

MOLEKULÁRIS GENETIKAI VIZSGÁLATOK ÓSHONOS MAGYAR BAROMFI FAJTÁKON A GÉNMEGŐRZÉS TEKINTETÉBEN

PÁLINKÁS-BODZSÁR NÓRA – SZTÁN NIKOLETTA – EDVINÉ MELEG ERIKA –
HIDAS ANDRÁS

ÖSSZEFOGLALÁS

A genomika ugrásszerű technológiai fejlődése nagy jelentőséggel bír a baromfitenyésztés területén is. A tanulmány információkkal szolgál a főbb kutatási irányok jelenlegi helyzetéről a baromfi genomika területén, amelyek érintik az iparszerű baromfitenyésztést is. Ezen kívül felhívja a figyelmet a génmegőrzési tevékenység jelentőségére, az alkalmazott tenyésztési módszerek hatékonyságának bizonyos időközönkénti ellenőrzésének fontosságára, ami az intenzív baromfitenyésztés számára is hasznos lehet. Taglalja a genetikai diverzitás jelentőségét és rámutat csökkenésének veszélyeire, amely nemcsak a génbankokban fenntartott, helyi őshonos baromfifajták esetében, de a kereskedelmi vonalaknál is genetikai erőforrás veszteségeket jelent, ezzel negatív hatást gyakorolva a nemesítésre. A szerzők beszámolnak eddigi főbb, molekuláris genetikai kutatási eredményeikről különböző baromfi fajokon, és a jelenleg zajló vizsgálataikról. Említést tesznek mindkét ivar megőrzésére szolgáló alternatív módszerekről és azok eredményességének molekuláris genetikai úton történő bizonyításáról, valamint a funkcionális genetikai diverzitás jelentőségéről a neutrális markerekkel szemben.

SUMMARY

Pálinkás-Bodzsár, N. – Sztán, N. – Edviné, M. E. – Hidas, A.: MOLECULAR GENETIC INVESTIGATIONS ON HUNGARIAN NATIVE POULTRY BREEDS CONSIDERING GENE CONSERVATION

The rapid technological advances in genomics are also of great importance for poultry production. This study provides information on the current state of the leading research directions in poultry genomics, which also affect industrial poultry production. In addition, it draws attention to the importance of gene conservation and the need to investigate from time to time the efficiency of the breeding methods used, which may also be useful for intensive poultry breeding. It highlights the importance of genetic diversity and points out the risks of its loss, not only in local indigenous poultry breeds maintained in gene banks but also in commercial lines. This would result in some losses in genetic resources, with a negative impact on breeding. The authors report on the main results of their molecular genetics research in different poultry species and also on their ongoing studies. Alternative methods for the conservation of both sexes and their effectiveness with molecular genetic markers are mentioned, and the importance of functional genetic diversity over neutral markers.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Haszonállataink, mint genetikai erőforrások a biodiverzitás részét képezik, kulcsfontosságú szerepet töltenek be a biológiai egyensúly megőrzésében és az emberi élelmezésben. Napjainkban nemcsak a népesség egyre komolyabb mértékű növekedése, de a klímaváltozás is nagymértékben befolyásoló tényezői a mezőgazdaságnak. A köztenyésztésben lévő állatfajták számában rohamos csökkenés tapasztalható, amelynek legfőbb oka a nemesítői szelekciós munka, a szaporító- és tenyésztőanyag kereskedelem világszerte megfigyelhető koncentrációja. Az intenzív vonalak génkészlete a homogenizálási törekvés miatt folyamatosan szűkül, variabilitása csökken. Emiatt azonban egyre nehezebb a genetikai előrehaladást biztosítani, tenyészcélt váltani, esetleg módosítani, annak ugyanis alapvető feltétele az állományon belüli változatosság megléte, amelynek híján egy idő után nincs mire szelektálni, megszűnik a nemesítő mozgástere. Ma már génbankokban elérhetőek olyan ritka, különleges genotípusok, amelyek egyedülálló tulajdonságokkal és nagy variabilitással rendelkeznek, így felhasználhatóak az intenzív tenyésztői munkában is. A baromfitenyésztési ágazatban, leginkább Európa egyes részein, egyre növekszik az igény olyan baromfi termékek iránt, amelyeket különleges technológiával állítottak elő (pl. szabadtartásos, organikus, ökológiai, stb.) (Gautron és mtsai, 2021). Ezek a rendszerek nemcsak eltérő technológiát, hanem alapjában véve más genotípusokat is igényelnek, mivel a természetes környezet által erősen befolyásoltak. Leginkább a helyi, őshonos fajták alkalmazkodhatnak hozzá, hiszen a gének egyedi kombinációja kialakíthatja a környezethez való adaptációt (Crawford, 1990). Mind a nagyüzemi termelés, mind a génbankokban fellelhető genetikai erőforrások karakterizálása és felhasználása korszerű molekuláris genetikai módszereket igényel.

