

MIKROSZATELLIT MARKEREK OPTIMALIZÁLÁSA MAGYARORSZÁGI PONTY (*CYPRINUS CARPIO* L.) TÁJFAJTÁKON ELŐZETES KÖZLEMÉNY

TÓTH BIANKA - BAGI ZOLTÁN - KÉZI TAMÁS - KUSZA SZILVIA

ÖSSZEFOGLALÁS

A domesztikációból, valamint a betelepítésekből kifolyólag a ponty (*Cyprinus caprio* L.) számos tájfajtaját különböztetjük meg Magyarországon. A szakértők, a tenyésztők és a halgazdaságok külön tájfajtaként tartják számon ponty állományaitak lelőhelyük és morfológiai paramétereik alapján. Molekuláris genetikai vizsgálatok mindeztáig csupán néhány magyar tájfajtára készűtek. Jelen tanulmány célja az volt, hogy bemutassa a kutatásba bevont mikroszateellit DNS markerek optimalizálása során kapott eredményeket. A vizsgálatához tizenhárom tájfajta egyedeinek farokűszőjából vettek szövetmintát (amuri vadponty, biharugrai pikkelyes, biharugrai tükűrűs, hortobágyi nyurga, hortobágyi pikkelyes, hortobágyi tükűrűs, szarvasi 15, szarvasi P3, szegedi pikkelyes, szegedi tükűrűs, szoboszlói pikkelyes, szoboszlói tükűrűs, tatai pikkelyes) 2017 őszén és telén, melyeket 22 mikroszateellit markerrel jellemeztek. Az optimalizálás során összesen 20 marker (Cca24, Cca67, MFW1, MFW2, MFW3, MFW4, MFW6, MFW7, MFW9, MFW11, MFW12, MFW13, MFW15, MFW16, MFW17, MFW20, MFW26, MFW28, MW29, MFW31) feltapadási hőmérsékletét sikerűlt meghatározni, amelyekkel a magyarországi ponty tájfajták genetikai diverzitását kívánták elvégezni. Hosszú távú cél, hogy az eredmények közvetlenül segítsék a magyar tájfajták genetikai védelmét, a beltenyésztettségű leromlás megakadályozását, ezzel közvetett módon segíthessék a haltermelőket a termelésorientált döntések meghozatalában.

Summary

Tóth, B. - Bagi, Z. - Kézi, T. - Kusza, Sz.: OPTIMIZATION OF MICROSATELLITE MARKERS IN HUNGARIAN COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) STRAINS. PRELIMINARY REPORT

Due to domestication and colonization, several strains of carp (*Cyprinus caprio* L.) are distinguished in Hungary. Experts, breeders and fish farms consider their carp populations as different strains, based on location and morphology. However, molecular genetic studies have been limited only to a few Hungarian strains. The aim of this study was to present the results of the optimization of microsatellite DNA markers. In the autumn and winter of the year 2017 samples from the tail fin of thirteen different Hungarian strains were collected (Amuri Wide, Biharugrai Scaled, Biharugrai Mirror, Hortobágyi Scaled, Hortobágyi Mirror, Hortobágyi Wide, Szarvasi 15, Szarvasi P3, Szegedi Scaled, Szegedi Mirror, Szoboszlói Scaled, Szoboszlói Mirror, Tatai Scaled). Twenty-two microsatellite markers were selected for the genetic characterization of Hungarian carp strains and to assess their genetic diversity. During the optimization, the annealing temperature of 20 markers (Cca24, Cca67, MFW1, MFW2, MFW3, MFW4, MFW6, MFW7, MFW9, MFW11, MFW12, MFW13, MFW15, MFW16, MFW17, MFW20, MFW26, MFW28, MW29, MFW31) was determined and results will be included in a further genetic diversity study of the Hungarian carp strains. Long-term goal after the study is to directly contribute to the genetic protection of Hungarian carp strains, to prevent inbreeding, and indirectly to help the fish producers to make production-oriented decisions.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A ponty (*Cyprinus carpio* L.) talán a legismertebb sugaras úszójú csontos hal a világon. Ez részben a domesztikációnak, részben pedig a betelepítéseknek köszönhető, amelynek eredményeként számos helyi és kultur fajta alakult ki világszerte (Komen, 1990, Balon, 2004). A ponty széles körben elterjedt és gazdaságilag jelentős halfaj Magyarországon természetes vizeiben és halgazdaságaiban egyaránt. A faj palearktikus elterjedésű ([http_1](#), [http_2](#)), amely valószínűleg az Aral-tó, valamint a Kaszpi-tenger vízgyűjtőjében alakult ki, majd terjedt el egész Euráziában (Balon, 1995). Európában a 16. században kezdődött a ponty tudatos tenyésztése, miután létrejöttek a hiányos pikkelyezettségű „tükrös” változatok (Bakos, 1968; Lehoczky, 2006). Már ebben az időben kialakultak bizonyos jellegekre szelektált változatok, főleg Német- és Csehországban (Pintér, 1979). Ezen változatokat (pl. aischgrundi, lausitzi, galíciai, wittingauai) felhasználva kezdték meg a magyarországi haltermelést, ahol az 1950-es évekre alakult ki több, a helyi viszonyokhoz alkalmazkodó, tájfajta (pl. bikali, dinnyési, hortobágyi, nagyatádi stb.) (Bakos és mtsai, 1997; *Magyar Halgazdaság és Technológiai Fejlesztési Platform*, 2010). Ezt követően további helyi törzsek kialakítására került sor a különféle környezeti hatások és a halgazdálkodók tenyésztési erőfeszítéseinek eredményeként. Az Európai Unió tagállamai közül Magyarország a harmadik legnagyobb pontytermelő ország (FAO, 2016; MAHAL, 2016). A Szarvasi Haltenyésztési Kutatóintézet (NAIK-HAKI) 1962 óta 30 ponty fajtát (15 hazai és 15 külföldi) gyűjtött és tartott fenn (Bakos és Gorda, 1995). Ezen ponty törzsek között szignifikáns különbségeket találtak a kvantitatív jellemzőkben és ezek a tulajdonságok következetesen öröklődtek az utódokban. Ezeket a pontypopulációkat Bakos (1979) „tájfajtáknak” nevezte el (Kirpichnikov, 1981; Bakos és Gorda, 1995). A ponty hazánkban 1993-ban került az Állattenyésztési törvény hatálya alá (1993. évi CXIV. törvény az állattenyésztésről). Ettől az évtől kezdték meg a magyarországi ponty tájfajták teljesítményvizsgálatát, mellyel a genetikai előrehaladás vagy leromlás mérhető a populációkban (Gorda, 2003). A magyar halgazdaságok külön tájfajtaként tartják számon ponty állományait, amelyek esetében számottevő fenotípusos különbség nem észlelhető (Lehoczky, 2006; Gorda, 2012). Magyarországon kizárólag csak fajtaelismeréssel rendelkező, vagy fajtaelismerésre bejelentett, fajták vagy hibridek szaporíthatók, amelyek rendelkeznek az eredetükről szóló fajtaelismeréssel (Lehoczky, 2006; Gorda és Borbély, 2014). A vonalak fajtamegújító teljesítményvizsgálatára öt évente kerül sor az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet (OMMI) által. A vizsgált tulajdonságok: életképesség, megmaradási százalék, növekedőképesség, takarmányértékesítő-képesség, vágóérték, zsírtartalom, testméretindexek és örökletes testi hibák (Gorda és Borbély, 2014). Lehoczky és mtsai (2005) tanulmányukban ugyanakkor megjegyezték, hogy a teljesítményvizsgálat nem tartalmaz genetikai szűrést. A NAIK-HAKI ponty génbankjában 2016 óta, és jelenleg is, összesen 26 tájfajtát, ebből 18 hazai (7 tájfajta mélyhűtött génbankban, 1 tájfajta élő génbankban és 10 tájfajta élő és mélyhűtött génbankban egyaránt fellelhető) és 8 külföldi (mind a 8 tájfajta mélyhűtött génbankban fellelhető, 3 tájfajta pedig élő génbankban is megtalálható) tájfajtát tartanak fenn (Lehoczky és mtsai, 2018). A tenyésztett halfajok közül kizárólag a ponty esetében vannak államilag elismert fajták Magyarországon. Jelenleg a fajták állami elismeréséhez szükséges részletes eljárásrendet valamint

