest milyenek a vizsgált állományaink; ez alapján a ceglédi és a jákotpusztai nyájak kiegyenlítettebbek a többi nyájnál.

3. táblázat

A génikus gyakoriság statisztikája a nyolc mikroszatellit közös vizsgálatában

Nyáj(1)	Minta-szám(2)	Megfigyelt allélszám(3)		Hatékony allélszám(4)		Shannon-féle információs index(5)		
		átlag	szórás(6)	átlag	szórás(6)	átlag	szórás(6)	%(7)
Jákotpuszta	89	12,63	4,41	6,74	2,10	2,10	0,34	57
Kardoskút	95	10,00	3,16	4,77	2,00	1,73	0,40	52
Akasztó	80	10,88	2,95	5,05	1,73	1,83	0,41	53
Makó	96	9,63	3,16	5,16	2,09	1,81	0,33	54
Cegléd	96	14,00	3,16	7,32	2,05	2,19	0,28	58
Teljes(8)	457	20,25	4,40	7,42	2,02	2,29	0,27	53

Table 3. Genic variation statistics (according to joint evaluation of all the eight microsatellites) Tsigai flocks (1); sample size (2); observed no. of alleles (3); effective no. of alleles (4); Shannon's index (5); mean and standard deviation (6); relative Shannon's index (7); total (8)

Azt tapasztaltuk, hogy mikroszatellitenként és üzemenként is viszonylag kevés esetben volt Hardy-Weinberg genetikai egyensúlyban az állomány. A biokémiai rendszerek alapján egyensúlyban talált nyájak a DNS polimorfizmusok vizsgálata szerint eltérnek az egyensúlytól. Sikertült mégis találnunk egy DNS polimorfizmust, az OarFCB11 mikroszatellit, mely esetében valamennyi nyáj genetikai egyensúlyban volt. Az állomány genetikai egyensúlyának elvesztését –, többek között – a nagyobb fokú többesallélúság, a létszámában csökkenő nyáj, túl kevés kos használata, „idegen” egyedek megjelenése okozhatja. Nem tudjuk, de feltételezhető, hogy a ceglédi nyájban a Pivnicáról vásárolt apaállatok, Jákotpusztán pedig a túl tág ivararány (keves kos használata) volt felelős a kialakult helyzetért.

4. táblázat mutatja, hogy a várt heterozigotizás kismértékben nagyobb volt a megfigyelt heterozigotizásnál, ami gyenge heterozigóta hiányt sejtet. Ugyanakkor

a megfigyelt heterozigotizás 75% körüli, ami - általánosan elfogadottan - nem túlzottan beltenyésztett állományra vall. Nálunk tulajdonképpen a nyájak külön-külön is (a kardoskúti és a ceglédi nyáj kivételével), de főként együtt elérték ezt a kívánatos értéket, tehát, a hazai cigája nyájakban általában nem kell tartani a beltenyésztéses leromlástól.

4. táblázat

A heterozigotizás statisztikája a nyolc mikroszatellita közös vizsgálatában

Nyáj(1)	Minta-szám(2)	Megfigyelt heterozigotizás(3) átlag szórás(5)	Várt heterozigotizás(4) átlag szórás(5)
Jákotpuszta	89	0,79 0,16	0,85 0,06
Kardoskút	95	0,70 0,20	0,77 0,10
Akasztó	80	0,77 0,18	0,77 0,13
Makó	96	0,76 0,12	0,79 0,06
Cegléd	96	0,65 0,23	0,87 0,04
Teljes(6)	457	0,74 0,11	0,86 0,04

Table 4. Heterozygosity statistics according to Tsigai flocks (based on joint evaluation of all the eight microsatellites)

Tsigai flocks (1); sample size (2); observed heterozygosity (3); expected heterozygosity (4); mean and standard deviation (5); total (6)