Az állattenyésztési genetikai egyik fő célkitűzése a termelési értékmérők kialakításában fontos szerepet játszó gének, génváltozatok markereinek kutatása, felhasználása. A fenotípusos jegyeken kívül igen nehéz meghatározni egy-egy populáció genetikai értékét, vagyis hogy mennyiben térnek el más genotípusoktól és tekinthetők egyedinek. Baromfi esetében egy-egy egyed értéke is sokkal kisebb például egy tenyészbikáéhoz képest. Az utóbbi években ugrásszerű fejlődés figyelhető meg a markerkutatás területén. Évek óta elérhetőek a nagy áteresztőképességű módszertani és bioinformatikai rendszerek (rész/teljes genom szekvenálása, SNP chip), amelyek nemcsak jelentősen megnövelték a feltárt DNS markerek számát, hanem mérséklődtek azok költségigényeit is. Tyúk esetében a máig azonosított QTL-ek (Quantitative Trait Loci) száma meghaladja a 14.000-et. Ezeknek több mint felét (kb. 8300) az elmúlt 5 évben detektálták a modern, nagy felbontású, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) alapú technikáknak köszönhetően és csaknem 440 tulajdonságot (termelési, fenotípusos, egészségi, szaporodási, fiziológiai) reprezentálnak (Hu és mtsai, 2019; ChickenQTLdb, 2021). Ma már nem az eszközök hozzáférhetősége, hanem a megfelelő bioinformatikai értékelés és a minél célorientáltabb felhasználás jelenti a kihívást. A teljes genomot lefedő SNP vizsgálatok során azonosított számos QTL és potenciálisan funkcionális genetikai mutáció azonban csak megfelelő validálást követően használhatóak fel a gyakorlatban (Allais és mtsai, 2019; Moreira és mtsai, 2019; Perini és mtsai, 2021) és nem szabad figyelmen kívül hagynunk a genotípus-környezet

interakciót, valamint az epigenetikus hatásokat sem. Baromfinál a markerkutatás eredményeinek tenyésztői munkában való felhasználása több problémába is ütközik. Az egyik a rövid generációs intervallum, noha éppen ezért a baromfifélékben figyelhető meg a legnagyobb mértékű genetikai előrehaladás. A másik, hogy a detektált markerek jórészt csak egy-egy vonalra, állományra vonatkoznak és erősen befolyásoltak a környezeti hatások által, emiatt más körülmények között tartott populációknál egy adott génváltozat gyakorisága és hatása jelentősen eltérhet. Nagy segítséget nyújtanak a nehézségek leküzdésében egyrészt a modern technikák, hiszen rövidebb idő alatt, jóval nagyobb részletességgel térképezik fel a genom egyes területeit, mint a korábbi, mikroszatellit alapú diagnosztikák, másrészt azok a tanulmányok, amelyek a genetikai diverzitást és annak változásait egy állományban hosszútávon vizsgálják (Zanetti és mtsai, 2011; Jawor és mtsai, 2020; Pálinkás-Bodzsár és mtsai, 2020).

A másik fontos kérdés, amely régóta kihívás elé állítja a kutatókat, a korai, embrionális ivar-meghatározás. Ennek hátterében az áll, hogy a kelést követően évente kb. 7 billió hímivarú naposcsibét irtanak ki a tojó hibrid tenyésztői szektorban, mivel nincs rájuk szükség. Az elmúlt évtizedben számos próbálkozás volt a probléma megoldására, amelynek nemcsak gazdasági jelentősége van, hanem bizonyos fogyasztói elvárások szempontjából is sürgető. 2021-ben már számos metodika áll közel a piaci felhasználáshoz. Három fő megközelítése van a hímivarú napos csibék selejtezésének elkerülésére: az ivararány eltolása, befolyásolása (Klein és Grossmann, 2008); az *in ovo* ivar-meghatározás (Krautwald-Junghanns és mtsai, 2018); kettős hasznosítású vonalak létrehozása, ahol a nőivarú egyedek a tojástermelésben, míg a hímivarúak a hústermelésben használhatóak. Minden alternatíva fejlesztésekor figyelembe kell venni a fogyasztói igényeket, az egyes metodikákkal szembeni ellenérzéseket, vagy elfogadásukat (Gautron és mtsai, 2021). Egy idei felmérés szerint a megkérdezett fogyasztók döntő többsége az *in ovo* ivar-meghatározást részesíti előnyben a kakasok felnevelésével vagy kettős-hasznosítású vonalak kialakításával szemben (de Haas és mtsai, 2021). Ennek ellenére ez utóbbi irány fejlesztése is folyamatban van, azonban a jelenlegi genotípusok még nem felelnek meg a termeléshez szükséges követelményeknek minőségi hús és tojás előállítására. Az *in ovo* ivardetermináció piaci felhasználásához közel álló módszereit 2018-ban foglalták össze (Hein, 2018), amelyek közül kettőt ma már automatizált rendszerben használnak is. Az allantoisz folyadékból való mintavételt követően az egyik metodika PCR technikát (PLANTegg, 2020), a másik endokrinológiai ivar-meghatározást (SELEGGT, 2021) alkalmaz. Ugyanakkor meg kell jegyeznünk, hogy ezen technikák bevezetése további költségekkel jár a termelők, ezáltal a fogyasztók számára is. Pontosságuk pedig nem 100 %, vagyis a kelést követően a csibék ismételt szexálása is indokolt lehet. A megoldások tehát még mindig nagyon szélsőségesek és nem dominálnak a termelésben (Gautron és mtsai, 2021).