követelményeket a tenyésztőszervezeti és fajtaelismerés rendjéről szóló 123/2005 (VII.27.) FVM rendelet szabályozza. Hazánkban eddig 21 tenyésztőszervezet 33 tájfajtát jegyzett be (*Lengyel és Udvari, 2017; Lehoczky és mtsai, 2018*). Ezen felül azonban a halgazdaságok szinte mindegyike megkülönböztet további tájfajtákat, mint például biharugrai pikkelyes, szegedi pikkelyes, tatai pikkelyes stb., amelyek azonban fajtaelismeréssel nem rendelkeznek, így ezeket a tájfajtákat jelenleg csak fajtajelölteknek vagy tenyészállományoknak tekinthetjük. Említésre méltó például *Gorda (2003)* tanulmánya, amelyben 9 Magyarországon államilag elismert tájfajtán (bikali tükrös, dinnyési tükrös, hortobágyi pikkelyes, hortobágyi tükrös, nagyatádi tükrös, szegedi tükrös, szoboszlói tükrös, tatai pikkelyes, varászlói tükrös) kívül (*Gorda és Bakos, 1995; Gorda, 2003*) további 10 tájfajtát említ (balatoni pikkelyes, böszörményi pikkelyes és tükrös, felsősomogyi tükrös, palkonyai tükrös, sumonyi tükrös, szarvasi 2, szarvasi 15, szarvasi piros, szoboszlói pikkelyes). Genetikai vizsgálatok hiányában azonban jelenleg még nem áll rendelkezésre adat a tájfajták genetikai tisztaságáról és variabilitásáról. A világon azonban a faj gazdasági és ökológiai jelentősége miatt folyamatosan készülnek genetikai markerekkel végzett tanulmányok (*Zhou és mtsai, 2004; Zhang és mtsai, 2008; Kongchum és mtsai, 2010*), amelyek a kutatók szerint elengedhetetlenek a halak kezeléséhez, a hal-keltetők által kiváltott lehetséges genetikai hatások (így például beltenyésztettségi leromlás, gerincdeformitás stb.) ellensúlyozására, illetve a ponty fajták genetikai javítására (*Vandeputte, 2003; Mabuchi és mtsai, 2006; Mondol és mtsai, 2006; Chistiakov és Voronova, 2009*).

Hazánkban a ponty tájfajták genetikai változatosságáról szóló tanulmányok a NAIK-HAKI génbankban fellelhető tájfajtákról először transzferrin polimorfizmus módszerét használva készültek (*Márián és mtsai, 1984; Szerencsés és mtsai, 1990; Váradi és mtsai, 1993; Csizmadia és mtsai, 1995; Lehoczky és mtsai, 2018*). A szarvasi génbankból származó tájfajták közül *Szerencsés és mtsai (1990)* 10 pontypopulációt vizsgált 348 db anya és anyajelölt bevonásával. *Csizmadia és mtsai (1995)* vizsgálatában pedig összesen 15 tájfajtát jellemeztek, amelyből magyar tájfajtaként a tiszai vadponty, a hortobágyi és a felsősomogyi tájfajták, a P3 és a szarvasi 215 hibridek kerültek bevonásra a NAIK-HAKI génbankjából. *Váradi és mtsai (1993)* kutatásukban ugyancsak a transzferrin polimorfizmus módszerét alkalmazták a dinnyési tájfajta genetikai struktúrájának jellemzésére.