Az 5. táblázat ismerteti a Wright-féle fixációs index (F_{is}) alakulását mikroszatellitenként és nyájanként. A CSRD247 genetikai marker esetében a heterozigóta hiány (pozitív F_{is} értékek) a ceglédi (0,79) és a jákotpusztai (0,47), az OarAE129 esetében a heterozigóta hiány a kardoskúti (0,56) tenyészetben volt kiemelkedően magas. A heterozigóta fölény (negatív F_{is} értékek) tekintetében alacsony értékekkel több tenyészetben is találkozunk, példaként ismét Jákotpusztát hozzuk fel. Állományonként a mikroszatellitek kisebb részében áll fenn heterozigóta fölény, ezért mindegyik mikroszatellit fixációs indexe pozitív a teljes vizsgálati cigája populációban. Három nyáj, a ceglédi (tejelő cigája), a kardoskúti, és a jákotpusztai érdemel fokozottabb figyelmet, hiszen ezekben található kiugróan magas heterozigóta hiány, és ezekben számolható alacsony fokú beltenyésztettség, annak ellenére, hogy a ceglédi és a jákotpusztai nyáj mutatta a legnagyobb génikus változatosságot (allélszám, Shannon-féle index).

A vizsgált nyájak közötti genetikai kapcsolat mértékét illetően a Nei-féle azonosság alapján az akasztói állomány a ceglédihez áll a legközelebb (a két tejelő cigája, 0,9014), de figyelemre méltó a kapcsolata a makói nyájjal (vegyes típus, 0,8276) is. A hegyi típust képviselő jákotpusztai és az alföldi típust képviselő kardoskúti nyájak elkülönülnek az akasztóitól (0,7009, ill. 0,7283), valamint a cegléditől (0,6201, ill. 0,4485) és a makóitól (0,7166, ill. 0,7801) is. A hazai őshonos cigáják hegyi és alföldi változatait képviselő nyájak Nei-féle genetikai azonossága hasonlóan alacsony (0,6570); tehát e tájfajták a fenti genetikai tekintetben is különböznek egymástól.

5. táblázat

A Wright-féle fixációs index (F_{is}) alakulása mikroszatellitánként

Mikroszatellit(1)	Jákotpuszta	Kardoskút	Akasztó	Makó	Cegléd	Teljes(2)
CSRD247	0,47	0,12	-0,04	0,01	0,79	0,24
HSC	0,20	0,01	0,05	0,01	0,44	0,16
INRA063	0,05	0,02	-0,05	0,04	0,19	0,09
MAF214	-0,16	0,05	0,03	-0,03	0,08	0,16
OarAE129	0,05	0,56	0,24	0,33	0,28	0,34
OarCP49	-0,07	-0,13	-0,07	0,11	-0,08	0,01
OarFCB11	-0,04	0,13	-0,14	-0,16	0,04	0,03
OarFCB304	-0,10	-0,14	0,03	0,01	0,10	0,05
Átlagosan(3)	0,07	0,09	0,00	0,04	0,25	0,14

Table 5. Alteration of the Wright's fixation index according to microsatellites and to Tsigai flocks as well

microsatellites (1); total (2); average (3)

