

MOLEKULÁRIS GENETIKAI ÉS GENOMIKAI MÓDSZEREKKEL VÉGZETT VIZSGÁLATAINK EREDMÉNYEI ÉS PERSPEKTÍVÁI KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A HAZAI KISKÉRŐDZŐ ÁGAZATRA

KUSZA SZILVIA – JÁVOR ANDRÁS – BŐSZE ZSUZSANNA – KUKOVICS SÁNDOR

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők jelen cikkükben röviden összefoglalják az elmúlt 15 évben a különböző kiskérődző fajokkal és fajtákkal folytatott kutatási munkájuk eredményeit. Bemutatják a laboratóriumi eredmények miként hasznosultak, hasznosulhatnak a gyakorlati tenyésztésben, és milyen irányban haladhatna a kiskérődző ágazat a modern genomikai módszerek alkalmazásának segítségével. Felhívják a figyelmet az ilyen típusú vizsgálatok ágazatra gyakorolt hatására és szükségszerűségére is, ami a változó piaci és környezeti körülmények közepedte egyre csak fokozódni fog. A tanulságok levonása után javasolják a genomikai alapú vizsgálatok kiterjesztését és az eredmények mielőbbi gazdálkodási gyakorlatba való átültetését a magyar kiskérődző ágazatban.

SUMMARY

Kusza, Sz. – Jávor, A. – Bősze, Zs. – Kukovics, S.: RESULTS AND PERSPECTIVES OF MOLECULAR GENETICS AND GENOMICS STUDIES WITH SPECIAL FOCUS ON THE HUNGARIAN SMALL RUMINANT SECTOR

In the present study, authors shortly summarize their main research and results on small ruminant species and breeds over the past 15 years. Then, they present how results from the laboratory can /could be used in practical animal breeding and how the small ruminant sector could move using modern genomic methods. They also draw attention to the impact and necessity of this type of study in the sector, increasing while changing market and environmental conditions. After drawing lessons, the authors recommend extending the genomics-based studies and taking the results into practice in the Hungarian small ruminant sector as soon as possible.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A magyar kiskérődző ágazat mai képét alapvetően meghatározzák a hagyományok, a gazdasági-, társadalmi viszonyok, a humán erőforrás minősége és rendelkezésre állása, valamint a természeti és jogi környezet.

A piachoz való alkalmazkodás megköveteli a versenyképesség és a hatékonyság növelését. Ezek a célok pedig csak az új tudományos eredmények felhasználásával, gyakorlatba ültetésével érhetőek el.

A piaci verseny élesedése magával vonja az innováció sebességének szükségzerű fokozódását is. Fokozni és gyorsítani kell a kutatási tevékenységet, de ami még talán ennél is fontosabb, az eredményeket az eddigi gyakorlathoz gyorsabban kell a gazdálkodásba átültetni. Az új kutatási eredmények gyakorlati felhasználásának gyors kidolgozása, majd széleskörű elterjesztése a gazdálkodási gyakorlatban, meghatározó az ágazat sikere és fenntarthatósága szempontjából.

Kulcselemet jelent a kutatás és a működő gazdaság kapcsolatrendszere, távolsága, valamint a juhászatok innovációs készsége és képessége.

A kutatás és az innováció számára rendkívül széles tér áll rendelkezésre. Az állattenyésztési kutatások hagyományos módszereinek alkalmazásán túl a fajta-összehasonlító keresztezések eredményességének vizsgálata, a tenyésztéskbecslés elemeinek korszerűsítése, a populációgenetikai értékelés fejlesztése, a molekuláris genetikai lehetőségek kihasználása, felhasználása egyaránt kiaknázható. Ugyanígy fontos figyelmet fordítani az ágazat szakmapolitikai fejlesztésére, valamint a közgazdaságtan, a vezetés- és szervezéstudomány eszközeinek kihasználására is.

Általános trend, hogy a fejlesztések egyre összetettebb ismereteket és megoldásokat igényelnek, gyakran egymástól távoli tudományterületek eredményeinek integrálását is megkövetelik. Ez a kutatásban is szemléletváltást és új gyakorlatokat követel meg. Ráadásul ma már természetes, hogy a kutatás nem tekinthető befejezettnek az eredmények megszületésével, hanem annak mihamarabb „termékké” kell válnia. Csak az biztosíthatja a tudomány létjogosultságát, ha az új tudományos eredmények hatékonyan hozzájárulnak az ágazat és a szakma fejlődéséhez.

A tejfehérje gének egyike azon termelést befolyásoló géneknek, melyeket elsőként vizsgáltak gazdasági haszonállatok esetén. Szarvasmarha és kecske fajokban számos tanulmány született, azonban juh faj esetén a tejfehérje gének polimorfizmus vizsgálata kevésbé volt intenzív. Ennek ellenére az eddig azonosított fehérje mintázatok sokkal komplexebbnek és érdekesebbnek tűnnek a másik két kérődző fajhoz viszonyítva. A genetikai variánsok csoportosíthatóak a kecsketejben szintetizált mennyiségük alapján, így megkülönböztetünk „magas-”, „közepes-”, és „alacsony típusú” variáncscsoportokat. Ennek megfelelően az A, B és C variánst hordozó egyedek tejében kb. 3,6 g/l mennyiségben van jelen α_{s1} -kazein, ezért ezek a „magas típusba” tartoznak, az E variánst hordozókat kb. 1,6 g/l mennyiséggel a „közepes-”, a D és F variánst hordozókat (0,6 g/l) pedig az „alacsony típusba” sorolták. A k-kazein jelentősége a micellák kialakításában és stabilizálásában rejlik, valamint ennek jelenléte teszi lehetővé a fehérje molekulák összekapcsolódását és az alvadékká gél formában való összeállását. A sajtgártás során a fenil-alanin – metionin közötti peptid kötésének felhasítása történik meg, és a folyamat ad szabad teret a további összekapcsolódásoknak.

A β -laktoglobulin a kérődzők tejében található legfontosabb savófehérje, meg-

található egyéb fajok tejében, de a nyúlfélék tejéből és a humántejből hiányzik (Moioli és mtsai, 1998). King már 1969-ben kimutatta, hogy a különböző juhajták más és más β -laktoglobulin variánst örökítenek. Az A és B variánsokat a 20-as aminosav helyzete szerint különböztetik meg. Erhardt (1989) írta le, hogy a C variáns tulajdonképp az A variáns egy altípusa, amelyben a 148. aminosav arginin helyett glutamin szerepel a láncban.

Húshasznosítású állatok tenyésztésében az alapvető cél a növekedési erély, a kedvező szaporodásbiológiai mutatók és az ellenálló képesség megőrzése és fejlesztése. Mindez a minél jobb minőségű és gazdaságos hústermelés elérése céljából valósulhat meg. Ennek tudatos tervezésében hathatós segítséget jelentenek az egyes termelési mutatók változásainak tudományos vizsgálatai, és a hozzájuk kapcsolódó genetikai vizsgálatok által nyújtott információk. A növekedést befolyásoló gének azonosítását és tenyésztésben való felhasználását célzó vizsgálatok alapján azonban egyrészt az egyes gének kifejeződése eltérő lehet a különböző fajták esetében, másrészt az elsődleges értékmérő tulajdonságokat –mivel azok általában mennyiségi tulajdonságok–, így a hústermelést is számos gén együttesen határozza meg. Ezen gének és genetikai szabályozó folyamatok megismerése elsődleges és alapvető feladat. Az így megszerzett információk felhasználása pedig a húshasznosítású juh fajták termelésének javítására szolgáló tenyésztési programok tervezésénél is elengedhetetlen, tehát a hazai juh ágazat sem nélkülözheti a molekuláris genetikai vizsgálatokat.

A molekuláris genetika rendkívül informatívnak bizonyult a haszonállatfajok újabb evolúciós történetének megértése, valamint genetikai változatosságuk feltárása tekintetében, ami olyan alapvető szempont, amit mindenképpen figyelembe kell venni a megőrzési prioritások, és a regionális, fajtára szabott programok kialakításakor.

A betegségekkel szembeni rezisztencia vizsgálatok ugyancsak egyre inkább előtérbe kerülnek a genetikai, genomikai módszerek fejlődésével. A Caprine Arthritis Encephalitis vírus (CAEV) fertőzöttség a magyar kecskeállományban 30%-os arányban volt jelen (Kukovics, 2003 a, b, c). Számos országban kezdtek vizsgálatokat annak megállapítására, hogy van-e különbség a fajták között a CAEV-re való fogékonyságban. Az fő hisztokompatibilitási komplexben (MHC) sok egymástól eltérő funkcióval rendelkező fehérje kódolásáért felelős gént azonosítottak. Régóta ismert megfigyelés, hogy számos betegség iránti fogékonyság szoros összefüggést mutat bizonyos klasszikus MHC gének bizonyos alléljainak jelenlétével, de az MHC-ben található más polimorf gének is kapcsolatosak lehetnek bizonyos betegségekkel.

Svájcban a CAEV fertőzöttség klinikai tünetei és a fajta közötti összefüggés kimutatására DNS fingerprint módszert alkalmazva egyértelmű kapcsolatot találtak a szántéri fajtában a vírus indukálta betegségekre való érzékenység és egy DNS sáv között (Dolf és Ruff, 1994). Azonban nem állt fenn ez a megállapítás az alpesi fajtánál. A toggenburgi fajta vizsgálata esetében egy másik DNS sávot kaptak meghatározó eredményül.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Tejtermelő képesség biológiai hátterének fejlesztése különböző juhajtókban

A gyapjúminták vétele minden esetben tépéssel történt és azok egyenként külön nylonzacskókba kerültek. A teljes vér az állatok torkolati vénájából (vena jugularis) lett véve EDTA véralvadástgátlót tartalmazó vérminta vevő csövekbe állatorvos segítségével, állatonként új injekciós tűt használva a keresztszennyezések elkerülése céljából. A mintákat a vizsgálat megkezdéséig -20°C-on tároltuk.

A minták a Debreceni Egyetem Állatgenetikai laboratóriumába (Agrár Genomikai és Biotechnológiai Központ (AGBK) jogelődje) kerültek és ott került sor a genetikai vizsgálatok elvégzésére.

A genomális DNS kivonása vérből Zsolnai és Orbán (1999) módszerét követve történt, míg gyapjú mintából a FAO/IAEA (2004) protokollját használtuk. A kivont DNS mennyiségét Nanodrop ND-1000 spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) ellenőriztük.

A polimorfizmus vizsgálatokat röviden összefoglalva az 1. táblázatban mutatjuk be.