A transzferrin polimorfizmus módszer használatát követően a mitokondriális DNS polimorfizmus vizsgálatok terjedtek el, amely napjainkban is alkalmazott technika a tájfajták filogenetikai jellemzéséhez. Ezt a módszert használva *Wang és mtsai (2010)* a kínai és magyar pontyfajták származási kapcsolatát elemezték a dunai vadponty (Dunából és a NAIK-HAKI génbankból), a velencei tavi (a Velencei tóból), a móríczhelyi, a fresineti és a szegedi magyar tájfajták bevonásával. *Froufe és mtsai (2002)* összesen 32 egyed, melyek közül kettő a Duna magyarországi szakaszából gyűjtött dunai vadponty és kettő a Tisza magyarországi szakaszából gyűjtött tiszai vadponty volt, bevonásával alátámasztották a ponty ázsiai eredetét (*Lehoczky és mtsai, 2018*).

Ez a két módszer azonban csak részleges információt nyújt a genetikai diverzitásról. Számos tanulmányban többféle genetikai marker azonosításáról is olvashatunk, többek között a mikroszatellit markerekről is, ponty fajban (Zhou és mtsai, 2004; Zhang és mtsai, 2008; Kongchum és mtsai, 2010, Tóth és mtsai, 2017), amely markerek különösen alkalmasnak bizonyultak a közeli rokon populációk közötti genetikai különbségek kimutatására, magas mutációs rátájuknak (Avisé, 2000) valamint kodomináns öröklődésüknek (Fésüs és mtsai, 2000) köszönhetően. Több kutatócsoport különböző számú mikroszatellit markert (legkevesebb 4, legtöbb 15) használt kutatásaihoz, elsősorban a helyi ponty tájfajták jellemzéséhez (Mondol és mtsai, 2006; Hulak és mtsai, 2010; Ghelichpour és mtsai, 2013; Tomljanovic és mtsai, 2013). A magyar ponty populációk és tájfajták genetikai jellemzéséről is készültek tanulmányok ilyen markerek használatával. Bártfai és mtsai (2003) két magyar pontytenyésztő gazdaság (Dinnyés és Attala) teljes pontyállományát a RAPD markerek mellett mikroszatellit analízissel is elemezték 8 markert felhasználva (MFW4, MFW7, MFW9, MFW13, MFW17, MFW20, MFW26, MFW31). Megállapították, hogy a mikroszatellit DNS markerek, a RAPD markerekkel szemben, részletesebb információt nyújtanak. Eredményeik azt mutatták, hogy a két tájfajta genetikai háttere nagyon hasonló. Lehoczky és mtsai (2010) kísérletsorozatukban 6 mikroszatellit DNS markert (MFW1, MFW4, MFW6, MFW7, MFW16, MFW28) alkalmaztak a Magyarországról származó dunai és tiszai vadpontyok vizsgálatához. A NAIK-HAKI génbankjában fenntartott egyedekből illetve természetes populációkból gyűjtöttek tájfajtákat Lehoczky és mtsai (2007), majd 8 mikroszatellit DNS marker segítségével értékelték a hazai ponty tájfajták fajspecifikus variációját, filogenetikai történetét és populációgenetikáját. A magyar, elsősorban dunántúli, ponty tájfajtákról átfogó képet adtak Lehoczky és mtsai (2005). Vizsgálatukban 12 mikroszatellit DNS markert (Cca21, MFW3, MFW6, MFW7, MFW9, MFW10, MFW12, MFW13, MFW14, MFW16, MFW23, MFW29) használtak a magyar ponty tájfajták (három domesztikált tájfajta: biharugrai, szarvasi, tatái és három vadponty: dunai, kis-balatoni, tiszai) genetikai jellemzésére. A ponty mikroszatellit markerekkel történő vizsgálatokat nagyban elősegíti a Xu és mtsai (2014) által leírt *Cyprinus carpio* songpu törzs genomtervezete, valamint az a ponty genetikai kapcsolódási térképéről szóló tanulmány, amelyben a 272 felhasznált marker közül 110 mikroszatellit marker volt (Sun és Liang, 2004).

A tiszántúli ponty tájfajtákról átfogó molekuláris genetikai vizsgálat ugyanakkor eddig még nem készült. A halgazdaságok és szakemberek által elkülönített több tájfajta kapcsán a fenotípusos jellemzésekről is csupán egy-egy leírás lelhető fel. A magyar tájfajták genetikai módszerekkel történő elkülönítésének igénye viszont feltétlenül indokoltá teszi a tervezett vizsgálatunkat, hiszen a tájfajtákra jellemző genetikai diverzitás sikeres megőrzése csak úgy lehetséges, ha pontosan ismerjük genetikai hátterüket. Jelen tanulmányunk célja az volt, hogy bemutassuk a kutatásunkba bevont mikroszatellit DNS markerek optimalizálása során kapott eredményeinket, amely első, de egyúttal elengedhetetlen lépése tervezett vizsgálatunknak. Munkánkhoz kapcsolódó jövőbeni kitűzött célunk, hogy felhasználhatóvá tegyünk 22 mikroszatellit markert a magyar ponty tájfajták genetikai jellemzéséhez és genetikai diverzitásának meghatározásához.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Mintavételezés

2017 szeptember-december között 12 domesztikált tájfajtától, amelyből jelenleg 5 tájfajta rendelkezik állami elismeréssel (biharugrai tükrös, hortobágyi nyurga, hortobágyi pikkelyes, hortobágyi tükrös, szegedi tükrös) és 7 olyan tájfajtától, amely fajtaelismeréssel jelenleg még nem rendelkezik (biharugrai pikkelyes, szarvasi 15, szarvasi P3, szegedi pikkelyes, szoboszlói pikkelyes, szoboszlói tükrös, tatai pikkelyes), továbbá amuri vadpontytól, mint a statisztikai értékelésekhez felhasznált külső kontrolltól, gyűjtöttünk szövetmintákat a halak farokúszójából. A mintavételek öt halgazdaságban az őszi lehalászás alkalmával, valamint a NAIK-HAKI (Szarvas) génbankjában fellelhető mintákból történtek (1. ábra).