Az European Regional Focal Point támogatásával a cigáják több országra kiterjedő, nagyszabású összehasonlító vizsgálata indult meg, aminek eredményeiről több fórumon is beszámoltak a résztvevők (*Possible way ...*, 2006; *Bátoriné Kusza*, 2006; *Jávör és mtsai*, 2007, *Kusza és mtsai*, 2006, 2008, 2009, 2010 és 2011). A feldolgozásba hazai részről 10 cigája tenyészetet vontak. Az összehasonlítás genetikai alapját 16, a jelen vizsgálatban használttól eltérő mikroszatellit képezte. A feldolgozásuk eredménye több ponton mutat hasonlóságot a miénkkel. Ilyen pl. az, hogy mindkettőben az akasztói nyáj mutatta a legalacsonyabb mértékű heterozigóta hiányt. A csókai és a zombori cigáják genetikai összehasonlítását végezték el *Činkulov és munkatársai* (2008) 23 mikroszatellit felhasználásával. 50-50 egyed képviselte a kétféle cigáját. Megállapították, hogy a két cigája változat valóban két különböző fajtának fogható fel (a zombori változatosabb allélösszetételű), s a csókait – létszámbeli veszélyeztetettsége folytán – különösen védeni szükséges. Kimutatták, hogy mindkét szerbiai cigája fajta beltenyésztett (heterozigóta hiánnyal jellemezhető), és közülük a zombori cigája képviseli a nagyobb génikus változatosságot.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A jákotpusztai juhok nem csak testalkatukban és termelési képességeikben, de örökítőanyagukban (pl. hemoglobin- és mikroszatellit változatok alapján) is eltérnek az alföldi típustól, és valószínűleg több szempontból is közelebb állnak a cigája ősi típusához. A „hegyi cigájában” a hemoglobin genotípusok arányát a tengerszint feletti magasság, és az itt uralkodó életkörülmények alakították ki a múltban, példát adva a természetes szelekcióra, a természetes szelekció következtében fellépő génsodródásra és adaptációra. Az őshonos állatfajta fenntartásában központi helyet foglal el a genetikai változatlansághoz való ragaszkodás, de az engedélyezhető genetikai megváltozás kételye is (*Gáspárdy*, 2011).

A tejelő cigája egyértelműen elkülönül az őshonos cigájától a genetikai poli-

morfizmus vizsgálatok szerint is, tehát indokolt volt a tejelő cigáját, mint külön fajtát törzskönyvezni. A fajta különválasztását kimagasló tejtermelő képessége és eltérő küllemi tulajdonságai indították el, amelyek háttérben kitenyésztett volta áll, és idegen vér hatása feltételezhető. A nagyobb génikus változatosságot eredményező idegen vér származhat például a karakül fajtából, amit a küllemi jegyek is alátámasztanak (feketén születő bárányok, hosszú és lelógó fülek), mely feltételezést további, teljes genomra kiterjedő költséghatékony populációvizsgálat bizonyíthatna. A jövőben érdemes lenne ez irányban is kutatni, felfedni a karakül és a tejelő cigája közt lévő esetleges genetikai kapcsolatot biokémiai- és DNS-polimorfizmusok alapján, felhasználva a világ juhállományain felvett adatokat is (*Kijas és mtsai*, 2009). Ezen tervezett vizsgálatok eredményei a fent említett feltételezést megerősíthetnék, illetve elvethetnék.

Öshonos állományokban nagy jelentősége van a fajta/nyájspecifikus (vagy annak vélt) allélváltozatok és -gyakoriságok megismerésének és fenntartásának. Ehhez a ritka allélt hordozó egyedeket meg kell menteni, akár kedvezőtlenebb küllemi-, termelési adottságai vagy akár kedvezőtlen priongenotípusuk mellett is (*Fésüs és mtsai*, 2004).

A hazai cigája nyájak nem tekinthető túlzottan beltenyésztettnek, így általában (a kardoskúti és a ceglédi nyáj kivételével) nem kell tartani a beltenyésztéses leromlástól.

A cigája állományok viszonylagos földrajzi és genetikai elkülönültségük ellenére sem zártak és a jövőben valószínűleg még kevésbé lesznek azok, mert országos párosítási terv szerint kerülnének a tenyészkosok az üzemekbe. Ennek megvalósításában segítenek a tenyészetek közötti rokonságot (genetikai kapcsolatot) becsülő módszerek (*Nagy és mtsai*, 2001), a rokontenyésztettség elkerülését célzó párosítási tervek (*Komlósi*, 2002), valamint a napjaink mérföldkövének tekinthető országos központi kosnevelés újjászervezése 2011-től.