Ezzel párhuzamosan több, a nemek manipulálásán alapuló stratégia is létezik, mint például a transzgenezis vagy a genomszerkesztés, amelyekben nagy a potenciál és hatékonyabbak is, de az ilyen megközelítések, eljárások etikai és társadalmi elfogadottsága továbbra is gyenge lábakon áll. A komoly erkölcsi dilemma ellenére a már alkalmazott PGC (Primordial Germ Cell) és adenovírus alapú génmódosítási rendszerek mellett (Lee és mtsai, 2020), a CRISPR/Cas9

génszerkesztési eljárás megjelenése (Rieblinger és mtsai, 2020) új lehetőséget teremt arra, hogy ne csak a kísérleti biológiában és a gyógyászatban (betegség rezisztencia) alkalmazzák, hanem kiterjeszthessék a baromfi ágazat egyes termelési területeire is. Így például, hogy olyan genetikailag módosított tyúkfajtát hozzanak létre, amely hasznosítástól függően egyféle ivarú utódokat termel (Douglas és Turner, 2020), vagy egy specifikus biomarker segítségével növelni lehessen a hím és a nőivar megkülönböztetésének lehetőségét *in ovo* (Gautron és mtsai, 2021; eggXYt, 2021).

ŐSHONOS BAROMFI ÁLLOMÁNYOKON VÉGZETT MOLEKULÁRIS GENETIKAI KUTATÁSAINK A GÉNMEGŐRZÉS JEGYÉBEN

A Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézetének egyik fő feladata a génmegőrzés, az ahhoz kapcsolódó támogató kutatások pedig az intenzív tenyésztési munka során is felhasználhatóak. A Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési Osztály legfontosabb, hosszú távú célkitűzése a haszonállat-fajtavédelemhez, a génmegőrzéshez és a génbanki tevékenységhez kapcsolódó kutatási-fejlesztési és innovációs tevékenység. Prioritást élvez az *in vivo* génbanki állományokhoz, valamint az *in vitro* génmegőrzéshez és a kisállattenyésztéshez kapcsolódó alap-, valamint alkalmazott kutatás és fejlesztés. Kiemelt feladat a génbanki állományok hasznosítási lehetőségeinek vizsgálata (hungarikum termékek; faluprogramok; fenntartható, ökológiai gazdálkodás, stb.). A fenti szakterületeken végzett alapkutatások, a környezetbarát és ökológiai szemléletű mezőgazdasággal összefüggő állattenyésztési alkalmazott kutatások, valamint kereskedelmi vonalakkal történő összehasonlítások.

Mitokondriális DNS és mikroszatellit markereken alapuló populációgenetikai vizsgálatok

Korábbi vizsgálataink során meghatároztuk őshonos magyar tyúkfajtáink eredetét a mitokondriális DNS D-loop régiója alapján (Révay és mtsai, 2010). Az NCBI génbankban fellelhető referencia szekvenciákkal (Liu és mtsai, 2006) összehasonlítva az általunk azonosított haplotípusok 86 %-a egy olyan haplocsoportba tartozik, amely az Indiai-szubkontinensről származik, kisebb hányada pedig délkelet-ázsiai eredetet feltételez. Utóbbiak szekvenciái egyezést mutattak néhány kereskedelmi vonal (barna tojó hibrid, brojler) haplotípusaival, ezért nem zárható ki egy korábbi, intenzív fajtával való állományjavító szándékú keresztezés lehetősége sem, amely már mikroszatellit alapú vizsgálataink során is felmerült, amikor a fedett és kopasznyakú fehér fajták nagyfokú genetikai hasonlóságára kerestük a választ (Bodzsár és mtsai, 2009).