1. ábra A vizsgálatunkba vont magyar tájfajták, valamint mintavételi helyeik

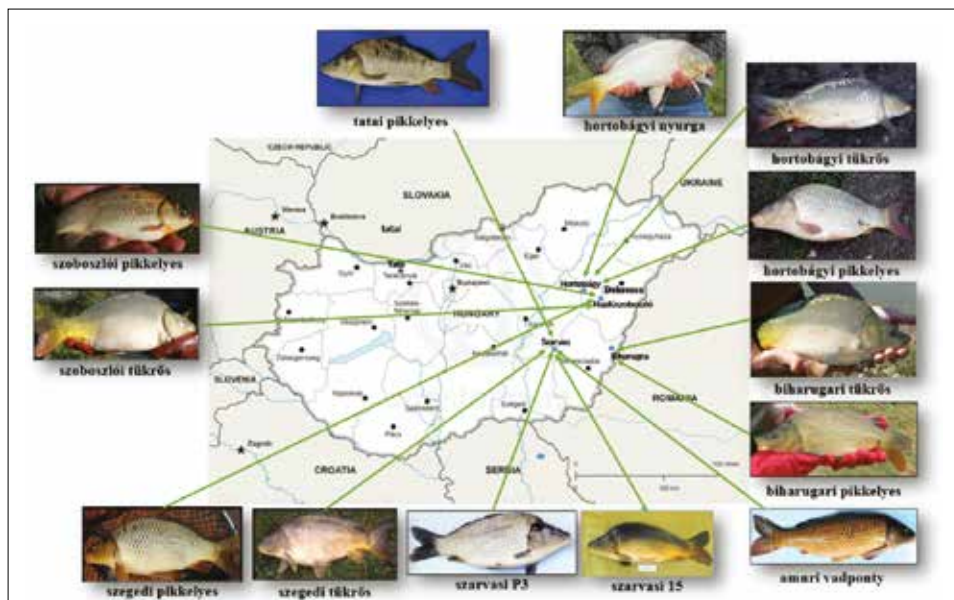


Figure 1. Hungarian strains included in the study and sampling places

Forrás: saját felvétel (biharugrai tükrös és pikkelyes, hortobágyi nyurga, tükrös és pikkelyes, szoboszlói pikkelyes és tükrös, szegedi pikkelyes és tükrös), internetes forrás: amuri vadponty, tatai pikkelyes, szarvasi 15, szarvasi P3, térkép)

Az egyes tájfajták és mintavételi helyeik az alábbiak voltak: amuri vadponty – Szarvas (NAIK-HAKI), biharugrai pikkelyes – Biharugra, biharugrai tükrös – Biharugra, hortobágyi nyurga – Hortobágy, hortobágyi pikkelyes – Hortobágy, hortobágyi tükrös – Hortobágy, szarvasi 15 – Szarvas (NAIK-HAKI), szarvasi P3 – Szarvas (NAIK-HAKI), szegedi pikkelyes – Debreceni Egyetem MÉK Hallabor, szegedi tükrös – Szarvas (NAIK-HAKI), szoboszlói pikkelyes – Debreceni Egyetem MÉK Hallabor, szoboszlói tükrös – Hajdúszoboszló, tatai pikkelyes – Szarvas (NAIK-HAKI)

A halak farokúszójából egyedenként 0,5-3 cm-es darabokat metszettünk le, amelyeket 96%(v/v) etanolban -20 °C-on tároltunk a genomiális DNS kivonásáig. A halak farokúszójából történő mintavételre az egyedek szegfűszeg olajos (1 csepp tömény olaj és 1 liter víz arányban) bódítása után került sor.

Genomiális DNS kivonása

A genomiális DNS izolálása EZNA Tissue DNA kittel (Omega Bio-Tek, Norcross, GA) történt, a gyártó utasításait követve. Az izolált gDNS koncentrációját Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, USA) spektrofotométerrel mértük.

Mikroszatellitek kiválasztása, PCR

Munkánk során a korábbi tanulmányokból törekedtünk összegyűjteni mindazon mikroszatellit markereket, amelyeket leggyakrabban használtak és leginkább polimorfnek bizonyultak a pontyfajok diverzitásának jellemzése során. Az optimalizáláshoz szükséges volt meghatározni a PCR kondíciókat, valamint az amplifikációhoz szükséges elegy összetevőit. Összesen 22 mikroszatellit markert (Cca24, Cca67, CypG24, MFW1, MFW2, MFW3, MFW4, MFW6, MFW7, MFW9, MFW11, MFW12, MFW13, MFW15, MFW16, MFW17, MFW20, MFW23, MFW26, MFW28, MW29, MFW31) választottunk ki, és kezdtük meg optimalizálásukat (Crooijmans és mtsai, 1997; Mondol és mtsai, 2006; Hulak és mtsai, 2010; Ghelichpour és mtsai, 2013; Tomljanovic és mtsai, 2013) a forward primer fluoreszcens megjelölésével.