A fajtafenntartásban nem csak a névnek, hanem az állatnak a karaktereivel való megőrzése is fontos, és ez a munka esendő lehet. A fajta „nyomonkövethetősége” érdekében indokolt az eddigi módszerekkel történő vizsgálatokat bizonyos rendszerességgel megismételni, értelemszerűen a tudomány és a technika fejlődésével elérhetővé váló legújabb módszerek bevezetése mellett.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket fejezzük ki a juhos gazdáknak és a vérvételek nagy részében és a minták beszállításában Molnár András kolléga úrnak. A vizsgálatok elvégzéshez nyújtott legjelentősebb pénzforrás az OTKA-T037518, „Hazai cigája állományok genetikai markerekre alapozott összehasonlító értékelése” pályázat volt, amihez Szomor Dezső úr, tenyésztő tag anyagi támogatása is hozzájárult.

IRODALOMJEGYZÉK

- Anton I. – Zsolnai A. – Fésüs L. (1999a): Identification of the variant C of β -lactoglobulin in sheep using a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. J. Anim. Breed. Genet., 116. 525-528.
- Anton I. – Zsolnai A. – Fésüs L. – Kukovics S. – Molnár A. (1999b): Survey of β -lactoglobulin and α_{S1} polymorphisms in Hungarian dairy sheep breeds and crosses on DNA level. Arch. Tierz., 42. 387-392.
- Anton I. – Zsolnai A. – Kukovics S. – Molnár A. – Fésüs L. (1997): β -lactoglobulin polymorphism in Hungarian milking sheep breeds and crosses. 48th Ann. Meet. EAAP, Vienna, Austria, 25-28. August
- Árnyasi M. – Komlósi I. – Lien, S. – Czeplédi L. – Nagy S. – Jávora A. (2009): Searching for DNA markers for milk production and composition on chromosome 6 in sheep. J. Anim. Breed. Genet., 126. 142-147.
- Bátoriné Kusza Sz. (2006): A genetikai távolság becslése cigája és zackel fajtakörbe tartozó juhállományok között, valamint három nem klasszikus immungén kifejeződés és polimorfizmus vizsgálata sertésben. Doktori (Ph.D.) értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen
- Boujenane, I. – Ouragh, L. – Benlamlih, S. – Aarab, B. – Miftah, J. – Oumrhar, H. (2008): Variation at post-albumin, transferrin and haemoglobin proteins in Moroccan local sheep. Small Rum. Res., 79. 113-117.
- Caijun, Z. – Wuxue, Z. – Gengli, Z. – Junxiang, L. (1988): Haemoglobin polymorphism and effect of altitude above sea level in Tibetan sheep. Chin. J. Anim. Vet. Sci., S1-022
- Činkulov, M. – Tapio, M. – Ozerov, M. – Kiselyova, T. – Marzanov, N. – Pihler I. – Olsaker, I. – Vegara, M. – Kantanen J. (2008): Genetic differentiation between the Old and New types of Serbian Tsigai sheep. Genet. Sel. Evol., 40. 321-331.
- Evans, J.V. – Harris, H. – Warren, F.L. (1957): Haemoglobin types in British breeds of sheep. Biochem. J., 65. 42.
- Fésüs L. (1974): A juh vércsoportjai I. Az első hazai vizsgálatok eredménye. Állattenyésztés, 23. 83-88.
- Fésüs L. (1978): A génrezervátumként fenntartott őshonos juhajták vércsoport- és biokémiai polimorfizmus vizsgálata. Állattenyésztési Kutatóintézet Közleményei, 131-139.
- Fésüs L. (1984a): The role of genetic polymorphism research in the conservation of rare breeds threatened by extinction. Animal Genetic Resources Conservation and Management. Manuscript, Manual, ed.: I. Bodó, Vol. II., 78-86.
- Fésüs L. (1984b): Újabb genetikai és biotechnikai módszerek az állattenyésztésben. Ma újdonság, holnap gyakorlat. Szerk.: Fésüs L., Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 20.
- Fésüs L. (1986): Őshonos juhajtáink immunogenetikai vizsgálatának eredményei. Őshonos és honosult háziállatfajtáink genetikai sajátosságai. Szerk.: Csató L., Mezőgazdasági Főiskola, Kaposvár, 94-104.
- Fésüs L. (1992): Blood group and biochemical polymorphism studies in Hungarian gene reserve sheep breeds. 2nd DAGENE-Symposium on Gene Conservation, Üllő, Hungary, 6-8. October
- Fésüs L. (1999): A FecB lokuszhoz kapcsolt OarAE101 és BM1329 mikroszatellit marker allélok gyakorisága a debreceni szapora merinó állományokban. Állattenyésztés és Takarmányozás, 48. 9-18.
- Fésüs L. (2000): Molekuláris genetikai markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban 7. Közlemény: A szarvasmarha, a juh és a sertés izmoltságát befolyásoló gének: myostatin, callopyge, myogenin. Állattenyésztés és Takarmányozás, 49. 289-299.
- Fésüs L. – Al Dabbagh, A. (1991): A génrezerv cigája és cikta állományok vércsoport és biokémiai polimorfizmus vizsgálatának eredményei. Állattenyésztés és Takarmányozás, 40. 411-416.
- Fésüs L. – Zsolnai A. – Anton I. – Sáfár L. (2009): Breeding for scrapie resistance in the Hungarian sheep population. Acta Vet. Hung., 56. 173-180.