Ebben a tanulmányban 6 őshonos tyúkfajta (sárga, fehér, kendermagos magyar, és fekete, fehér, kendermagos erdélyi kopasznyakú) 9 magyarországi állományának genetikai diverzitását mértük fel 29 mikroszatellit marker alapján, populáción belül, és azok között. A várt és tényleges heterozigotitási értékek csekély különbségeiből adódóan a beltenyésztettségi mutatóknál nem volt szignifikáns különbség, vagyis az állományok közel vannak a Hardy-Weinberg egyensúly állapotához. Következésképpen az alkalmazott tenyésztési módszer

megfelelőnek mondható. Hazai fajtáinkat megvizsgáltuk abban a tekintetben is, hogy genetikai diverzitásuk milyen mértékben járul hozzá kereskedelmi, illetve más európai országok őshonos állományaihoz, amely eredményünk azonban merőben más képet mutatott, mint amikor saját fajtáinkat önmagukban néztük. Ez az eredményünk is rávilágít arra, hogy mekkora szerepe van a rokonsági kapcsolatok feltárásának a diverzitás vizsgálatokban. Ennek eredményeként elmondható, hogy a magyar populációk egyedinek tekinthetők más európai őshonos tyúkfajták között. Munkánk során 3 fajta (sárga és kendermagos magyar, illetve kendermagos erdélyi kopasznakú) esetében megvizsgáltunk 30-40 éve az ország más területén (Mosonmagyaróvár, Hódmezővásárhely) fenntartott tenyészeteket is. A genetikai távolság számítása és a klaszteranalízis során azt tapasztaltuk, hogy ugyan nagyobb köztük a genetikai hasonlóság, mint két teljesen külön fajta esetében, de korántsem akkora, mint vártuk volna.

Régóta terveztük őshonos génbanki tyúk állományaink genetikai diverzitásának ismételt felmérését is, amely monitorozás 5-10 évente egyébként is ajánlott. Nemrégiben sikerült ennek a feladatnak az elvégzése (*Pálincás-Bodzsár és mtsai*, 2020). A két állapotfelmérés között 15 év génmegőrzési tevékenység telt el. A genotipizálást ugyanazon 6 őshonos magyar tyúkfajtan, ugyanazzal a 29 mikroszatellit markerrel vizsgáltuk, mint korábban, annyi különbséggel, hogy új labor eszközeinkre és körülményeinkre adaptáltuk a metodikát, a különböző multiplex marker szettek kialakítását és optimalizálását. Fajtánként 5-5 referencia mintát használtunk a korábbi (2002) mintavételezésből az allélméretek meghatározásához, így az állományokat együttesen tudtuk értékelni, vagyis 12 populáció vett részt a vizsgálatban. Felmerülhet a kérdés, hogy a számos rendelkezésre álló modernebb, fejlettebb technológia helyett miért mikroszatellit markereket alkalmaztunk. Habár a mikroszatellit nem nyújtana olyan mély betekintést, mint a nagy áteresztőképességű SNP technikák, de jól jelzik a genetikai sokféleség változásait. Ugyanazon marker szett használatával releváns információkhoz jutottunk 15 év génmegőrzést szolgáló tenyésztést követően. Összességében elmondhatjuk, hogy számottevő allélvesztésekről nem beszélhetünk bár a fekete erdélyi kopasznakú fajta esetében megfigyelhető volt egy korábban viszonylag gyakori (30%) allél eltűnése miközben a többi markernél nem volt jelentős mértékű változás. Ez utalhat valamilyen természetes vagy mesterséges szelekciós hatásra. A csekély mértékű allélszám változások vagy allélok kicserélődése háttérben lehet beltenyésztés, genetikai sodródás vagy éppen a mintavételezés, hiszen ezeket az állományokat kis létszámban (kb. 200 madár/fajta) tartja fent génbankunk. A beltenyésztettség romlani látszik, ami csökkenthető azzal, ha a tenyésztés során nem a jelenlegi rotációban kerülnek a kakasok az új családokra, hanem véletlenszerűen, ezért ez csak egy látszólagos növekedés a beltenyésztettségben. A párhuzamos állományok genetikai távolsága viszonylag kicsi volt, azonban előfordultak esetek, amikor teljesen különböző fajtáknál ennél kisebb genetikai távolságokat mértünk, mint ahogy korábbi vizsgálatunk során is (*Bodzsár és mtsai*, 2009), szelekciós és/vagy drift hatást mutattunk ki. Ennek háttérben az állhat, hogy kisméretű populációkban lehetnek ugrásszerű ingadozások az allélgyakoriságban, ezért ilyenkor az allélkészlet stabilabb mutató, mert csak akkor változik, ha jelentősen megváltozik a populáció genetikai állománya, amiről jelen esetben nem beszélhetünk. Elmondható tehát, hogy az őshonos génbanki tyúk állomá-

nyainkon alkalmazott tenyésztési módszer – a genetikai variancia maximalizálása fenotípusos jelleg alapján és a kakasok rotációja a családok között – bizonyos fejlesztések mellett alkalmas a genetikai variabilitás megőrzésére. Mindazonáltal javaslataink között szerepelt a családok közötti kakascserre jelenlegi mintája helyett a kontrollált, véletlenszerű kakas rotációs rendszer alkalmazása. Az új egyedek időről időre tenyésztési rendszerbe történő bevonása ugyanis segíthet a beltenyésztettség szint csökkentésében. A genetikai variancia hatékonyabb megőrzése érdekében ajánlott az effektív populációméret növelése, akár több kakas kisebb családokban történő használatával, vagy a pedigréhez történő tojásgyűjtés időszakában alkalmazott kakascserével, ennek azonban pénzügyi korlátai vannak (Pállinkás-Bodzsár és mtsai, 2020).