A PCR körülmények a következők voltak: 10 µl reakció-térfogatban (dNTP (2mM) /Fementas/, 10x Gotaq Flexi Buffer /Promega/, MgCl₂ (25 mM) /Promega/, reverse és fluoreszcensen jelölt forward primer (100 pmol/µl) /Eurofins Genomics/, GoTaq Flexi DNA Polymerase (5 u/µl) /Promega/, dH₂O, 100 ng/µl izolált gDNS. Az amplifikálás egy kezdeti denaturálási lépéssel indult 4 percre 94 °C-on, majd 35 cikluson keresztül 30 másodpercre denaturálás 94 °C-on, 30 másodpercre primer bekötés X °C-on (1. táblázat), 45 másodpercre elongáció 72 °C-on és a végső lépés 10 percre 72 °C-on történt, hogy biztosítsuk a Taq polimeráz aktivitását. A PCR-t Gradient PCR Biometra Tone (Analytik Jena AG, Germany) és DNA Engine Peltier Thermal Cycler Gradient Cycler (Bio-Rad, USA) készülékekben végeztük. Az általunk vizsgálatba vont 13 tájfajtából, tájfajtánként 12 egyedből származó mintát használtunk fel az optimalizálás során. A sikeres amplifikálást 2%-os agaróz gélen (100 ml 1xTAE, 5 µl Ethidium bromid) 50 bp létra használatával ellenőriztük UV fény alatt. Az eredmények alapján határoztuk meg, hogy mely mikroszatellit markerek alkalmasak a további felhasználásra. A szakirodalomban közöltek alapján összegyűjtöttük, hogy a kísérletünkbe bevont mikroszatellit markerek, mely fragment tartományon belül várhatók.

EREDMÉNYEK

Összesen 22 mikroszatellit markert teszteltünk, amelyek a szakirodalmi forrásokban leírtak alapján a leggyakrabban használt és igen polimorf markereknek tekintettek. Az általunk vizsgálatba vont 13 tájfajtában, tájfajtánként 12 egyedet vizsgáltunk. A mikroszatellit markerek közül gradiens PCR segítségével hús

(Cca24, Cca67, MFW1, MFW2, MFW3, MFW4, MFW6, MFW7, MFW9, MFW11, MFW12, MFW13, MFW15, MFW16, MFW17, MFW20, MFW26, MFW28, MFW29, MFW31) marker feltapadási hőmérsékletét határoztuk meg (2. ábra).

2. ábra A vizsgálatba vont mikroszatellit DNS markerek optimalizálásának bemutatása a hortobágyi pikkelyes tájfajta egy egyedén

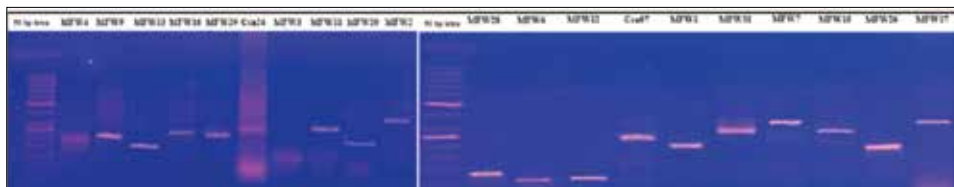


Figure 2. Visualization of the optimization of microsatellite DNA in an individual of the Hortobágyi Scaled strain

Az optimalizálás során 2 (MFW23, CypG24) mikroszatellit marker nem működött.

A működő mikroszatellit markerek közül a szakirodalomban megadott hőmérsékleten 9 marker (MFW1, MFW12, MFW16, MFW17, MFW20, MFW26, MFW28, MFW29, MFW31), a szakirodalomtól eltérő hőmérsékleten 11 marker (Cca24, Cca67, MFW2, MFW3, MFW4, MFW6, MFW7, MFW9, MFW11, MFW13, MFW15) mutatott eredményt (Crooijmans és mtsai, 1997; Yue és mtsai, 2004; Mondol és mtsai, 2006; Thai és mtsai, 2007; Hulak és mtsai, 2010; Ghelichpour és mtsai, 2013; Tomjanovic és mtsai, 2013) (1. táblázat).

1. táblázat

A PCR analízis során alkalmazott mikroszatellit markerek jellemzői

Mikroszatellit marker	Forward primer szekvencia (5'-3')	Reverse primer szekvencia (5'-3')	Feltapadási hőmérséklet (°C) optimalizálást követően	Fragment tartományok (bp) irodalmi adatok alapján	Referencia
Cca24	AAATTTTCAAGACTGGGTGGTT	ACAGCAAGATGACAAAATGAGTG	60	229-298	Yue mtsai, 2004
Cca67	GTAGCCCCAAAAGATGTAGCA	TGGTCAAGTTCAGAGGGCTGAT	60	229-294	Yue mtsai, 2004
MFW1	FTGCCAGACTGTCAACAGGAG	GAGGTGTACACTGAGTCAACGC	60	219-271	Crooijmans mtsai, 1997
MFW2	CACACCGGGCTACTGCAGAG	GTGCAGTGCAAGCAGTTTGC	63	200-228	Crooijmans mtsai, 1997
MFW3	FTCCAGAAAGTACAGAGAAG	CCTTACAGAAAACCTGTTGC	58	144-182	Crooijmans mtsai, 1997
MFW4	FTCAAGTCAGTTTAATCAACG	GGGAAGCGTTGACAAACAGC	59	130-170	Crooijmans mtsai, 1997
MFW6	FACCTGATCAATCCCTGGCTC	TTGGGACTTTTAAATCAGTTG	60	130-219	Crooijmans mtsai, 1997
MFW7	TACTTTGCTCAGGACGAGTGC	ATCACGTGACATGGCACTC	63	192-262	Crooijmans mtsai, 1997
MFW9	FGATCTGCAAGATATCTGTGG	ATCTGAACCTGCACTCTCT	59	92-144	Crooijmans mtsai, 1997
MFW11	FGCATTTGCTTTGATGTTGTG	TCGCTGGTTTAGAGTGCTGC	60	124-210	Crooijmans mtsai, 1997
MFW12	FTTTATTAGATAATTAATTAGCA	GATAGAAGTCGATGGAAAGTCC	60	86-178	Crooijmans mtsai, 1997
MFW13	ATGATGAGAACATTTGTTACAG	TGAGAGAACAAATGGGATGAC	58	188-272	Crooijmans mtsai, 1997
MFW15	FTCTCTGTTTGTGTTGGAAG	GTTCAGAAAGTCATTTCAGC	59	136-264	Crooijmans mtsai, 1997
MFW16	GTCCATTGTGCAAGATAGAG	TCTTCATTGAGGCTGCAAG	60	127-188	Crooijmans mtsai, 1997
MFW17	CTCAACTACAGAGAAATTCATC	GAAATGGTACATGACCTCAAG	60	242-278	Crooijmans mtsai, 1997
MFW20	CAGTGAGACGATTACCTTGG	GTGAGCAGCCACATTGAAC	60	122-186	Crooijmans mtsai, 1997
MFW26	CCCTGAGATAGAAACCACTG	CACCATGCTTGGATGCAAAAG	60	108-172	Crooijmans mtsai, 1997
MFW28	FGATCCCTTTGAAATTTTCTAG	ACAGTGAAGTCCAGAAAGTCG	60	284-304	Crooijmans mtsai, 1997
MFW29	FGTTACCAAGAAGCAACATGC	GAAGCTTTGCTCTAATCCACG	60	147-183	Crooijmans mtsai, 1997
MFW31	FCCTTCCTCTGGCCATTCTCAC	TACATCGCAGAGAAATTCGAAG	60	282-302	Crooijmans mtsai, 1997