Hústermelőképesség biológiai hátterének fejlesztése különböző juh genotípusokban

Ebben a vizsgálatunkban különböző juh genotípusok mintáinak felhasználásával két hústermelésre ható gén (kalpasztatin (CAST), inzulin-szerű növekedési faktor kötő fehérje-3 (IGFBP-3) polimorfizmusát, illetve annak hústermelési, vágási tulajdonságokra gyakorolt hatását vizsgáltuk, PCR restrikciós fragment-hossz polimorfizmus (PCR-RFLP) és egyszálú DNS konformáció polimorfizmus (PCR-SSCP) módszerekkel. A munkánkban Zhou és mtsai (2007), Eftekhari-Shahroudi és mtsai (2006), Lan és mtsai (2007), valamint Kumar és mtsai (2006) módszertanát követve. A vizsgálatba vont genotípusonkénti elemszámot a 2. táblázatban mutatjuk be.

Tejtermelő képesség biológiai hátterének fejlesztése különböző kecske ajtókbán

A különböző típusú minták levétele, genomális DNS izolálása, tárolása azonos módszerekkel történt, mint a juh ajtók esetében.

A kecske ajtókon végzett polimorfizmus vizsgálatokat röviden összefoglalva a 3. táblázatban mutatjuk be.

Génmegőrzésre irányuló vizsgálatok juh ajtókbán

Több cigája és zackel fajtakörbe tartozó juhajtót, magyar rackát és különböző merinó vonalak vizsgálatát is elvégeztük, jelen tanulmányban azonban csak a gyimesi racka és curkána juhajtók különböző ökotípusainak összehasonlító vizsgálatát mutatjuk be.

A genomális DNS izolálását a tépéssel történő gyapjúminta vételt követően, a FAO/IAEA (2004) protokollja alapján végeztük el. A kivont DNS mennyiségét

1. táblázat

Juh tejfehérje gének polimorfizmus vizsgálatának fő jellemzői

Fajta (1)	Mintavétel (2)	Elem- szám (3)	Minta típus (4)	Gén (5)	Allél (6)	Laboratóriumi módszer (7)	Statistikai módszer (8)
magyar merinó (9)	Magyarország	28	gyapjú	cs1-kazein	A, C, D, H	AS-PCR (D allél - <i>Ramunno</i> és <i>mtsai</i> , 1997); PCR-RFLP (A, C allélok - <i>Hristova</i> 2011; H allél - <i>Giambra</i> és <i>mtsai</i> , 2010)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers. 1.31. (<i>Yeh</i> és <i>Yong</i> , 1999)
cigája, tejelő cigája (10, 11)	Magyarország	28	gyapjú				
awassi (12)	Magyarország	5	gyapjú				
gyimesi racka (13)	Magyarország	14	gyapjú				
lacaune (14)	Magyarország	37	gyapjú				
brit tejelő (15)	Magyarország	12	gyapjú				
magyar merinó	Magyarország	28	gyapjú	cs2-kazein	A, G	PCR-RFLP (<i>Othman</i> és <i>mtsai</i> , 2010)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers. 1.31. (<i>Yeh</i> és <i>Yong</i> , 1999)
cigája, tejelő cigája	Magyarország	28	gyapjú				
awassi	Magyarország	5	gyapjú				
gyimesi racka	Magyarország	14	gyapjú				
lacaune	Magyarország	37	gyapjú				
brit tejelő	Magyarország	12	gyapjú				
román racka (16)	Románia (2 megye)	98	gyapjú	β-kazein	A, G	Taqman próba (Applied Biosystems, USA), primerek: <i>Sztankóová</i> és <i>mtsai</i> (2011)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers. 1.31. (<i>Yeh</i> és <i>Yong</i> , 1999)
curkáná (17)	Románia (4 megye)	111	gyapjú				
magyar merinó	Magyarország	28	gyapjú				
cigája, tejelő cigája	Magyarország	28	gyapjú				
awassi	Magyarország	5	gyapjú				
gyimesi racka	Magyarország	14	gyapjú				
lacaune	Magyarország	37	gyapjú				
brit tejelő	Magyarország	12	gyapjú				

Folytatás a következő oldalon

Fajta (1)	Mintavétel (2)	Elem- szám (3)	Minta típus (4)	Gén (5)	Allél (6)	Laboratóriumi módszer (7)	Statistikai módszer (8)
magyar cigája (génrezerv)	Magyarország	97	gyapjú	β -laktoglobulin	A, B, C	PCR- RFLP (A és B allélok- <i>Felgini és mtsai</i> (1998); C allél elkülönítése az A tól - <i>Anton és mtsai</i> (1999)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers.1.31. (<i>Yeh és Yong</i> , 1999)
magyar cigája (tejelő)	Magyarország	95	gyapjú				
magyar racka (18)	Magyarország	237	vér				
gyimesi racka	Magyarország	98	gyapjú				
rozsdás cigája (19)	Románia	53	gyapjú				
cigája	Szlovákia	50	gyapjú				
cigája	Horvátország	43	vér				
cigája	Bulgária	34	gyapjú				
csókai cigája (20)	Szerbia	99	gyapjú				
pramenka (21)	Bosznia-Hercego- vina	98	gyapjú				
curkána	Románia (14 telep)	111	gyapjú				
racka	Románia (6 telep)	98	gyapjú				
cigája	Románia (5 telep)	79	gyapjú				
karakul (Botosani) (22)	Románia (4 vonal)	69	gyapjú				
erdélyi merinó (23)	Románia (3 telep)	67	gyapjú				

Table 1. Main parameters of polymorphism studies of ovine milk protein genes

breed (1); origin of samples (2); sample size (3); type of samples (4); gene (5); allele (6); laboratory methods (7); statistical analysis (8); Hungarian Merino (9); Tsigai, Milking Tsigai (10, 11); Awassi (12); Transylvanian –Gyimesi- Racka (13); Lacaune (14); British Milkshope (15); Romanian Racka (16); Turcana (17); Hungarian Racka (18); Rusty Tsigai (19); Cokanski Tsigai (20); Pramenka (21); Karakul de Botosani (22); Transylvanian Merino (23)

2. táblázat

Vizsgálatba vont állatok száma módszertan és genotípus szerint

módszer (2)	genotípus (1)	CAST		IGFBP-3
		SSCP	RFLP	RFLP
gyimesi racka (3)		15	15	15
gyimesi racka X beltex (4)		8	7	8
gyimesi racka X brit tejelő (5)		15	14	15
gyimesi racka X charollais (6)		9	9	9
gyimesi racka X dorper (7)		6	6	6
gyimesi racka X ile de france (8)		14	14	14
gyimesi racka X német feketefejú húsjuh (9)		5	5	5
gyimesi racka X suffolk (10)		11	11	11
gyimesi racka X texel (11)		21	20	21

Table 2. Sample sizes based on genotyping methods and genotypes

genotype (1); method (2); Transylvanian – Gyimesi- Racka (3); Transylvanian – Gyimesi- Racka X Beltex (4); Transylvanian – Gyimesi- Racka X British Milksheep (5); Transylvanian – Gyimesi- Racka X Charollais (6); Transylvanian – Gyimesi- Racka X Dorper (7); Transylvanian – Gyimesi- Racka X Ile de france (8); Transylvanian – Gyimesi- Racka X German Black head (9); Transylvanian – Gyimesi- Racka X Suffolk (10); Transylvanian – Gyimesi- Racka X Texel (11)

Nanodrop ND-1000 spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) ellenőriztük, a DE Állatgenetikai laboratóriumban (AGBK jogelőd). A további lépések az összehasonlító táblázatban tekinthetők meg (4. táblázat).

Betegséggel (Caprine Arthritis Encephalitis) szembeni ellenállóképesség biológiai hátterének fejlesztése kecske fajtákban

Munkánk során 560 vérminta a következő, Magyarországon tenyésztett fajtákból származnak (a zárójelben a vizsgált egyedek száma látható): tejelő magyar barna kecske (84), tejelő magyar tarka kecske (51); tejelő magyar fehér kecske (143); szánentáli (196); keresztezett (35); parlagi (5) és magyar nemesített kecske (46).

A vizsgálatba vont egyedek eltérő nagyságú állományokból, az ország különböző helyszíneiről származnak. Egyedenként 1 ml teljes vért állatorvos vett, EDTA véralvadásgátlót tartalmazó 2ml-es eppendorf csövekbe. Állatonként külön injekciós tűt használva ügyelve arra, hogy az egyes egyedek vérmintái egymással ne szennyeződjenek. A mintákat feldolgozásig -20°C-on tároltuk.

A begyűjtött vérmintákból a szerológiai vizsgálatokat az Országos Állategészségügyi Intézetben végeztettük el ELISA és AGID módszert alkalmazva.

A DNS vizsgálatok 2002-ben a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban (MATE jogelőd) kezdődtek. A genomiális DNS kivonása fenol-kloroform alapú protokoll szerint történt (Bősze és mtsai, 2000). A polimeráz láncreakcióhoz (PCR) szükséges reakcióelegy a következő volt 25µl-hez: 100ng genomiális DNS, 0,38µM Ready Mix (SIGMA, USA), 0,04µM mindkét primerből (MWG-Biotech

3. táblázat

Kecske tejfehérje gének polimorfizmus vizsgálatainak fő jellemzői

Fajta (1)	Mintavétel (2)	Elem- szám (3)	Minta típus (4)	Gén (5)	Allél (6)	Laboratóriumi mód- szer (7)	Statistikai módszer (8)	
tejelő magyar (9)	Magyarország	103	vér	αs1-kazein	A, B, C + D, E, F, O	PCR-RFLP (<i>Ramunno és mtsai</i> 2000), AS-PCR (O allél - <i>Cosenza és mtsai</i> , 2001; E allél - <i>Dettori és mtsai</i> , 2009)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers.1.31. (<i>Yeh és Yong</i> , 1999)	
	parlagi (10)	Magyarország	27					szőr
	szánentáli (11)	Magyarország	29					szőr
	alpesi (12)	Magyarország	22					szőr
	szánentáli X parlagi (13)	Magyarország	6					szőr
	magyar fehér, barna, tarka (14)	Magyarország	16					szőr
tejelő magyar	Magyarország	103	vér	αs2-kazein	A + B + C + E, D, F, O	PCR- RFLP (<i>Ramunno és mtsai</i> , 2001)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers.1.31. (<i>Yeh és Yong</i> , 1999)	
	parlagi	Magyarország	27					szőr
	szánentáli	Magyarország	29		szőr	A, B+C, D, E, F, O		PCR- RFLP (<i>Ramunno és mtsai</i> , 2001); AS-PCR (E allél - <i>Bozkaya és mtsai</i> , 2013)
	alpesi	Magyarország	22		szőr			
	szánentáli X parlagi	Magyarország	6		szőr			
	magyar fehér, barna, tarka	Magyarország	16		szőr			
bánáti fehér (15)	Románia (3 telep)	73	szőr	β-kazein	A, C	Taqman pró- ba (Applied Biosystems, USA), primerek: <i>Sztankóová és mtsai</i> (2008)	Genotípus és allélgya- koriságok - Popgene vers.1.31. (<i>Yeh és Yong</i> , 1999)	
	kárpáti (16)	Románia (5 telep)	82					szőr
parlagi	Magyarország	27	szőr					
szánentáli	Magyarország	29	szőr					
alpesi	Magyarország	22	szőr					
szánentáli X parlagi	Magyarország	6	szőr					
magyar fehér, barna, tarka	Magyarország	16	szőr					