- Fésüs L. – Zsolnai A. – Horogh G.P. – Anton I. (2004): A juhok surlókórja. 2. A priongenotípusok gyakorisága hazai őshonos juhállományainkban. MÁL, 126. 670-675.
- Gáspárdy A. (1998): Blood typing in a Tsigai flock. Paper. The 5th International Meeting of the DAGENE, Budapest, Hungary, 26-28. May.
- Gáspárdy A. (2011): Ecotypes - breed variants adapted to different environments, in example of Tsigai haemoglobin genotypes. 5th European Seminar on Agrobiodiversity, 22-25 September, Dimitrovgrad, Serbia, Combined Annual Meeting of SAVE and of DAGENE
- Gáspárdy A. – Anton I. – Megyerné Nagy J. – Fésüs L. – Eszes F. – Komlósi I. (2004): Hazai cigája állományok biokémiai- és DNS polimorfizmusokra alapozott összehasonlító vizsgálata. Előadás. Agrártermelés – Harmóniában a természettel, XXX. Óvári Tudományos Napok, PÁTE Mosonmagyaróvár, október 7.
- Glazko, V. (1998): személyes közlés
- Jávor A. – Huszenicza Gy. – Czeplédi L. – Árnási M. – Oláh J. – Szabó Sz. – Kukovics S. – Bősze Zs. – Novotniné Dankó G. – Kusza Sz. (2007): Molecular genetics methods, as tool of sheep breeding. Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii, Timișoara, 40. 117-130.
- Kalab, P. – Straltil, A. – Glasnak, V. (1990): Genetic polymorphism of serum vitamin D-binding protein (GC) in sheep and mouflon. Anim. Genet., 21. 317-321.
- Kijas, J.W. – Townley, D. – Dalrymple, B.P. – Heaton, M.P. – Maddox, J.F. – McGrath, A. – Wilson P. – Ingersoll, R.G. – McCulloch, R. – McWilliam, S. – Tang, D. – McEwan, J. – Cockett, N. (2009): A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. The International Sheep Genomics Consortium, PLoS ONE 4. (3). e4668.
- Komlósi I. (2002): Párosítás szimulációja kis és nagy populációban. Állattenyésztés és Takarmányozás, 51. 557-565.
- Komlósi I. – Anton I. – Fésüs L. (2005): Összefüggés egyes mikroszatellit markerek és a magyar merinó súlygyarapodása között. Állattenyésztés és Takarmányozás, 54. 521-527.
- Kukovics S. – Jávor A. (2002): A cigája fajta és jövője. In: Génmegőrzés; Kutatási eredmények régi háziállatfajták értékeiről, szerk: Jávor András és Mihók Sándor. ISBN 963 472 696 8 Licium-Art Könyvkiadó és Kereskedelmi Kft. Debrecen, 103-145.
- Kusza Sz. – Kukovics S. – Jávor A. (2006): A cigája változatok közötti genetikai távolság becslése. In: Génmegőrzés. Hagyományos háziállatfajták genetikai és gazdasági értékének tudományos feltárása, Szerk.: Mihók Sándor, Debreceni Egyetem, Debrecen, 64-69.
- Kusza Sz. – Gyarmathy E. – Dubravská, J. – Nagy I. – Jávor A. – Kukovics S. (2009): Study of genetic differences among Slovak Tsigai populations using microsatellite markers. Czech J Anim Sci., 54. 468-474.
- Kusza Sz. – Ivankovic, A. – Ramljak, J. – Nagy I. – Jávor A. – Kukovics S. (2011): Genetic structure of Tsigai, Ruda, Pramenka and other local sheep in Southern and Eastern Europe. Small Rum. Res., 99. 130-134.
- Kusza Sz. – Nagy I. – Sasvári Zs. – Stágel A. – Németh T. – Molnár A. – Kume, K. – Bősze Zs. – Jávor A. – Kukovics S. (2008): Genetic diversity and population structure of Tsigai and Zackel type of sheep breeds in the Central-, Eastern- and Southern-European regions. Small Rum. Res., 78. 13-23.
- Kusza Sz. – Nagy I. – Németh T. – Molnár A. – Jávor A. – Kukovics S. (2010): The genetic variability of Hungarian Tsigai sheep. Arch. Tierz., 53. 309-317.
- Nagy I. – Tormod, A. – Komlósi I. – Bálint P. (2001): Choosing a method for measuring genetic relation. Állattenyésztés és Takarmányozás, 50. 289-297.
- Osfoori, R. – Fésüs L. (1996): Genetic relationships of Iranian sheep breeds using biochemical genetic marker. Arch. Tierz., 39. 33-46.
- Popgene 1.31 (1999). Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, Quick User Guide, A joint Project Development by Francis C. Yeh and Rong-cai Yang, University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International Forestry Research; www.ualberta.ca/~fyeh/popgene.pdf