Table 1. Characteristics of microsatellite markers used in PCR analysis

A fragmenthossz tekintetében 14 (Cca24, Cca67, MFW1, MFW2, MFW4, MFW7, MFW9, MFW11, MFW13, MFW17, MFW20, MFW26, MFW29, MFW31) marker az irodalmi adatokkal megegyező fragment tartományon belül, míg 6 az irodalomban megadott fragment tartománytól eltérően alacsonyabb (MFW3, MFW6, MFW12, MFW28), illetve magasabb (MFW15, MFW16) fragmenthossz tartományon is eredményt mutatott.

KÖVETKEZTETÉSEK

Az optimalizálás során a szakirodalomból választott 22 mikroszatellit markerből 20 marker (Cca24, Cca67, MFW1, MFW2, MFW3, MFW4, MFW6, MFW7, MFW9, MFW11, MFW12, MFW13, MFW15, MFW16, MFW17, MFW20, MFW26, MFW28, MFW29, MFW31) volt sikeresen amplifikálható a vizsgálatunkba vont magyar ponty tájfajtákból származó mintákból.

A továbbiakban a vizsgálatunkba vont összes egyed genotipizálását követően a genetikai diverzitás és struktúra meghatározására alkalmas mutatókat kívánjuk meghatározni a tájfajtákon belül és között különböző értékelő programokkal, szoftverekkel. Hosszútávú célunk, hogy eredményeink közvetlenül segíthessék a magyar tájfajták védelmét, a beltenyésztéses leromlás megakadályozását, valamint közvetett módon segíthessék a haltermelőket a termelésorientált döntések meghozatalában. A tájfajták molekuláris genetikai jellemzése elősegítheti a tájfajtákra jellemző genetikai szerkezet megőrzését. Amennyiben ugyanis pontosabban meghatározzuk az egyes fajták genetikai hátterét, annál jobb lehetőség lesz a beltenyésztettség felmérésére, ezáltal módunk lesz vérfrissítési javaslatokat, illetve keresztezési terveket kidolgozni. A továbbiakban tervezett eredményeinkkel iránymutatással szeretnénk szolgálni az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet számára (OMMI) a halak teljesítmény vizsgálatának módosítására.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka a GINOP-2.3.2-15-2016-00025 projekt keretei között az Európai Regionális és Fejlesztési Alap és Magyarország Kormánya támogatásával valósult meg.

Köszönjük a haltenyésztőknek, hogy lehetővé tették számunkra a minták gyűjtését, továbbá köszönettel tartozunk Dr. Kovács Gyulának a NAIK- HAKI génbankjából rendelkezésre bocsájtott mintákért. Köszönjük Dr. Fehér Milánnak és Dr. Bársony Péternek a mintagyűjtés során nyújtott segítségét, illetve a kézirathoz nyújtott szakmai tanácsaikat.

IRODALOMJEGYZÉK

- AVISE, J.C. (2000): Phylogeography - The History and Formation of Species. Harvard University Press, Boston. 447.
- Bakos, J. - Gorda, S. - Váradi, L. - Balogh, J. (1997): Tenyésztő szervezetek szerepe a magyar pontyfajták fenntartásában és nemesítésében. XXI. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas, május 25-26. Összefoglalók. 9-13.
- Bakos, J. - Gorda, S. (1995): Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridization. Aquaculture, 129. 183-186.
- Bakos, J. (1968): A ponty tenyésztékét meghatározó tulajdonságok és jelentőségük a szelekciós munkában. Halászat, 14. 3. 84-85.
- Bakos, J. (1979): Crossbreeding Hungarian races of common carp to develop more productive hybrids. In: Advances in Aquaculture. Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, UK, 6355642.
- Balon, E.K. (1995): Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers. Aquaculture, 129. 3-48.
- Balon, E.K. (2004): About the oldest domesticates among fishes. J. Fish Biol., 65. 1-27.