Fajta (1)	Mintavétel (2)	Elem- szám (3)	Minta típus (4)	Gén (5)	Allél (6)	Laboratóriumi mód- szer (7)	Statistikai módszer (8)
tejlő magyar	Magyarország	109	vér	k-kazein	A+B és C	PCR-RFLP (Yahyaoui és mtsai, 2001)	Genotípus és allélya- koriságok - Popgene vers. 1.31. (Yeh és Yong, 1999)
tejlő magyar	Magyarország	109	vér	β-laktoglobulin	A+B és C	PCR-RFLP (Yahyaoui és mtsai, 2000)	Genotípus és allélya- koriságok - Popgene vers. 1.31. (Yeh és Yong, 1999).
kárpáti	Románia (7 telep)	82	szőr		A, B	PCR-RFLP (Pena és mtsai, 2000)	
bánáti fehér	Románia (3 telep)	73	szőr				
szánentáli	Románia (12 genetikai vo- nal)	74	szőr				
alpesi	Románia (12 vonal)	77	szőr				
szánentáli	Románia	25	szőr	40 gén	48 SNP	KASP PCR	Statistica (StatSoft, Inc., 2011)
alpesi	Románia	24	szőr				

Table 3. Main parameters of polymorphism studies of caprine milk protein genes

breed (1); origin of samples (2); sample size (3); type of samples (4); gene (5); allele (6); laboratory methods (7); statistical analysis (8); Hungarian Milking (9); Hungarian native (10); Saanen (11), Alpine (12); Saanen X Hungarian native (13); Hungarian White, Brown, Multicolour (14); Banat's White (15); Carpatina (16)

4. táblázat

A gyimesi racka és curkána juhajták összehasonlító vizsgálatának legfőbb laboratóriumi és statisztikai jellemzői

Fajta (1)	Elem- szám (2)	Minta típusa (3)	Ország (4)	Marker (5)	Statisztikai értékeléshez hasz- nált programok (6)
gyimesi racka (2 ökotípus) (7)	50	gyapjú	Magyar- ország	mtDNS D-loop (599 bp, Niemi és mtsai, 2013)	DnaSP 4.50.2 (Rozas és mtsai, 2003), ARLEQUIN v.3.0. (Excoffier és mtsai, 2005), NET- WORK szoftver 4.6.0.0. (Bandelt és mtsai, 1999), MEGA 4.0 (Tamura és mtsai, 2007)
curkána (6 ökotípus) (8)	40	gyapjú	Románia		

Table 4. Main laboratory and statistical characteristics of the comparison study of Gyimesi Racka and Turcana sheep breeds

breed (1); sample size (2); type of samples (3); country (4); marker (5); statistical analysis (6); Transylvanian –Gyimesi- Racka (7); Turcana (8)

AG), primerek F: 5'-GGA-CAC-GTT-CTT-GCA-GAT-ACA-ACT-AC-3'; R: 5'-GAA-CTC-TCC-TTA-AGC-ATA-CTT-GCT-C-3'. A PCR körülmények a következők: 95 °C 5 min; majd 34 cikluson keresztül 95 °C 0:40 min, 58 °C 0:40 min, 72 °C 0:40 min és végül 72 °C 0:40 min.

A megfelelő mennyiségben felszaporított DNS szakaszok felhasználásával fragment analízist végeztünk ALFII típusú készülékkel. A fragment analízis során felhasznált belső standard 162; 252 bp; míg a külső standard 96; 142; 206; 275 bp hosszúságú. Az allélok azonosítására az ALF Win Software 1.03 programot használtuk, mely a belső standard alapján határozza meg a mikroszatellit fragmentumok pontos méretét. Az adatok értékelését az ALF fragment analyser 1.03 programmal végeztük el.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELESÜK

Tejtermelő képesség biológiai hátterének fejlesztése különböző juhajtákban

α-s1 kazein

Az α-s1 kazein gén A és C allélja normál mennyiségű fehérje megjelenést okozza a tejben. Ezzel szemben a D (Welsh) allél csökkent α-s1 kazein fehérje termelődésére utal. A vizsgált egyedek a C allél és CC genotípus dominanciát mutatták minden fajta esetén. Az A és D allél csak 1-2 állományban jelent meg és alacsony egyedszámban, míg a H allél nem volt detektálható.

Homozigóta DD egyedet nem, de CD genotípust a magyar merinó, a lacaune és a brit tejelő állományban, míg az AD genotípust a gyimesi racka és a brit tejelő fajtájú egyedekben találtunk (5. táblázat).

Hasonlóan alacsony D allél jelenlétet mutattak ki 2 cseh juhajtá 265 egyedének genotipizálása során is (Sztankóová és mtsai, 2012).

5. táblázat

Vizsgálatba vont egyedek α 1-kazein genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	α 1-kazein genotípus (2)				Allél gyakoriság (3)			
	CC	CD	AD	AC	A	C	D	H
magyar merinó (4)	26	2				0,96	0,04	
cigája, tejelő cigája (5)	28					1		
awassi (6)	5					1		
gyimesi racka (7)	13		1		0,04	0,92	0,04	
lacaune (8)	31	3	1	2	0,04	0,91	0,05	
brit tejelő (9)	10	1		1	0,04	0,92	0,04	

Table 5. Genotype and allele frequency of α 1-casein gene

breed (1); α 1-casein genotype (2); frequency of allele (3); Hungarian Merino (4); Tsigai, Milking Tsigai (5); Awassi (6); Transylvanian –Gyimesi- Racka (7); Lacaune (8); British Milkssheep (9)

 α -s2 kazein

Az alfaS2 kazein gén juhok esetében kevésbé kutatott terület, és egyértelműen az A allél dominanciája volt megfigyelhető a vizsgált egyedekben (6. táblázat).

A béta kazeinhez hasonlóan itt is a G allél társult a gyengébb fehérjetermelő képességgel, bár hatása nem volt olyan egyértelmű, mint a béta kazein esetében. A vizsgált 12 brit tejelőjuh esetében egy gyenge tejtermelő képességű egyedben jelent meg a G allél, minden más egyed homozigóta AA volt. A 24 lacaune juhból a jó, a közepes és a gyenge tejtermelő képességű állatok között is megjelent a G allél. Gyakorisági értékei a jó-, a közepes-, és a gyenge tejtermelő képességű egyedek esetében sorrendben a következőképpen alakult: 0,125: 0,0625: 0,125.

A két másik vizsgált lacaune állományban a G allél gyakorisága hasonlóan alakult: az egyikben 0, a másikban pedig 0,28 volt.

6. táblázat

Vizsgálatba vont egyedek α 2-kazein genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	α 2-kazein genotípus (2)			Allél gyakoriság (3)	
	AA	AG	GG	A	G
magyar merinó (4)	23	5		0,91	0,09
cigája, tejelő cigája (5)	23	5		0,91	0,09
awassi (6)	4	1		0,9	0,1
gyimesi racka (7)	12	2		0,93	0,07
lacaune (8)	30	7		0,91	0,09
brit tejelő (9)	11	1		0,96	0,04

Table 6. Genotype and allele frequency of α 2-casein gene

breed (1); α 2-casein genotype (2); frequency of allele (3); Hungarian Merino (4); Tsigai, Milking Tsigai (5); Awassi (6); Transylvanian –Gyimesi- Racka (7); Lacaune (8); British Milkssheep (9)

β-kazein

A szakirodalomban leírtakkal megegyezően az általunk vizsgált fajtákban is az A allél erős dominanciája mutatkozik meg a G alléllal szemben (7. táblázat), ahogy azt Sztankóóvá és mtsai (2011) a cseh sumava és valachian fajtákban, Ceriotti és mtsai (2004), valamint Chessa és mtsai (2010) az olasz comisana, szarda és sopravissana fajtákban kimutatták. Mindössze két homozigóta GG genotípusú egyed (egy merinó és egy brit tejelőjuh) találtunk a vizsgált minták között. A G allél az awassi kivételével minden állományban megjelent. Ennek oka lehet azonban a nagyon alacsony elemszám!

7. táblázat

Vizsgálatba vont egyedek β-kazein genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	β-kazein genotípus (2)			Allél gyakoriság (3)	
	AA	AG	GG	A	G
román racka (4)	95	3		0,98	0,02
curkána (5)	105	6		0,97	0,03
magyar merinó (6)	19	8	1	0,82	0,18
cigája, tejelő cigája (7)	22	6		0,89	0,11
awassi (8)	5			1	
gyimesi racka (9)	9	5		0,82	0,18
lacaune (10)	30	7		0,91	0,09
brit tejelő (11)	7	4	1	0,75	0,25

Table 7. Genotype and allele frequency of β-casein gene

breed (1); β-casein genotype (2); frequency of allele (3); Romanian Racka (4); Turcana (5); Hungarian Merino (6); Tsigai, Milking Tsigai (7); Awassi (8); Transylvanian – Gyimesi- Racka (9); Lacaune (10); British Milkshope (11)

β-laktoglobulin

A leggyakoribb genotípus az AB volt minden fajtában, hasonlóan a pag iráni fajtákhoz, illetve azok keresztezéseihez (Cubrik-Curik és mtsai, 2002, Elyasi és mtsai, 2010). Amigo és mtsai (2000) szerint a β-LG A allélja lehet a legősibb. Ennek a gyakorisága volt a legmagasabb az általunk vizsgált fajták döntő többségében, kivéve a gyimesi racka, a rozsdás cigája, a bosnyák pramenka és a román curkána állományokban (8. táblázat). Akárcsak az iráni karakul, a finn landrace, az orosz karakul, a ghezel, a magyar racka, a pag szigeti fajta, a manchega és a hyfer border leicester fajták esetén is (Mohammadi és mtsai, 2006, Thomas és mtsai, 1989, Rampilli és mtsai, 1997, Lopez-Galvez és mtsai, 1994, Ivankovic és Dovic, 2004, Kerekes és mtsai, 2008, Amigo és mtsai, 2000). A B allél gyakoribb a romanov (Macha és Novackova, 1974), a tajik (Aliev és Koloteva, 1975), a szarda (Bolla és mtsai, 1989), a lacha (Recio és mtsai, 1997), a chios (Macha és Novackova, 1974) és a román merinó (Georgescu és mtsai, 2016) fajtákban. A C allél az A alléltól elkülöníthető. Alacsony gyakorisággal fordult elő a román curkána, a racka, a cigája és a karakul fajtákban, a merino, a massese, a kivircik, a gokceada és a sakiz fajtákban leírtakhoz hasonlóan (Recio és mtsai, 1997, Erhardt és mtsai, 1989, Meie és mtsai, 2006, Elmaci és mtsai, 2006).