Mivel a génbankok tároló kapacitása korlátozott, ezért korántsem mindegy a megőrizni kívánt minták mennyisége. Munkánk során 14 őshonos baromfifajtánkunk előzetes karakterizálásával meghatároztuk azokat a fajtákra specifikus mikroszatellit markereket, markerkombinációkat, amelyek segítségével az *in vitro* génbankba betárolni kívánt mintákat kiválaszthatjuk. Fajtól függően 13-29 markerrel genotipizáltuk az *in vivo* génbankban fellelhető baromfi fajtáinkat (tyúk: sárga, fehér, kendermagos és fogolyszínű magyar, valamint a fekete, fehér és kendermagos erdélyi kopasznakú tyúk; pulyka: réz és bronzpulyka; lúd: fodrostollú és magyar lúd; kacs: fehér és vadas magyar kacs; gyöngytyúk). A markerkombinációkat és a multiplex PCR reakciókörülményeit a primerek hatékonyságának, fluoreszcens jelölésének, és az amplifikált termékek méretének függvényében terveztük meg a vizsgálatokhoz. A magyar fajtákat összehasonlítottuk kereskedelmi állományokkal, vagy egy adott fajta Magyarország más területéről származó populációjával, és 3-6 olyan markert határoztunk meg, amelyek kiválasztásra kerültek polimorfizmus információ tartalmuk és ritka alléljaik függvényében a további genotipizálásra. A kritérium az volt, hogy a leendő marker legyen minél nagyobb mértékben jellemző az adott fajtára, és az adott állományra jellemző módon fixálva legyen. A vizsgálat során minden baromfiféle esetében sikerült állományokra jellemző és/vagy ritka allélokat, allélkombinációkat detektálni, amelyek segítségünkre vannak a génbankban tárolni kívánt minták kiválasztásában, ezzel javítva az *in vitro* génmegőrzés hatékonyságát. Nem mellékesen segítséget nyújthatnak az egyes populációk azonosításában és az eredetvédelemben (Bodzsár és mtsai, 2015). Ez irányú vizsgálatainkat jelenleg is folytatjuk. Megerősítésként öt év elteltével ismételtlen megmintáztuk génbanki baromfi állományainkat és újra genotipizáltuk a korábban optimalizált és kiválasztott mikroszatellit marker szettekkel. A munka jelenleg folyamatban van, de előzetes eredményeink már azt mutatják, hogy a korábban állományazonosításra alkalmasnak talált markerek, markerkombinációk továbbra is használhatóak erre a célra.

Intézetünkben évek óta folynak a mindkét ivar megőrzését célzó, ivarszervi kiméra egyedek létrehozására irányuló kutatások blasztodermális és primordiális őscsírasejtek (PGC) alkalmazásával nemcsak tyúk, hanem egyéb baromfi fajokon is (Sztán és mtsai, 2012; 2014). A kimérizmus molekuláris genetikai alapokon történő bizonyítása szintén feladatunk. Ehhez mikroszatellit markereket alkalmazunk, amelyek segítségével a kiinduló családok felállítását végeztük el, azonos marker és különböző, ám homozigóta alléljaira történő állapot kiválogatásával. A kimérizmus megerősítésének céljából, az embriókból és/vagy az ivarszerv

több részéből vettünk szövetmintákat és DNS-t izoláltunk. Amennyiben a vizsgált markerre heterozigóta eredményt kaptunk, azaz mindkét allélt detektáltuk a mintában, úgy az ivarszervi kiméra előállításának sikeressége molekuláris genetikai bizonyítást nyert (Sztán és mtsai, 2017).