- Bártfai, R. - Egedi, S. - Yue, G.H. - Kovács, B. - Urbányi, B. - Tamás, G. - Horváth, L. - Orbán, L. (2003): Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. *Aquaculture*, 219. 157-167.
- Chistiakov, D.A. - Voronova, N.V. (2009): Genetic evolution and diversity of common carp *Cyprinus carpio* L. *Cent. Eur. J. Biol.*, 4. 304-312.
- Crooijmans, R.P.M.A. - Bierbooms, V.A.F. - Komen, J. - Van der Poel, J.J. - Groenen, M.A.M. (1997): Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Anim. Genet.*, 28. 129-134.
- Csizmadia, Cs. - Jeney, Zs. - Szerencsés, I. - Gorda, S. (1995): Transferrin polymorphism of some races in a live gene bank of common carp. *Aquaculture*, 129. 193-198.
- FAO (2016): The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture organization of the United Nations.
- Fésüs, L. - Komlósi, I. - Varga, L. - Zsolnai, A. (2000): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroiinform Kiadó és Nyomda Kft. Budapest.
- Froufe, E. - Magyary, I. - Lehoczky, I. - Weiss, S. (2002): mtDNA sequence data supports and Asian ancestry and single introduction of the common carp into the Danube Basin. *J. Fish Biol.*, 61. 301-304.
- Ghelichpour, M. - Shabani, A. - Shabanpour, B. (2013): Microsatellite variations and genetic structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations in Gomishan bay and Gorganroud River (Southeast of the Caspian Sea). *Int. J. Aquatic Biol.*, 1. 22-27.
- Gorda, S. - Borbély, I. (2014): Ponty teljesítményvizsgálat eredménye. 1-27.
- Gorda, S. - Bakos, J. (1995): Tenyészhalak jelölése és nyilvántartása korszerű módszerrel törzskönyvezés és keltetőházi azonosítás céljából. XIX. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas. 6. 31-38.
- Gorda, S. (2003): Pontyhibridek és az országos ponty teljesítményvizsgálatok tájfajtáinak valamint rendszerének értékelése. Doktori értekezés. Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Mezőgazdaságtudományi Kar, Állattenyésztési- és Takarmányozástani Tanszék, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola. 137.
- Gorda, S. (2012). Víz genetikai erőforrások – a magyar pontytenyésztési program. NACEE Workshop. 2012. május 4. Sáregres, Rétimajor.
- Hulak, M. - Kaspar, V. - Kohlmann, K. - Coward, K. - Tešitel, J. - Rodina, M. - Gela, D. - Kocour, M. - Linhart, O. (2010): Microsatellite-based genetic diversity and differentiation of foreign common carp (*Cyprinus carpio*) strains farmed in the Czech Republic. *Aquaculture*, 298. 194-201.
- Kirpichnikov, V.S. (1981): Genetic Bases of Fish Selection. Springer Verlag, Berlin. 410.
- Komen, J. (1990): Clones of common carp, *Cyprinus carpio*. New perspectives in fish research. PhD thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen. The Netherlands.
- Kongchum, P. - Palti, Y. - Hallerman, E.M. - Hulata, G. - David, L. (2010): SNP discovery and development of genetic markers for mapping innate immune response genes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Shellfish Immun.*, 29. 356-361.
- Lehoczky, I. - Kovács, B. - Kovács, Gy. - Gorda, S. - Péteri, A. - Bakos, J. (2018): A ponty genetikája és erőforrásai. . 9-34. In: A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. Szerk.: Csorbai B.-Urbányi B. Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő, 9.34
- Lehoczky, I. - Magyary, I. - Hancz, C. - Weiss, S. (2005): Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers. *Hydrobiologia*, 533. 223-228.
- Lehoczky, I. - Nagy, Z.T. - Bakos, J. - Jeney, Zs. (2010): Jelentősebb hazai vadponty fajtáink genetikai változatosságának fenntartása a HAKI ex situ génbankjának, valamint a faj természetes vizeinkben élő populációinak segítségével. *Halászat*, 103. 104-109.
- Lehoczky, I. - Nagy, Z.T. - Magyary, I. - Hancz, C. - Bakos, J. - Jeney, Z. (2007): Genetic characterisation of cultured and natural-water populations of common carp (*Cyprinus carpio*) in Hungary. *Aquaculture*, 272. 238-321.