8. táblázat

Vizsgálatba vont egyedek β -laktoglobulin genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	β -laktoglobulin genotípus (2)					Allél gyakoriság (3)			
	AA	AB	BB	AC	CC	A	B	C	χ^2
magyar cigája (génrezerv) (4)	31	56	10			0,61	0,39		4,33 ^a
magyar cigája (tejelő) (5)	23	50	22			0,51	0,49		0,26 ^a
magyar racka (6)	94	114	29			0,64	0,36		0,38 ^a
gyimesi racka (7)	17	57	24			0,46	0,54		2,81 ^a
rozsdás cigája (8)	7	31	15			0,42	0,58		2,06 ^a
szlovák cigája (9)	11	32	7			0,54	0,46		4,15 ^a
horvát cigája (10)	11	28	4			0,58	0,42		4,91 ^a
bolgár cigája (11)	13	20	1			0,68	0,32		4,02 ^a
szerb csókai cigája (12)	18	72	9			0,55	0,45		21,56 ^b
bosnyák pramenka (13)	14	64	20			0,47	0,53		9,48 ^c
curkána (14)	17	58	28	5	3	0,44	0,51	0,05	38,19 ^b
román racka (15)	28	38	27	3	2	0,49	0,47	0,04	40,08 ^b
román cigája (16)	15	40	17	5	1	0,47	0,47	0,06	19,05 ^b
karakul (17)	16	27	11	3	1	0,53	0,42	0,04	11,84 ^d
román merinó (18)	23	31	23			0,5	0,5		3,12 ^b

^aHardy-Weinberg equilibrium; NS, nem szignifikáns; ^bHardy-Weinberg equilibrium; $p < 0.001$; ^cHardy-Weinberg equilibrium; $p < 0.01$; ^dHardy-Weinberg equilibrium; $p < 0.05$

Table 8. Genotype and allele frequency of β -lactoglobulin gene

breed (1); β -lactoglobulin genotype (2); frequency of allele (3); Hungarian Tsigai (gene reserve) (4); Hungarian Tsigai (milking type) (5); Hortobágyi Racka (6); Transylvanian –Gyimesi-Racka (7); Rusty Tsigai (8); Slovak Tsigai (9); Croatian Tsigai (10); Bulgarian Tsigai (11); Serb Cokanski Tsigai (12); Bosnian Pramenka (13); Turcana (14); Romanian Racka (15); Romanian Tsigai (16); Karakul (17); Romanian Merino (18)

A román curkána, racka és cigája fajták esetén azt találtuk, hogy a tejhozam szignifikánsan ($p < 0,001$) függ a fajtától (9. táblázat), illetve Balthazar és mtsai (2017) eredményeivel megegyezően azt mutattuk ki, hogy a tejhozam szoros negatív korrelációban van a tejsír és a fehérje tartalommal.

Hústermelőképesség biológiai hátterének fejlesztése különböző juh genotípusokban

Eredményeink igen alacsony szintű polimorfizmust mutattak a vizsgált génekkel, emiatt nem tudtunk összefüggés vizsgálatot végezni a genotípus és a hústermelési-vágási tulajdonságok között. Annak érdekében, hogy a kapott eredmények a jövőben felhasználhatóak legyenek szelekciós markerként további vizsgálatok szükségesek, de nagyobb egyedszámmal, illetve újabb kandidáns gének bevonásával.

9. táblázat

Curkána, román racka és román cigája fajták tejhozama, zsír és fehérje tartalma

Fajta (1)	Laktációs tejtermelés (kg) (2)	Zsírtartalom (%) (3)	Fehérje tartalom (%) (4)
curkána [a] (5)	76,8±2,99	7,38±0,33	5,91±0,24
román racka [b] (6)	54,4±3,47	8,57±0,45	5,94±0,43
román cigája [c] (7)	86,3±4,15	6,11±0,21	5,08±0,18
Fajták közti különbség			
a vs. b	**	*	ns
a vs. c	*	*	**
b vs. c	***	**	**

Table 9. Milk production and milk fat and protein content in Turcana, Racka and Tsigai sheep breeds

breed (1); milk yield per lactation (kg) (2); fat content (%) (3); protein content (%) (4); Turcana (5); Romanian Racka (6); Romanian Tsigai (7)

Tejtermelő képesség biológiai hátterének fejlesztése különböző kecske fajtákban

αs1-kazein

A kecske fajban az αs1-kazein gén a legtöbbet vizsgált, így a legtöbb azonosított alléllal rendelkező kazein gén az összes ismert kazein gén között. Az általunk vizsgált egyedekben az erős allélok - A és B - voltak többségben. Szintén magas gyakorisággal fordult elő az F allél, amely alacsony 0,6 g/l-es fehérjetartalmú tejtermelést eredményez. A C és D allélok alacsony gyakorisággal fordultak elő, míg E és nullás allélt nem találtunk.

Legérdekesebb a 0 allél lett volna, mely nem eredményezte α-s1 kazein frakció

10. táblázat

Vizsgálatba vont kecskefajták αs1-kazein genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	αs1-kazein genotípus (2)							Allél gyakoriság (3)					
	FB	XA	FA	FF	BB	AA	AB	A	B	X (C+D)	E	F	0
tejelő magyar (4)								0,09	0,29	0,08	0,08	0,46	
parlagi (5)	15	7	1	1	1		2	0,19	0,35	0,13		0,33	
szánentáli (6)	11	6	1	0	4		7	0,24	0,45	0,1		0,21	
alpesi (7)	6	4	4	2	3	1	2	0,27	0,32	0,09		0,32	
szánentáli X parlagi (8)	1	3				1	1	0,5	0,17	0,25		0,08	
magyar fehér, barna, tarka (9)	3	1	3	2			7	0,34	0,31	0,04		0,31	

Table 10. Genotype and allele frequency of αs1-casein gene

breed (1); αs1-casein genotype (2); frequency of allele (3); Hungarian Milking (4); Hungarian Native (5); Saanen (6); Alpine (7); Saanen X native crossbred (8); Hungarian White, Brown, Multicolour (9)

megjelenését a kecsketejben. Allergizálás szempontból csökkent α -s1 kazein szintet eredményez az F allél, amely a tejelő magyar, parlagi és alpesi állományokban relative magas gyakorisággal volt jelent (10. táblázat).

α s2-kazein

Eredményeink azt mutatták, hogy a vizsgált magyar kecskékben a CSN1S2 0 alléja kis gyakorisággal van jelen, akárcsak a D allél, amelyek kedvezőtlen jellemzők a tejfehérje allergiában szenvedők számára (11. táblázat).

11. táblázat

Vizsgálatba vont kecskefajták α s2-kazein genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	α s2-kazein genotípus (2)						Allél gyakoriság (3)					
	FN	NA	AA	FA	NN	FF	A	N (B+C)	D	E	F	0
tejelő magyar (4)							0,635*		0,01		0,21	0,15
parlagi (5)	7	10	3	5	1	1	0,39	0,35			0,26	
szánentáli (6)	10	4	2	4	5	4	0,21	0,41			0,38	
alpesi (7)	3	4	3	10	1	1	0,45	0,21			0,34	
szánentáli X parlagi (8)	2	1	1	1	0	1	0,33	0,25			0,42	
magyar fehér, barna, tarka (9)	2	1	1	4	2	6	0,22	0,22			0,56	

*A+B+C+E

Table 11. Genotype and allele frequency of α s2-casein gene

breed (1); α s2-casein genotype (2); frequency of allele (3); Hungarian Milking (4); Hungarian Native (5); Saanen (6); Alpine (7); Saanen X native crossbred (8); Hungarian White, brown, Multicolour (9)

β -kazein

A Taqman próba során két allélváltozatot különítettünk el egymástól, az A és C-t. Azonban az A magában foglalja még a B, valamint a 0 és 0' változatot, jóllehet, így sem a legnagyobb gyakoriságú minden fajta esetén (bánáti fehér, szánentáli) (12. táblázat). Hasonló értékeket kaptak a cseh tejelő kecskék és az őshonos olasz orobica fajta vizsgálatakor (Sztankóva és mtsai, 2008; Chessa és mtsai, 2005; Tortorici és mtsai, 2014).

Nagyobb A allél gyakoriságot találtak a legtöbb olasz fajta (Caroli és mtsai, 2006), valamint a török, indiai és szudáni kecske fajták (Chessa és mtsai, 2005) genotipizálásakor.

κ -kazein

Eddigi vizsgálataink alapján A+B allélt különítenek el a C alléltól (13. táblázat). Spanyol kutatók eredményei alapján a C allél nagy gyakorisággal van jelen a tejtermelésre szelektált francia szánentáli állományokban, míg más fajtákban alacsony arányú, illetve hiányzik. A κ -kazein alléljai a francia szánentáli állományhoz nagyon hasonló gyakorisággal vannak jelen a magyarországi állományokban is (Veress és mtsai, 2004). Ugyancsak spanyol vizsgálatok szerint a homozigóta B

12. táblázat

Vizsgálatba vont kecskefajták β -kazein genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	β -kazein genotípus (2)			Allél gyakoriság (3)	
	AA	AC	CC	A (A+B+0+0')	C
bánáti fehér (4)	2	35	36	0,27	0,73
kárpáti (5)	14	52	16	0,51	0,49
parlagi (6)	9	16	2	0,63	0,37
szánentáli (7)	6	12	11	0,41	0,59
alpesi (8)	11	8	3	0,69	0,31
szánentáli X parlagi (9)	4	2		0,83	0,17
magyar fehér, barna, tarka (10)	7	9		0,72	0,28

Table 12. Genotype and allele frequency of β -casein gene

breed (1); β -casein genotype (2); frequency of allele (3); Banat's White (4); Carpatina (5); Hungarian Native (6); Saanen (7); Alpine (8); Saanen X Hungarian Native (9); Hungarian White, Brown, Multicolour (10)

13. táblázat

k-kazein allélgyakorisági értékek a tejelő magyar állományban összehasonlítva spanyol és francia fajtákkal

Fajta (egyedek száma) (1)	A+B	C	Forrás (2)
tejelő magyar (3)	1	0	nem publikált
malaguena (4)	1	0	Yahyaoui és mtsai, 2001
payoya (5)	0,99	0,01	Yahyaoui és mtsai, 2001
canaria (6)	0,99	0,01	Yahyaoui és mtsai, 2001
murciano-granadina (7)	0,89	0,11	Yahyaoui és mtsai, 2001
szánentáli (8)	0,85	0,15	Yahyaoui és mtsai, 2001

Table 13. Allele frequencies of k-casein gene in Hungarian, Spanish and French breeds

breed (1); references (2); Hungarian Milking (3); Malaguena (4); Payoya (5); Canaria (6); Murciano-Granadina (7); Saanen (8)

kecskék szignifikánsan több, és magasabb kazein-tartalmú tejet termelnek, mint a más genotípusokba tartozó társaik (Angulo és mtsai, 1994).