Possible way of conservation the multipurpose Tsigai and other indigenous sheep in Central, Eastern European and Balkan countries. 2006. Ed.: Sándor Kukovics and Kristaq Kume, RFP Project

- StatSoft, Inc. (2005): STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com
- Szőke Sz. – 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.
- Tucker. E.M. (1971): Genetic variation in the sheep red blood cell. *Biol. Rev.*, 46. 341-386.
- Tyankov, S. (1972): Study on the distribution of serum transferrins of some sheep breeds by starch gel electrophoresis. *Fiatal Mg-i Kutatók 3. Szimpóziuma, Szófia, 1970. október 26-28.*, 111.
- Wassmuth, R. – Hiendleder, S. – Mendel, Ch. – Erhardt, G. (2001): Biochemische Polymorphismen und Haupt-mtDNA-Haplo-typen bei Bergschafzassen und Waldschafen als Beitrag zur Abstammung der Hausschafe. *J. Anim. Breed. Genet.*, . 327-340.
- Zsolnai A. – Orbán L. (1999): Accelerated separation of random complex DNA patterns in gels: Comparing the performance of discontinuous and continuous buffers. *Electrophoresis*, 20. 1462-1468.
- Zsolnai A. – Anton I. – Kühn, C. – Fésüs L. (2003): Detection of single nucleotide polymorphisms coding for three ovine prion protein variants by primer extension assay and capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 24. 634-638.

Érkezett: 2013. február

A szerzők címe: Gáspárdy A.

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Állattenyésztési és Genetikai Osztály

Author's address: Szent István University, Faculty of Veterinary Science, Department for Animal Breeding and Genetics
H-1078 Budapest, István u. 2.
gaspardy.andras@aotk.szie.hu

Kukovics S. – Anton I. – Zsolnai A.

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés u. 1.

Komlósi I.

Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Állattenyésztési Tanszék
University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Department of Animal Breeding
H-4032 Debrecen, Böszörményi u. 138.