- Lehoczky, I. (2006): A HAKI ponty élő génbankjának populációgenetikai vizsgálata mikroszatellit DNS markerekkel és PCR-RFLP módszerrel. Doktori (PhD) értekezés. Kaposvári Egyetem. Állattudományi Kar. 108.
- Lengyel, P. - Udvari, Zs. (2017): A haltenyésztés hatósági feladatainak átszervezése. Földművelésügyi Minisztérium, Horgászati és Halgazdálkodási Főosztály. Halászat, 110. 12-16.
- Mabuchi, K. - Miya, M. - Senou, H. - Suzuki, T. - Nishida, M. (2006): Complete mitochondrial DNA sequence of the Lake Biwa wild strain of common carp (*Cyprinus carpio* L.) further evidence for an ancient origin. *Aquaculture*, 257. 68-77.
- Magyar Halgazdaság és Technológiai Fejlesztési Platform (2010): Stratégiai kutatási terv. Gödöllő. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=13&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKewjysfp2-PgAhXI_CoKHxvYBkQQFjAMegQICAC&url=https%3A%2F%2Fnkfih.gov.hu%2Finnovacio%2Fstrategiai-kutatasi%2Fmagyar-halgazdalkodasi&usg=AOvVaw1jLTCgdBIY4KQaJNBnbBQW
- Magyar haltermelők és halászati vízterület-hasznosítók szövetsége (MAHAL) (2016): Jelentés a szövetség működésének 2015. évi eredményeiről. A kiadvány a Földművelésügyi Minisztérium támogatásával készült. PTKF/785/2/2016.
- Márian, T. - Krasznai, Z. - Bakos, J. (1984): Transzferrin polimorfizmus vizsgálat eredménye magyarországi pontypopulációkban. *Halászat*, 30. 112-113.
- Mondol, R.K. - Islam, S. - Alam, S. (2006): Characterization of different strains of common carp (*Cyprinus carpio* L.) (*Cyprinidae*, *Cypriniformes*) in Bangladesh using microsatellite DNA markers. *Genet. Mol. Biol.*, 29. 626-633.
- Pintér, K. (1979): A ponty I-II. *Halászat Melléklet*, 25. 3.
- Sun, X. - Liang, L. (2004): A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*, 238. 165-172.
- Szerencsés, I. - Bakos, J. - Jeney, Zs. (1990): Transzferrin (Tf) polimorfizmus vizsgálat a szarvasi ponty-fajtagyűjteményben. *Halászat*, 36. 2.
- Thai, B. T. - Burrridge, C. P. - Austin, C. M. (2007): Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Vietnam using four microsatellite loci. *Aquaculture*, 269. 174-186.
- Tomljanovic, T. - Treer, T. - Cubric, V.C. - Safner, T. - Sprem, N. - Piria, M. - Matulic, D. - Safner, R. - Anicic, I. (2013): Microsatellite-based genetic variability and differentiation of hatchery and feral common carp *Cyprinus Carpio* L. (*Cyprinidae*, *Cyprinidae*) populations in Croatia. *Arch. Biol. Sci.*, 65. 577-584.
- Tóth, B. - Bagí, Z. - Kusza, Sz. (2017): Ponty (*Cyprinus carpio* L.) tájfajták különböző markerekkel végzett genetikai vizsgálatai a Világban és Magyarországon – összefoglaló tanulmány. *Acta Agronomica Óváriensis*, 58. 16-35.
- Vandeputte, M. (2003): Selective breeding of quantitative traits in the common carp (*Cyprinus carpio*): A review. *Aquat. Living Resour.*, 16. 399-407.
- Váradí, L. - Szilágyi, G. - Horváth, L. (1993): Egy nyaras pontyállomány genetikai és morfológiai elemzése a Dinnyési Ivadékevelő Gazdaságban. *Halászat*, 86. 46-48.
- Wang, Ch. - Li, S. - Nagy, Z.T. - Lehoczky, I. - Huang, L. - Zhao, Y. - Song, X. - Jeney, Z. (2010): Molecular genetic structure and relationship of Chinese and Hungarian common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains based on mitochondrial sequence. *Aquac. Res.*, 41. 1339-1347.
- Xu, P. - Zhang, X. - Wang, X. - Li, J. - Liu, G. - Kuang, Y. - Xu, J. - Zheng, X. - Ren, L. - Wang, G. - Zhang, Y. - Huo, L. - Zhao, Z. - Cao, D. - Lu, C. - Li, Ch. - Zhou, Y. - Liu, Z. - Fan, Z. - Shan, G. - Li, X. - Wu, S. - Song, L. - Hou, G. - Jiang, Y. - Jeney, Zs. - Yue, D. - Wang, L. - Shao, Ch. - Song, L. - Sun, J. - Ji, P. - Wang, J. - Li, Q. - Xu, L. - Sun, F. - Feng, J. - Wang, Ch. - Wang, S. - Wang, B. - Li, Y. - Zhu, Y. - Xue, W. - Zhao, L. - Wang, J. - Gu, Y. - Lv, W. - Wu, K. - Xiao, J. - Wu, J. - Zhang, Z. - Yu, J. - Sun, X. (2014): Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*. *Nat. Genet.*, 46. 1212-1219.
- Yue, G.H. - Ho, M.Y. - Orban, L. - Komen, J. (2004): Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp. *Aquaculture*, 234. 85-98.

Zhang, Y. - Liang, L. - Jiang, P. - Li, D. - Lu, C. - Sun, X. (2008): Genome evolution trend of common carp (*Cyprinus carpio* L.) as revealed by the analysis of microsatellite loci in a gynogentic family. J. Genet. Genomics, 35, 97-103.

Zhou, J. - Wu, Q. - Wang, Z. - Ye, Y. (2004): Genetic variation analysis within and among six varieties of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in China using microsatellite markers. Genomics, 40, 1389-1393.

http_1: Vadponty. Kislexikon.

<http://www.kislexikon.hu/vadponty.html> (Letöltve: 2019.05.27.)

http_2: Regionális állatföldrajz: Területegységek. 30.

http://ttk.nyme.hu/blgi/gyozsi/Documents/Tananyagok/Biogeogr%C3%A1fia/regionalis_%C3%A1latf%C3%B6ldrajz.pdf (Letöltve: 2019.05.27.)

Érkezett: 2019. május

Szerzők címe: Tóth B. - Bagi Z.

Debreceni Egyetem Agrár Kutatóintézetek és Tangazdaság

Authors' address: University of Debrecen, Institutes for Agricultural Research and Educational Farm

H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

Kézi T. - Kusza Sz.

Debreceni Egyetem MÉK Állatgenetikai laboratórium

University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Animal Genetics Laboratory

H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

toth.bianka@agr.unideb.hu

GRATULÁLUNK

A Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar Tanévnyitó Ünnepi Kari Tanácsülésén, 2019. szeptember 6-án **Kovácsné Dr. Gaál Katalin** professzor emerita asszonyt, az Állattudományi Tanszék munkatársát, kimagasló szakmai és oktatási tevékenységéért Wittmann Antal-díjjal tüntették ki.

A Magyar Tudomány Ünnepe 2019 pécsi ünnepi nyitó rendezvényén (2019. november 5.) **Prof. Dr. Kovács Melinda** a Kaposvári Egyetem rektora kiemelkedő tudományos tevékenységének elismeréséül ezüst plakettet vehetett át. **Dr. Halas Veronika** az Agrár- és Környezettudományi Kar Takarmányozástani Intézeti Tanszék egyetemi docense pedig kiemelkedő tudományos tevékenysége elismeréséül tudományszervezési díjat érdemelt ki.

A kitüntetetteknek szívből gratulálunk és munkájukhoz további sok sikert kívánunk.