 β -laktoglobulin

A legnagyobb gyakoriságú allél az A volt minden vizsgált magyar és román kecskefajtában (14. táblázat).

A vizsgálatunk eredményei szerint az AB genotípusú egyedek voltak legnagyobb számban, akárcsak a barki és habsi kecskefajtákban (El-Hanafy és mtsai, 2015), szemben a Damascus, illetve damascus x barki keresztezett kecskék esetében megfigyeltekkel. Az általunk vizsgált fajtákban nem voltak BB genotípusúak, míg őshonos szaudi fajtákban (ardi és harri), ezt találták leggyakoribbnak (0,52 és 0,55, El-Hanafy és mtsai, 2015).

14. táblázat

Vizsgálatba vont kecskefajták β -laktoglobulin genotípus és allél gyakorisági értékei

Fajta (1)	β -laktoglobulin genotípus (2)			Allél gyakoriság (3)	
	AA	AB	BB	A	B
tejelő magyar (4)				0,88	0,12
kárpáti (5)	11	71		0,57	0,43
bánáti fehér (6)	27	46		0,68	0,32
szánentáli (7)	12	62		0,62	0,38
alpesi (8)	18	59		0,58	0,42

Table 14. Genotype and allele frequency of β -lactoglobulin gene

breed (1); β -lactoglobulin genotype (2); frequency of allele (3); Hungarian Milking (4); Carpatina (5); Banat's White (6); Saanen (7); Alpine (8)

15. táblázat

Román kárpáti, bánáti fehér, szánentáli és alpesi fajták tejhozam, zsír és fehérje tartalma

Fajta (1)	Tejhozam laktációként (kg) (2)	Zsirtartalom (%) (3)	Fehérje tartalom (%) (4)
kárpáti [a] (5)	348,2 $\pm$ 1,61	3,92 $\pm$ 0,45	3,85 $\pm$ 0,18
bánáti fehér [b] (6)	561,4 $\pm$ 1,43	3,74 $\pm$ 0,31	3,67 $\pm$ 0,64
szánentáli [c] (7)	923,0 $\pm$ 2,28	3,79 $\pm$ 0,17	3,59 $\pm$ 0,41
alpesi [d] (8)	1028,5 $\pm$ 1,92	3,80 $\pm$ 0,27	3,63 $\pm$ 0,21
<i>Fajták közti különbség</i>			
a vs. b	***	*	*
a vs. c	***	*	**
a vs. d	***	*	*
b vs. c	***	ns	*
b vs. d	***	ns	*
c vs. d	**	ns	*

Table 15. Milk production and milk fat and protein content in Carpatina, Banat's White, Saanen, Alpine goat breeds

breed (1); milk yield per lactation (kg) (2); fat content (%) (3); protein content (%) (4); Carpatina (5); Banat's White (6); Saanen (7); Alpine (8)

A vizsgált román kecskefajták esetén is azt találtuk, hogy a tejhozam szignifikánsan ($p < 0.001$) függ a fajtától (15. táblázat). Eredményeink mind a tej mennyiségét mind összetételét tekintve hasonlóak voltak a *Palhiere* és *mtsai* (2014) által kapottakhoz.

SNP alapú vizsgálat

Az elvégzett vizsgálatainkban a KASP-PCR módszerrel a minták 94,81%-a sikeresen genotipizálható volt. Ez hasonló sikerességi arány, mint másoknál és

bizonyítja a módszer költséghatékony voltát (Semagn és mtsai, 2014; Landoulsi és mtsai, 2017).

A vizsgált 48 SNP-ből 13 bizonyult polimorfnek (27,08%), amelyekkel összefüggésvizsgálatot végezhattünk (16. táblázat). Ezek a következő géneken találhatók: CAST, CLEC4E, DES, GHRHR, HSP90AA1, IL15RA, IL1RN, IL8, MITF, PPRC1, SOCS3, TNF és TNFSF13. Kettő közülük intron (rs660778229- HSP90AA1 és rs635583012- SOCS3), kettő 3'UTR (rs671256096- DES és rs664283580- MITF), és egy upstream variáns (rs669986850- CLEC4E), míg nyolc misszensz szubsztitúció (rs666806435- CAST, rs671391101- GHRHR, rs635969404- IL15RA, rs640582069- IL1RN, rs665173888- IL8, rs671509714- PPRC1, rs661165283- TNF és rs669561078- TNFSF13).

A homozigóta genotípusok sokkal nagyobb gyakoriságúak, mint a heterozigóták, a legtöbb esetben. Egyedül az alpesi fajta esetében, a g.62894878A>G lókuszon (rs671391101) ($p < 0,05$) nem volt Hardy-Weinberg egyensúlyban (HWE).

16. táblázat

Polimorf SNP-k és genotípus gyakoriságok román szánentáli és alpesi kecske fajtákban

SNP (2)	Allél szubsztitúció (3)	Genotípus (4)	Genotípus gyakoriság (1)		
			szánentáli (5)	alpesi (6)	összesen (7)
rs666806435	C>T	CC	0,72	0,91	0,81
		CT	0,24	0,09	0,17
		TT	0,04	0	0,02
N			25	22	47
rs669986850	C>T	TT	0,83	0,53	0,70
		TC	0,17	0,47	0,30
		CC	0	0	0
N			24	19	43
rs671256096	C>T	CC	0,83	0,96	0,89
		CT	0,17	0,04	0,11
		TT	0	0	0
N			24	22	46
rs671391101	A>G	AA	1,00	0,89	0,95
		GG	0	0,11	0,05
		AG	0	0	0
N			25	18	43
rs660778229	A>G	AA	0	0,10	0,04
		GG	0,76	0,66	0,72
		AG	0,24	0,24	0,24
N			25	21	46
rs635969404	C>T	CC	0,24	0,59	0,40

SNP (2)	Allél szubsztitúció (3)	Genotípus (4)	Genotípus gyakoriság (1)		
			szánentáli (5)	alpesi (6)	összesen (7)
		TC	0,44	0,32	0,38
		TT	0,32	0,09	0,22
N			25	22	47
rs640582069	G>T	TG	0,40	0,50	0,45
		GG	0,52	0,37	0,45
		TT	0,08	0,13	0,10
N			25	24	49
rs665173888	A>G	AA	0	0,05	0,02
		GG	0,80	0,69	0,75
		AG	0,20	0,26	0,23
N			25	19	44
rs664283580	C>T	CC	0,92	0,96	0,94
		TC	0,08	0,04	0,06
		TT	0	0	0
N			25	24	49
rs671509714	A>G	GG	1,00	0,91	0,96
		AG	0	0,09	0,04
		AA	0	0	0
N			25	21	46
rs635583012	G>T	TG	0,68	0,50	0,60
		GG	0,16	0,18	0,17
		TT	0,16	0,32	0,23
N			25	22	47
rs661165283	A>T	AA	0,12	0	0,06
		AT	0,40	0,25	0,33
		TT	0,48	0,75	0,61
N			25	24	49
rs669561078	A>G	AA	0,84	0,85	0,84
		AG	0,16	0,15	0,16
		GG	0	0	0
N			25	20	45

N = mintaszám

Table 16. List of polymorphic SNPs and genotypes frequencies in Romanian Saanen and French Alpine goat breeds

genotype frequencies (1); SNP (2); allele substitution (3); genotype (4); Saanen (5); Alpine (6); total population (7)

SNP-k, melyek összefüggést mutatnak

SNP (4)	Gén (5)	Genotípus (6)	Szánentáli (1)					Genotípus gyakoriság (7)	
			Genotípus gyakoriság (7)	Tejhozam (kg) (8)	Tejzsír (%) (9)	Tejfehérje (%) (10)	Tejcukor (%) (11)		
rs671391101	GHRHR	AA	1.00	874.32±36.81 ^A	3.83±0.03	3.62±0.03	4.19±0.01	0.89	
		GG	0					0.11	
		AG	0					0	
rs635969404	IL15RA	CC	0.24	859.83±71.34 ^a	3.79±0.07 ^a	3.6±0.06 ^a	4.2±0.07 ^a	0.59	
		TC	0.44	829.9±52.69 ^{aA}	3.8±0.05 ^a	3.59±0.04 ^a	4.2±0.05 ^a	0.32	
		TT	0.32	946.25±61.78 ^a	3.8±0.06 ^a	3.67±0.05 ^a	4.16±0.06 ^a	0.09	
rs640582069	IL1RN	TG	0.40	907.2±55.26 ^a	3.88±0.06 ^a	3.61±0.04 ^a	4.21±0.04 ^a	0.50	
		GG	0.52	821.92±48.46 ^{aA}	3.78±0.05 ^a	3.61±0.04 ^a	4.19±0.04 ^a	0.37	
		TT	0.08	1050.5±123.56 ^a	3.89±0.13 ^a	3.75±0.1 ^a	4.1±0.1 ^{aA}	0.13	
rs635583012	SOCS3	TG	0.68	875.35±44.23 ^{aA}	3.8±0.04 ^a	3.61±0.03 ^a	4.17±0.03 ^a	0.50	
		GG	0.16	868.00±91.19 ^a	3.89±0.1 ^a	3.62±0.08 ^a	4.23±0.07 ^a	0.18	
		TT	0.16	876.25±91.19 ^a	3.87±0.1 ^a	3.66±0.08 ^a	4.24±0.07 ^a	0.32	

A különböző felső indexű (kisbetű) oszlopok átlagai szignifikánsan különböznek $p < 0,05$ mellett, ugyanazon SNP-n belül

Ugyanazon tulajdonság különféle felső indexű (nagybetű) sorszámai szignifikánsan különböznek $p \leq 0,05$ -nél, a fajták között genotípuson belül

Table 17. List of SNPs found to be associated with milk yield and composition in Saanen and French Alpine goats

Saanen population (1); Alpine population (2); total population (3); SNP (4); gene (5); genotype (6); genotype frequencies (7); milk yield (kg) (8); milk fat (%) (9); milk protein (%) (10); milk lactose (%) (11)

Összefüggés vizsgálatot végeztünk tejhozam, a tejösszetétel, és a genotípusok között. Négy SNP – rs671391101 (GHRHR), rs640582069 (IL1RN) rs635583012 (SOCS3) és rs635969404 (IL15RA) – szignifikáns hatással van a tejtermelésre, tejfehérje, zsír és laktóz tartalomra, az alpesi fajta esetén (17. táblázat). Ugyanakkor nem találtunk szignifikáns összefüggést a szánentáli fajta esetén. A tejhozam és tejzsír százalék egyik vizsgált fajta esetében sem mutatott szignifikáns összefüggést a genotípussal.