A nőivar *in vitro* megőrzése madarakban nagyobb kihívást jelent, mint a nagy hatékonysággal működő ondómélyhűtés módszerei. A W ivari kromoszómát is tartalmazó petesejt (tojás) és az embrió sem fagyasztható a nagy mennyiségű szikanyag miatt. Jó ideje folynak ennek megoldására irányuló, ivarszerv-szövet transzplantációs kísérletek a HGI-ben (Liptói és mtsai, 2013; 2014, 2020). Az ivarszerv-szövet átültetés sikerességét szintén mikroszatellit markerekkel történő vizsgálattal tudjuk ellenőrizni. A kísérletek során arra is fény derült, hogy a transzplantáció sikeressége nagymértékben függ a megfelelő donor-recipiens párosításoktól. A megfelelő párok kialakítása molekuláris genetikai alapokon nyugszik. A donor-recipiens kombinációk kiválasztásánál azt vettük figyelembe, hogy a szakirodalomban leírt, működő párokhoz genetikailag minél hasonlóbbak legyenek, donor a donor fajtával, recipiens a recipiensekkel (Liptói és mtsai, 2020). Ugyanakkor meg kell említenünk, hogy a sikeresnek bizonyult párosításokon belül a fajták egymástól mért genetikai távolsága viszont nagy, tehát genetikai állományuk kevésbé hasonló. Emiatt az ezekben a munkákban alkalmazni kívánt fajták előzetes karakterizálásra szorulnak és nemcsak mikroszatellit markerekkel, hanem lehetőség szerint mitokondriális DNS vizsgálatokkal is. Feltevésünk szerint a donor és a recipiens haplotípusok azonosításával világosabbá válna, mi lehet az oka annak, hogy a nagy genetikai távolságra lévő párosításoknál bizonyul sikeresebbnek az ivarszerv-szövet transzplantáció. Tervezünk lúd ivarszerv (petefészek) transzplantációs kísérleteket is, ahol az utódok donor eredetét szintén mikroszatellit marker analízissel ellenőrizzük. Ludak esetében a színmarker meghatározó lehet a donor szerv beépülésének megítélésében, teljesen biztos választ azonban csak a genetikai vizsgálatokkal együtt kaphatunk.

Egyszerű nukleotid változatokon alapuló molekuláris genetikai vizsgálatok

Korábban is voltak törekvéseink pontmutációkon alapuló genetikai diverzitás felmérésére (Bodzsár, 2012). Az SNP lókuszok alapján történő elemzéshez irodalmi adatok alapján három polimorf gént választottunk ki (HSP90, PIT54, GHRL), amelyek lehetőség szerint fontos biológiai funkciókat töltenek be. A HSP 90 stresszfehérjét kódoló gén (Csermely és mtsai, 1998), a PIT54 a szabad hemoglobin kötéséért felelős haptoglobin funkcióját látja el (Iwasaki és mtsai, 2001), a GHRL (ghrelin) gén pedig egy növekedési hormon kiválasztását elősegítő fehérjét kódol (Tanaka és mtsai, 1992). A primer tervezési és PCR összeállítási munkákat követően 96 mintát szekvenáltattunk meg, amelyben minden mikroszatellit alapú vizsgálatban részt vevő őshonos tyúk állomány, illetve három intenzív vonal (két fehér brojler, egy barna tojó hibrid) is szerepelt. A gének együttes vizsgálata során 22 nukleotid változatot azonosítottunk, amelyekből 17 volt variábilis, különböző haplotípusokat eredményezve. Az azonos allélgyakoriságok és a haplotípusok különbözősége alapján a vizsgált gének közül kettőben (HSP90, GHRL) bizonyos lókuszok között kapcsoltságot feltételeztünk. A populációgenetikai analízisek eredményeként ugyancsak azt tapasztaltuk, hogy beltenyésztettség tekintetében a

magyar fajták megfelelő állapotban vannak. Felfedezhető ugyan némi hasonlóság az intenzív vonalakkal, mégis egyértelmű strukturálódást mutattak, megerősítve ezzel a mikroszatellit vizsgálatok eredményét.

Jelenleg génbanki tyúk állományaink SNP detektáláson alapuló vizsgálatai vannak folyamatban. A mikrosatellit markerekkel történő genotipizálás során használt fajtákat, és egyúttal ugyanazon mintákat kívánjuk megvizsgálni 25 SNP használatával real-time PCR rendszerben, hogy a különböző molekuláris markerekkel nyert információkat összehasonlíthassuk. Igyekeztünk a szakirodalomból szintén funkcionális génekben lévő, meglehetősen polimorf pontmutációkat kiválasztani (Jalwing és mtsai, 2004; Viale és mtsai, 2017). Várhatom hogy eredményeinkkel fel tudjuk mérni a funkcionális genetikai diverzitást és azokat lehetőségünk lesz összehasonlítani a korábban neutrális markerekkel (SSR) nyert információikkal. Ennek során arra is választ kaphatunk, hogy költség-, idő- és munkaigény szempontjából melyik a leginkább hatékony vizsgálati módszer.

ÖSSZEGZÉS

A molekuláris genetikai kutatások – eszközeinek és módszereinek nagymértékű fejlődésével, és költségigényeinek csökkenésével – egyre nagyobb jelentőséggel bírnak a haszonállatok körében is. Akár a sokféleség, akár az értékmérők genetikai alapjainak vizsgálata számos tapasztalattal szolgálhat a közvetlen tudományos eredményeken túl az állattenyésztés, a nemesítés számára is. Véltetően a jövőben további tanulságokkal is számolnunk kell abban a komplex rendszerben, amit a génmegőrzés, a nemesítés és ezek kapcsolata jelent.