A két fajta együttes elemzése esetén a g.46353777T>G SNP az IL1RN génben összefüggést mutatott a tejtermeléssel; a g.62894878A>G SNP a GHRHR génen, a g.10354813C>T SNP az IL15RA génen és a g.46353777T>G SNP az IL1RN génen pedig s tejzsír százalékkal ($P < 0,05$); míg a g.46353777T>G SNP az IL1RN génen

17. táblázat

a tejhozammal és összetétellel a vizsgált fajtákban

Alpesi (2)					Összesen (3)				
Tejhozam (kg) (8)	Tejzsír (%) (9)	Tejfehérje (%) (10)	Tejcukor (%) (11)	Genotípus gyakoriság (7)	Tejhozam (kg) (8)	Tejzsír (%) (9)	Tejfehérje (%) (10)	Tejcukor (%) (11)	
1039.06±46.01 ^{aB}	3.74±0.04 ^a	3.63±0.03 ^a	4.17±0.01 ^a	0.95	938.61±31.04 ^a	3.80±0.03 ^a	3.63±0.02 ^a	4.18±0.01 ^a	
963.5±130.15 ^a	4.02±0.13 ^a	3.89±0.1 ^b	4.12±0.05 ^a	0.05	963.5±130.15 ^a	4.02±0.13 ^b	3.89±0.10 ^a	4.12±0.05 ^a	
				0					
975.15±48.47 ^a	3.8±0.05 ^a	3.66±0.04 ^a	4.23±0.04 ^a	0.40	938.73±28.83 ^a	3.79±0.04 ^{ab}	3.64±0.04 ^a	4.22±0.04 ^a	
1096.14±66.05 ^{aB}	3.67±0.07 ^a	3.62±0.05 ^a	4.25±0.06 ^a	0.38	933.44±61.16 ^a	3.75±0.05 ^a	3.61±0.04 ^a	4.22±0.04 ^a	
1150.00±123.57 ^a	3.97±0.13 ^a	3.8±0.11 ^a	4.17±0.12 ^a	0.22	987.00±52.40 ^a	3.92±0.06 ^b	3.70±0.05 ^a	4.16±0.02 ^a	
1021.08±50.44 ^a	3.73±0.05 ^a	3.65±0.04 ^{ab}	4.24±0.04 ^a	0.45	969.31±33.96 ^{ab}	3.80±0.05 ^{ab}	3.63±0.04 ^{ab}	4.23±0.03 ^a	
1005.33±58.24 ^{aB}	3.72±0.06 ^a	3.58±0.05 ^a	4.14±0.05 ^a	0.45	896.95±46.05 ^a	3.76±0.03 ^a	3.60±0.02 ^a	4.17±0.02 ^a	
1080.33±100.89 ^a	3.95±0.11 ^a	3.81±0.08 ^b	4.46±0.08 ^{bb}	0.10	1068.40±50.53 ^b	3.93±0.11 ^b	3.79±0.08 ^b	4.32±0.15 ^a	
1060.00±54.99 ^{aB}	3.81±0.06 ^a	3.66±0.04 ^a	4.19±0.04 ^a	0.60	947.89±41.80 ^a	3.81±0.04 ^a	3.62±0.03 ^a	4.18±0.01 ^a	
1068.75±91.19 ^a	3.71±0.1 ^a	3.64±0.08 ^a	4.09±0.07 ^a	0.17	968.37±64.10 ^a	3.80±0.07 ^a	3.65±0.07 ^a	4.16±0.04 ^a	
959.28±68.93 ^a	3.75±0.07 ^a	3.68±0.06 ^a	4.39±0.05 ^b	0.23	929.09±35.47 ^a	3.80±0.04 ^a	3.68±0.04 ^a	4.34±0.09 ^b	

a tejfehérje százalékkal ($P<0.05$); és a g.52626440T>G SNP a SOCS3 génen a laktóz százalékkal. Az alpesi fajtában a g.52626440T>G (rs635583012) SNP az SOCS3 génen és a g.46353777T>G (rs640582069) SNP az IL1RN génen összefüggést mutatott a laktóz százalékkal; a g.62894878A>G SNP a GHRHR génen és a g.46353777T>G SNP az IL1RN génen pedig a fehérje százalékkal ($p<0,05$).

Génmegőrzésre irányuló vizsgálatok juh fajtákban

A szekvenciák illesztése után a mtDNS kontroll régió 526 bp hosszú szakaszával dolgoztunk tovább. Huszonhárom haplotípust azonosítottunk a fajtákban. Négy haplotípust mind a két fajtában (Hap1, 2, 18 és 25) kimutattuk. Mind a haplotípus diverzitás (Hd) mind a nukleotid diverzitás (π) értékek magasak voltak (18. táblázat).

Az eredményeink összhangban vannak Peter és mtsai (2007) által korábban közölt eredményekkel, akik megállapították, hogy a délkelet-európai zackel (pramenka alcsoport) egy „genetikai forró pontot” (azaz a genetikai sokféleség magas szintjét) képvisel, és ezeket a populációkat, fajtákat a juhok genetikai variációjának értékes forrásaként kell kezelni, őrizni.

Az AMOVA vizsgálat azt mutatta, hogy a variancia 98%-a a populáción belül van, gyenge genetikai struktúrát jelezvén.

18. táblázat

Fő mtDNS CR diverzitás mutatók a gyimesi racka, curkána fajtákra és a teljes adathalmazra

Fajta (1)	Elemszám (2)	Polimorf helyek száma (3)	Haplotípusok száma (4)	Haplotípus diverzitás (5)	Nukleotid diverzitás (6)
Gyimesi racka (7)	40	23	23	0,950±0,000	0,005
Curkána (8)	32	22	23	0,807±0,003	0,005
Összesen (9)	72	42	42	0,953±0,731	0,004

Table 18. Main indices of mtDNA CR variability of Transylvanian-Gyimesi- Racka, Turcana and total dataset

breed (1); number of individuals (2); number of polymorphic sites (3); number of haplotypes (4); haplotype diversity (5); nucleotide diversity (6); Transylvanian-Gyimesi- Racka (7); Turcana (8); overall (9)

Hasonló eredményt – nagyfokú genetikai hasonlóságot - kapott Kawecka és Piorkowska (2011) két őshonos lengyel zackel típusú fajtát vizsgálva (podhale és színes hegyi). Ugyancsak a két vizsgált fajta közeli kapcsolatát mutatta az alacsony genetikai távolság érték (0,004) Kimura 2-parameter modellt használva.

A curkána 7, a gyimesi racka 2 ökotípusát külön elemzve is azt kaptuk, hogy nagyon közeli genetikai kapcsolat van a két fajta között, valójában egy határon átnyúló fajtáról beszélhetünk.

Betegséggel (CAE) szembeni ellenállóképesség biológiai hátterének fejlesztése kecske fajtákban

Vizsgálataink kezdetekor a Dr. Gabriella Ruff vezette kutatócsoport eredményeiből terveztünk kiindulni, azonban akkor még nem tudtuk, hogy ezen technológia reprodukálhatóságának alacsony szintje miatt a csoport abbahagyta a vizsgálatait. Helyette mikroszatellit vizsgálatokat indítottak, a DRBP1 lókuszon. Az MHC I osztályban levő Be1 allél együtt öröklődik az MHC II DRBP1 213 bp-nál elhelyezkedő alléllal és a svájci szánentáli állományban, ebben az esetben megjelenik a betegség egyik klinikai tünete, míg a Be7 alléllal (196bp) nem jelenik meg az arthritis (Ruff, 2003).

A vizsgálataink sorozata erre az első közös munkára épült fel, ami akkor nagyon is előre mutató volt.

A szerológiai eredmények azt mutatták, hogy a magyar kecske állomány 30%-a fertőzött CAE vírussal (CAEV).

A DRBP1 genotípus meghatározás során a különböző állományokban összesen négy allélt határoztunk meg. Ezen allélok nevei és hosszúságuk a következők: Be7 – 196-204 bp; Be1 – 208-222bp; A - 205-207 bp; B - 223<bp.

A vizsgált egyedek genotípusait az 19. táblázatban mutatjuk be.

A különböző allélok előfordulása, valamint azok gyakorisági értékei a különböző fajtákban hasonlóan alakultak (20. táblázat). A legnagyobb arányban a Be1 allél (208-222bp) fordult elő a magyar nemesített fajta kivételével, melyben a B allél (223<bp) találtuk a legmagasabbnak. Majd ezt követően a Be7 (196-204bp), A (205-207bp) és B allélokot találtuk a legnagyobb gyakoriságúnak. A magyar

19. táblázat

Genotípusok a vizsgált kecske fajtákban

Fajta (1) Genotípus (2)	Be7/Be7	Be7/Be1	Be7/A	Be7/B	Be1/Be1	Be1/B	AA	A/Be1	AB	BB
magyar tejelő barna (3)	12	13	1	5	25	8	2	5	1	12
magyar tejelő tarka (4)	1	7	1	4	21	10	4	0	0	3
magyar tejelő fehér (5)	13	20	0	7	74	15	3	5	0	6
szánentáli (6)	15	33	1	13	93	29	2	2	1	7
keresztezett (7)	2	7	1	3	14	6	0	1	0	1
parlagi (8)	0	0	0	0	2	2	0	0	0	1
magyar nemesített (9)	7	2	0	9	8	6	0	0	1	13

Table 19. Number of genotypes in the studied goat breeds

breed (1); genotype (2); Hungarian Milking Brown (3); Hungarian Milking Multicolour (4); Hungarian Milking White (5); Saanen (6); SaanenX Alpine crossbred (7); Hungarian Native (8); Hungarian improved (9)

nemesített fajtában a B allélt a Be7, Be1 és A allél követi. Figyelemre méltó, hogy a Be7 és A allélok a parlagi fajtában nem voltak jelen, bár ezen fajta vizsgált egyedszáma nagyon alacsony volt (5 egyed).

20. táblázat

Allélgyakorisági értékek a vizsgált kecske fajtákban

Fajta (1) Allél (2)	Be7	Be1	A	B
magyar tejelő barna (3)	0,26	0,45	0,06	0,23
magyar tejelő tarka (4)	0,13	0,58	0,09	0,2
magyar tejelő fehér (5)	0,18	0,66	0,04	0,12
szánentáli (6)	0,2	0,64	0,02	0,14
keresztezett (7)	0,21	0,6	0,03	0,16
parlagi (8)		0,6		0,4
magyar nemesített (9)	0,27	0,26	0,01	0,46

Table 20. Frequency of alleles in the studied goat breeds

breed (1); allele (2); Hungarian Milking Brown (3); Hungarian Milking Multicolour (4); Hungarian Milking White (5); Saanen (6); SaanenX Alpine crossbred (7); Hungarian Native (8); Hungarian improved (9)

A 21. táblázatban a vizsgált egyedek szerológiai eredményei a genotípusokon belül láthatóak.

A parlagi fajtába tartozó 5 egyednek nem álltak a rendelkezésünkre a szerológiai eredményei. Ez alapján egyik fajta esetében sincs szignifikáns összefüggés a szerológiai eredmény és a DRBP1 genotípus között. Tehát a DRBP1 mikroszatellit genotípus nem befolyásolja a szerológiai eredményt.

21. táblázat

Szerológiai vizsgálatok eredménye a genotípusok és a fajták között

Fajta (1) Genotípus (2)		magyar tejelő barna (3)	magyar tejelő tarka (4)	magyar tejelő fehér (5)	szánen- táli (6)	keresz- tezett (7)	magyar nemesített (8)
Be7/Be7	szeropozitív	5	1	2	14	2	1
	szeronegatív	7	0	11	1	0	6
Be7/Be1	szeropozitív	8	7	4	30	6	0
	szeronegatív	5	0	16	3	1	2
Be7/A	szeropozitív	0	1	0	1	1	0
	szeronegatív	1	0	0	0	0	0
Be7/B	szeropozitív	5	2	2	13	3	1
	szeronegatív	0	2	5	0	0	8
Be1/Be1	szeropozitív	10	17	22	86	13	0
	szeronegatív	15	4	52	7	1	8
Be1/B	szeropozitív	7	0	5	28	6	1
	szeronegatív	1	10	10	1	0	5
AA	szeropozitív	2	2	1	2	0	0
	szeronegatív	0	2	2	0	0	0
A/Be1	szeropozitív	3	0	2	2	0	0
	szeronegatív	2	0	3	0	1	0
AB	szeropozitív	0	0	0	1	0	0
	szeronegatív	1	0	0	0	0	1
BB	szeropozitív	7	3	1	6	1	1
	szeronegatív	5	0	5	1	0	12

Table 21. Serological results in the genotypes and goat breeds

breed (1); genotype (2); Hungarian Milking Brown (3); Hungarian Milking Multicolour (4); Hungarian Milking White (5); Saanen (6); SaanenX Alpine crossbred (7); Hungarian improved (8)

A fenotípus és a DRBP1 genotípusok közötti összefüggés kimutatását gátolta az a tény, hogy Magyarországon a mintavételi időszakban és állományokban nem találtak egyetlen olyan kecskét sem, ami a CAE bármely klinikai tünetét (izületi gyulladás, agyvelőgyulladás, tüdőgyulladás, kemény tőgy) is mutatta volna. Ezért Dr. Jaroslaw Kaba segítségével Lengyelországból kaptunk CAE tüneteket mutató és nem mutató szeropozitív kecskéktől vérmintákat. Összesen 27 db arthritist nem mutató szeropozitív, és 31 db arthritises kecskét vizsgáltunk meg. A kapott allélgyakorisági értékeket az 22. táblázatban mutatjuk be.

Amint az a táblázatból is látszik, eredményeinkkel nem szignifikánsan támasztottuk alá a svájci szánen-táli fajtában kapott eredményt, miszerint a Be1 allél jelenléte és az arthritis megjelenése között összefüggés lenne.

22. táblázat

DRBP1 allélgyakoriságok arthritis tüneteket mutató és nem mutató szeropozitív lengyel mintákban

tünet (1) allél (2)	Be7	Be1	A	B
arthritis	0,49	0,27	0,16	0,08
nincs arthritis	0,28	0,33	0,19	0,2

Table 22. DRBP1 allele frequency values in seropositive Polish goat with and without arthritis symptoms

symptoms (1); allele (2)

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az előzőekben ismertetett eredményeink jelenthetik a jövő hazai kiskérődző genomikai vizsgálatainak előzményeit, amely vizsgálatok korszerű genomikai módszerekkel történő ismértelése és folytatása is indokolt.

Ezek azok a kutatási területek, amelyekre már ma is piaci igény mutatkozik, azonban ez koránt sem teljes, valamint a közeljövő kihívásai is a küszöbön vannak, melyek esetében már most meg kell kezdeni a kutatási tevékenységet, hogy a problémák megjelenésekor reagálni tudjunk azokra.

Ezen új kihívások egyik legjelentősebb csoportját a klímaváltozás gyűjtőfogalom alatt szoktuk összefoglalni. Az átalakuló klimatikus viszonyok összetett változásokat indukálnak az ellenállóképességgel és az alkalmazkodóképességgel összefüggésben, az állati genomban. Ez kihatással van a populációk genetikai szerkezetére, valamint az egyedek termelékenységre, állatjóléti állapotára, parazita- és betegség rezisztenciájára, a termékminőségre, a termelés gazdaságosságára. Mindezeket keresztül pedig a piaci és gazdasági környezetig kigyűrűzik a hatásuk.

Másik oldalról pedig folyamatosan változnak a fogyasztói igények is, melyre reagálni kell. Például a tejfehérje allergia kutatása izgalmas és eredményekkel szolgáló kutatási terület a szarvasmarha fajban, a kiskérődzők esetében ugyanakkor még lemaradás tapasztalható. Azonban akár funkcionális élelmiszerek, speciális termékek fejlesztésére is szükség lehet a hazai ágazat megerősítése érdekében. A korszerű genomikai módszerek lehetővé teszik a felsorolt kihívásokkal összefüggésben a genetikai alapok vizsgálatát és fejlesztését. Ezt felismerve, partnerként jelenleg is érintettek vagyunk hazai gazdálkodók genotípus fejlesztéseiben, melyben a piaci igények alapján megfogalmazott követelményekre és biotechnológiai módszerekből származó eredményekre alapozva, genomikai módszerek alkalmazásával jelöljük ki a tenyészállatokat és alakítjuk ki a párosítási terveket.

A magyarországi kiskérődző, azon belül is a juhtenyésztési ágazatról összességében megállapítható, hogy az teljes vertikumban fejlesztésre szorul. Amennyiben a termelési mutatók javulása nem következik be, ha a takarmányozási és a tartástechnológiai módszerek nem követik a világ tendenciáit a juhtenyésztésnek nincs perspektívája Magyarországon.

Az eszközök, a módszerek, amelyek a javítást szolgálják sokfélék és alkalmazkodnak a feladatok sokszínűségéhez. A tenyész kiválasztásban alkalmazható korszerű módszerek és eszközrendszerek rendelkezésre állnak mind a populáció-, mind a

molekuláris genetikai területén. Felhasználásuk korábban nem látott mértékű és sebességű fejlődést tesz lehetővé, és ezt a hazai kiskérődző ágazat sem hagyhatja figyelmen kívül.

Ha csak a jelen tanulmányban bemutatott eredmények gyakorlati hasznosításra kerülnének, akkor meggyőződésünk szerint a magyar juh- és kecske tenyésztés közelebb lenne a nemzetközi szintekhez a versenyképesség és hatékonyság vonatkozásában. A Debreceni Egyetem juhtenyésztéssel foglalkozó kutatói által elért eredmények (szaporodásbiológiai, fajtaösszehasonlítási, genetikai, takarmányozási, alapozó- és alkalmazott kútatási eredmények) gyakorlatba ültetése a jövőben felgyorsíthatja a magyar juhágazat felzárkózását is az európai színvonalhoz. Ahogy a bevezetőben is említettük már, a kor megköveteli a mulidisziplináris és gyakorlatorientált megközelítést. Ezért a debreceni kutatói eredmények ökonómiai érvekkel alátámasztottak, ezáltal megkönnyítve a gazdálkodók számára az új, molekuláris genetikai vagy genomikai technológiák alkalmazásával kapcsolatos döntések meghozatalát. Csak ez adhatja meg a kellő magabiztosságot a gazdálkodók számára a tenyészkiválasztásban új szempontok alkalmazására, a különböző értéknövelő gének gyorsabb elterjedésének elősegítésére, a jobb vágóállat és húsminőség, a kedvezőbb zsírsav összetétel, a tejtermelés növekedésének elérésére, és az aszezonális kihívásainak kezelésére. Ezek azok a legfontosabb területek, ahol már eredményekkel rendelkezünk, és megoldásokat kínálunk. Az ágazat fenntarthatóságát vizsgálva pedig egyértelmű, hogy nincs más út, mint a tudás alapú, intenzív és precíziós alapokon nyugvó tenyészetek kialakítása és működtetése. A már meglévő tudományos eredményeket be kell építeni a gyakorlatba, és új kutatások által tovább kell lépni az innováció útján, mert a versenytársaik jó része már megette ugyanezt.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A közleményben bemutatott kutatások sok éves munka eredményei, több ország kutatóintézetében, egyetemén dolgozó kollegák segítségével jött létre, akik mind az anyagi források előteremtésében, mintagyűjtésben, illetve a laboratóriumi vizsgálatok kivitelezésében segítségünkre voltak. Azonban külön kiemelve szeretnénk köszönetet mondani Dr. Veress Gyulának, Dr. Dinu Gavojdiannak, Dr. Daniela Elena Ilienek, Dr. Eva Pasic-Juhasnak, Dr. Gabriella Ruffnak és Dr. Bagi Zoltánnak.