IRODALOMJEGYZÉK

- Allais, S. – Hennequet-Antier, C. – Berri, C. – Salles, L. – Demeure, O. – Le Bihan-Duval, E. (2019): Mapping of QTL for chicken body weight, carcass composition, and meat quality traits in a slow-growing line. *Poult. Sci.*, 98. 1960-1967.
- Bodzsár, N. – Eding, H. – Révay, T. – Hidas, A. – Weigend, S. (2009): Genetic diversity of Hungarian indigenous chicken breeds based on microsatellite markers. *Anim. Genet.*, 40. 516-523.
- Bodzsár, N. (2012): Őshonos magyar tyúkállományok genetikai diverzitásának vizsgálata különböző molekuláris genetikai markerek segítségével. Doktori (PhD) disszertáció, SZIE, Gödöllő
- Bodzsár, N. – Sztán, N. – Edviné, M. E. – Hidas, A. (2015): Characterization the poultry gene bank with molecular genetic markers for population identification and traceability. *Proc. 8th Vietnamese-Hungarian Conference, Gödöllő*
- ChickenQTLdb (2021): <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/GG/index>
- Crawford, R. D. (1990): Poultry genetic resources: evolution, diversity and conservation. In: *Poultry Breeding and Genetics*, pp. 43-60. Elsevier, Amsterdam.
- Csermely, P. – Schnaider, T. – Söti, Cs. – Prohászka, Z. – Nardai, G. (1998): The 90 - kDa molecular chaperone family: structure, function and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol. Therapeut.*, 79. 129-168.
- de Haas, E. N. – Oliemans, E. – van Gerwen, M. A. A. M. (2021): The need for an alternative to culling day-old male layer chicks: a survey on awareness, alternatives, and the willingness to pay for alternatives in a selected population of Dutch citizens. *Front. Vet. Sci.*, 8. 662197. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.662197>

- Douglas, C. – Turner, J. M. A. (2020): Advances and challenges in genetic technologies to produce single-sex litters. *PLoS Genet.*, 16: e1008898.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008898>
- eggXYt (2021): <https://www.eggxyt.com/>
- Gautron, J. – Réhault-Godbert, S. – Van de Braak, T. G. H. – Dunn, I. C. (2021): Review: What are the challenges facing the table egg industry in the next decades and what can be done to address them? *Animal*, <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100282>
- Hein, T. (2018) Egg sexing close to market.
<https://www.poultryworld.net/Eggs/Articles/2018/6/Egg-sexing-close-to-market-301797E/>
- Hu, Z.-L. – Park, C. A. – Reecy, J. M. (2019): Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. *Nucleic Acids Res.*, 47. D701–D710.
- Iwasaki, K. – Morimatsu, M. – Inanami, O. – Uchida, E. – Syuto, B. – Kuwabara, M. – Niiyama, M. (2001): Isolation, characterization, and cDNA cloning of chicken turpentine-induced protein, a new member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of proteins. *J. Biol. Chem.*, 276. 9400-9405.
- Jalving, R. – van't Slot, R. – van Oost, B. A. (2004): Chicken single nucleotide polymorphism identification and selection for genetic mapping. *Poult. Sci.*, 83. 1925-1931.
- Jawor, M. – Knaga, S. – Kozłowska, I. – Barna, J. – Váradi, É. – Kasperek, K. – Drobnyák, A. – Bodzsár, N. – Várkonyi, E. P. – Jezewska-Witkowska, G. – Bednarczyk M. (2020): Population structure of four indigenous chicken breeds undergoing *in situ* conservation. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 38. 167–179.
- Klein, S. – Grossmann, R. (2008) Primary sex ratio in fertilized chicken eggs (*Gallus gallus domesticus*) depends on reproductive age and selection. *J. Exp. Zool. Part A, Ecol. Genet. Physiol.*, 309. 35–46.
- Krautwald-Junghanns, M. E. – Cramer, K. – Fischer, B. – Förster, A. – Galli, R. – Kremer, F. – Mapesa, E. U. – Meissner, S. – Preisinger, R. – Preusse, G. – Schnabel, C. – Steiner, G. – Bartels, T. (2018): Current approaches to avoid the culling of day-old male chicks in the layer industry, with special reference to spectroscopic methods. *Poult. Sci.*, 97. 749–757.
- Lee, J. – Kim, D. H. – Lee, K. (2020): Current approaches and applications in avian genome editing. *Int. J. Mol. Sci.*, 21. 3937. <https://doi.org/10.3390/ijms21113937>
- Liptói, K. – Horváth, G. – Gál, J. – Váradi, É. – Barna, J. (2013): Preliminary results of the application of gonadal tissue transfer in various chicken breeds in the poultry gene conservation, *Anim. Reprod. Sci.*, 141. 86-89.
- Liptói, K. – Horváth, G. – Rohn, E. – Gál, J. – Váradi, É. – Barna, J. (2014) Various donor/recipient combinations for gonadal tissue transfer in chicken. *Proc. XIVth European Poultry Conference, Stavanger, Paper P262.3*
- Liptói, K. – Buda, K. – Rohn, E. – Drobnyák, A. – Edviné Meleg, E. – Pálinkás-Bodzsár, N. – Végi, B. – Barna, J. (2020): Improvement of the application of gonadal tissue allotransplantation in the *in vitro* conservation of chicken genetic lines. *Anim. Reprod. Sci.*, 213. 106280. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106280>
- Liu, Y. P. – Wu, G. S. – Yao, Y. G. – Miao, Y. W. – Luikart, G. – Baig, M. – Beja-Pereira, A. – Ding, Z. L. – Palanichamy, M. G. – Zhang, Y. P. (2006): Multiple maternal origins of chickens: out of Asian jungles. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 38. 12-19.
- Moreira, G. C. M. – Salvian, M., Boschiero, C. – Cesar, A. E. M. – Reecy, J. M. – Godoy, T. F – Ledur, M. C. – Garrick, D. – Mourão, G. B. – Coutinho, L. L. (2019): Genome-wide association scan for QTL and their positional candidate genes associated with internal organ traits in chickens. *BMC Genomics*, 20. 669. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6040-3>
- Pálinkás-Bodzsár, N. – Sztán, N. – Molnár, T. – Hidas, A. (2020): Gene conservation of six Hungarian local chicken breeds maintained in small populations over time. *PLoS ONE*, 15. e0238849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238849>

- Perini, F. – Cendron, F. – Rovelli, G. – Castellini, C. – Cassandro, M. – Lasagna, E. (2021): Emerging Genetic Tools to Investigate Molecular Pathways Related to Heat Stress in Chickens: A Review. *Animals*, 11. 46. <https://doi.org/10.3390/ani11010046>
- PLANTegg (2020): <https://www.plantegg.de/en/>
- Révay, T. – Bodzsár, N. – Mobegi, V. E. – Hanotte, O. – Hidas, A. (2010): Origin of Hungarian indigenous chicken breeds inferred from mitochondrial DNA D-loop sequences. *Anim. Genet.*, 41. 548-550.
- Rieblinger, B. – Sid, H. – Duda, D. – Bozoglu, T. – Klinger, R. – Schlickerrieder, A. – Lengyel, K. – Flisikowski, K. – Flisikowska, T. – Simm, N. – Grodziecki, A. – Perleberg, C. – Bähr, A. – Carrier, L. – Kurome, M. – Zakhartchenko, V. – Kessler, B. – Wolf, E. – Kettler, L. – Luksch, H. – Hagag, I. T. – Wise, D. – Kaufman, J. – Kaufer, B. B. – Kupatt, C. – Schnieke, A. – Schusser, B (2021): Cas9-expressing chickens and pigs as resources for genome editing in livestock. *Proc. Natl. Acad. Sci. U:S.A.*, 118. e2022562118; <https://doi.org/10.1073/pnas.2022562118>
- SELEGGT (2021): <https://www.seleggt.com/seleggt-process/>
- Sztán, N. – Patakiné, V. E. – Liptói, K. – Barna, J. (2012): Baromfifajok embrionális sejtjeinek kezelésével szerzett tapasztalatok. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 134. 475-481.
- Sztán, N. – Várkonyi, E. P. – Bodzsár, N. – Fejszák, N. – Liptói, K. – Barna, J. (2014): Adaptation of intra-cardiac blastodermal cell injection methodology to Hungarian goose. *Proceedings of XIVth European Poultry Conference, Stavanger, Paper P263.9*
- Sztán, N. – Lázár, B. – Bodzsár, N. – Végi, B. – Liptói, K. – Pain, B. – Várkonyi, E. P. (2017): Successful chimera production in the Hungarian goose (*Anser anser domestica*) by intracardiac injection of blastodermal cells in 3-day-old embryos. *Reprod. Fertil. Dev.*, 29. 2206-2216. <https://doi.org/10.1071/RD16289>
- Tanaka, M. – Hosokawa, Y. – Watahiki, M. – Nakashima, K. (1992): Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. *Gene*, 112. 235-239.
- Viale, E. – Zanetti, E. – Özdemir, D. – Broccanello, C. – Dalmaso, A. – De Marchi, M. – Cassandro, M. (2017): Development and validation of a novel SNP panel for the genetic characterization of Italian chicken breeds by next-generation sequencing discovery and array genotyping. *Poult. Sci.*, 96. 3858-3866.
- Zanetti, E. – De Marchi, M. – Abbadi, M. – Cassandro, M. (2011): Variation of genetic diversity over time in local Italian chicken breeds undergoing in situ conservation. *Poult. Sci.*, 90. 2195-2201.

Érkezett: 2021. augusztus

Szerzők címe: Pálínkás-Bodzsár N. – Sztán N. – Edviné Meleg E. – Hidas A.
Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ
Haszonállat-génmegőrzési Intézet

Authors' address: National Centre for Biodiversity and Gene Conservation
Institute for Farm Animal Gene Conservation
H-2100, Gödöllő, Isaszegi út 200.
palinkasbodzsar.nora@nbgk.hu