A kutatásokat a Spanish – Hungarian Grant E21/2001 (Bősze Zs.); „*A hazai kecskeállomány CAE érintettségének meghatározása, valamint géntechnológiára (DNS vizsgálatok) alapozott betegség mentesítési- és megelőzési rendszerének kidolgozása*”-Bio-0107/2001 (OMFB-00235/2002) (Kukovics S.); „*Élelmiszerek és sportélelmiszerek újszerű nyomkövetési rendszerei, eredetvédelme és a biztonságosságuk garantálása analitikai, sport- és táplálkozás-élettani vizsgálatok révén*” 5. ALPROJEKT: Csökkentett allergénhatású, tej alapú új funkcionális élelmiszerek kifejlesztésének megalapozása, illetve az élelmiszerbiztonsági adatbázis bővítése új módszerekkel végrehajtott genomvizsgálatokkal, és fehérjeanalízissel; TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0008 (Kukovics S.), „*Possible way of conservation the multipurpose Tsigai and other indigenous sheep breeds in Central, Eastern European and Balkan countries*” FAO European Regional Focal Point for Animal

Genetic Resources (ERFP) in AGR; Roma, Italy, 2004-2006 (Kukovics S.); a Román Nemzeti Tudományos Kutatási és Innovációs Hivatal, CNCS – UEFISCDI, pályázati azonosító PN-II-RU-TE-2014-4-0023 és az EFOP-3.6.2-16-2017-00001 számú (Kusza Sz.), „Komplex vidékgazdasági és fenntarthatósági fejlesztések kutatása, szolgáltatási hálózatának kidolgozása a Kárpát-medencében” (Jávor A.) című projekt támogatta.

IRODALOMJEGYZÉK

- Aliiev, G. A. – Koloteva, R. S. (1975): Geneticheskoe raznoobrazie beta-laktoglobulina V moloche ovets. Anim. Breed. Abstr., 43. 400.
- Amigo, L. – Recio, I. – Ramos, M. (2000): Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk – a review. Int. Dairy J., 10. 135–149.
- Angulo, C. – Diaz-Carillo, E. – Munoz, A. – Alonso, A. – Jimenez, I. – Serradilla, J. M. (1994): Effect of electrophoretic goat's κ -casein polymorphism on milk yield and main components yield. V. World. Congr. on Genetic. Applied. to Livestock Production, Guelph, 19. 333-336.
- Anton, I. – Zsolnai, A. – Fésüs, L. – Kukovics, S. – Molnár, A. (1999): Survey of β -lactoglobulin and α s1-casein polymorphism in Hungarian dairy sheep breeds and crosses at DNA level. Arch. Tierzucht., 42. 387–392.
- Balthazar, C. F. – Pimentel, T. C. – Ferrao, L. L. – Almada, C. N. – Santillo, A. – Albenzio, M. – Mollakhalili, N. – Mortazavian, A. M. – Nascimento, J. S. – Silva, M. C. – Freitas, M. Q. – Sant'Ana, A. S. – Granato, D. – Cruz, A. G. (2017): Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. Comp. Rev. Food Sci. Food Saf., 16. 247–262.
- Bandelt, H. J. – Forster, P. – Röhl, A. (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol., 16. 37–48.
- Bolla, P. – Caroli, A. – Mezzelani, A. – Rizzi, R. – Pragnacco, G. – Fraghi, A. – Casu, S. (1989): Milk protein markers and production in sheep. Anim. Genet., 20. 78–79.
- Bószte, Z. – Hiripi, L. – Virág, G. – Toth, S. – Makovic, S. – Fontaine, M. L. – Devinoy, E. (2000): Polymorphism of the rabbit kappa casein gene and its influence on performance traits. Pflügers Arch., 439. 3. R2–3.
- Bozkaya, F. – Gürlük, Ş. – Yertürk, M. (2013): Genetic variability of CSN1S1 gene in goat populations raised in Southeastern Region of Turkey. Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg., 19. 147-152.
- Caroli, A. – Chiatti, F. – Chessa, S. – Rigagnese, D. – Bolla, P. – Pagnacco, G. (2006): Focusing on the goat casein gene complex. J. Dairy Sci., 89. 3178–3187.
- Cerioti, G. – Chessa, S. – Bolla, P. – Budelli, E. – Bianchi, L. – Duranti, E. – Caroli, A. (2004): Single nucleotide polymorphisms in the ovine casein genes detected by polymerase chain reaction – Single strand conformation polymorphism. J. Dairy Sci., 87. 2606–2613.
- Chessa, S. – Budelli, E. – Chiatti, F. – Cito, A. M. – Bolla, P. – Caroli, A. (2005): Predominance of β -casein (CSN2) C allele in goat breeds reared in Italy. J. Dairy Sci., 88. 1878–1881.
- Chessa, S. – Rignanese, D. – Berbenni, M. – Cerioti, G. – Martin, M. – Pagnacco, G. – Caroli, A. (2010): New genetic polymorphisms within ovine β - and α s2-caseins. Small Rumin. Res., 88. 84–88.
- Cosenza, G. – Pappalardo, M. – Pastore, N. – Rando, A. – Di Gregorio, P. – Masina, P. – Ramunno, L. (2001): An AS-PCR method for identification of carriers of the goat CSN1S10 allele. Proceedings of the A.S.P.A. XIV. Congress, Firenze, 64–66.
- Cubrik-Curik, V. – Feligini, M. – Lukac-Havranek, J. – Curik, I. – Enne, G. (2002): Genetic polymorphism of beta-lactoglobulin in native sheep from the island of Pag. Food Technol. Biotechnol., 40. 75–78.
- Dettori, M. L. – Vacca, G. M. – Carcangiu, V. – Pazzola, M. – Mura, M. C. – Rocchigiani, A. M. (2009): Short communication A reliable method for characterization of the goat CSN1S1 E allele. Livest. Sci., 125. 105–108.

- Dolf, G. – Ruff, G. (1994): A DNA fingerprinting band associated with the susceptibility to CAE virus-induced arthritis in goats. *Br. Vet. J.*, 150. 349–353.
- Eftekhari Shahroudi, F. – Nassiry, M. – Valizadh, R. – Heravi Moussavi, A. – Tahmoores Pour, M. – Ghiasi, H. (2006): Genetic polymorphism at MTNR1A, CAST and CAPN loci in Iranian Karakul sheep. *Iran. J. Biotechnol.*, 4. 117–122.
- El Hanafy, A. A. M. – Qureshi, M. I. – Sabir, J. – Mutawakil, M. – Ahmed, M. M. M. – El Ashmaoui, H. – Ramadan, H. A. M. I. – Abou-Alsoud, M. – Sadek, M. A. (2015): Nucleotide sequencing and DNA polymorphism studies of beta-lacto-globulin gene in native Saudi goat breeds in relation to milk yield. *Czech J. Anim. Sci.*, 60. 132–138.
- Elmaci, C. – Oner, Y. – Balcioglu, S. (2006): Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene in Native Turkish sheep breeds. *Biochem. Genet.*, 44. 379–384.
- Elyasi, G. – Shodja, J. – Nassiry, M. R. – Tahmasebi, A. – Pirahary, O. – Javanmard, A. (2010): Polymorphism of β -lactoglobulin gene in Iranian sheep breeds using PCR-RFLP. *J. Mol. Gen.*, 2. 6–9.
- Erhardt, G. (1989): Evidence for a third allele at the β -lactoglobulin (β -Lg) locus of sheep milk and its occurrence in different breeds. *Anim. Genet.*, 20. 197–204.
- Excoffier, L. – Laval, G. – Schneider, S. (2005): Arlequin ver 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online.*, 1. 47–50.
- FAO/IAEA (2004): Agriculture biotechnology laboratory, Handbook of laboratory exercises. IAEA Laboratories. Seibersdorf. Austria. 18.
- Feligini, M. – Parma, P. – Aleandri, R. – Greppi, G. F. – Enne, G. (1998): PCR-RFLP test for direct determination of β -lactoglobulin genotype in sheep. *Anim. Genet.*, 29. 460–477.
- Georgescu, S. E. – Ene, A. – Dudu, A. – Ghita, E. – Costache, M. (2016): Genetic polymorphisms of β -lactoglobulin and α s1-casein genes in Romanian Racka Sheep. *Sci. Papers Anim. Sci. Biotechnol.*, 49. 50–53.
- Giambra, I. J. – Chianese, L. – Ferranti, P. – Erhardt, G. (2010): Short communication: Molecular genetic characterization of ovine α S1-casein allele H caused by alternative splicing. *J. Dairy Sci.*, 93. 792–795.
- Hristova, D. (2011): Genetic polymorphism of α S1 – casein gene in Bulgarian sheep breeds. *J. Agric. Sci. Technol.*, 3. 8–12.
- Ivankovic, A. – Dovc, P. (2004): Polymorphisms of β -lactoglobulin and α s1-casein genes in the Pag Island sheep. *Acta Agric. Slov.*, 84. 121–130.
- Kawecka, A. – Piorkowska, K. (2011): Characteristics of the genetic structure of native sheep breeds. *Ann. Anim. Sci.*, 11. 371–382.
- Kerekes, A. – Baranyi, M. – Nagy, S. – Kovács, P. – Bősze, Zs. (2008): β -lactoglobulin genetic polymorphisms in Hungarian Awassi and Racka sheep. *Anim. Welfare Ethol. Housing Syst.*, 4. 437–444.
- King, J. W. B. (1969): The distribution of sheep β -lactoglobulins. *Anim. Sci.*, 11. 53–57.
- Kukovics, S. – Molnár, A. – Ábrahám, M. – Dani, Z. – Kusza, Sz. – Fülöp, Gy. (2003a): The presence of CAE in the Hungarian goat breeds. *Proc. EU konform mezőgazdaság és élelmiszerbiztonság. Gödöllő*, 219–228.
- Kukovics, S. – Molnár, A. – Ábrahám, M. – Dani, Z. – Kusza, Sz. – Fülöp, Gy. (2003b): Presence of CAEV Infection in Hungarian Goat Industry as an Effect of Livestock Import. 54th Annual Meeting of EAAP, Rome. 320.
- Kukovics, S. – Molnár, A. – Ábrahám, M. – Dani, Z. – Kusza, Sz. – Fülöp, Gy. (2003c): Presence of CAEV infection in the Hungarian goat industry as an effect of livestock import. In: *Buletinul, Universitatii de Stiinte Agricole Si Medicina Veterinara, Seria Zootehnie si Biotehnologii*, 1454-2382. 42–48.
- Kumar, P. – Choudhary, V. – Kumar, K. G. – Bhattacharya, T. K. – Bhushan, B. – Sharma, A. – Mishra, A. (2006): Nucleotide sequencing and DNA polymorphism studies on IGFBP-3 gene in sheep and its comparison with cattle and buffalo. *Small Rumin. Res.*, 64. 285–292.

- Lan, X. Y. – Pan, C. Y. – Chen, H. – Zhang, C. L. – Zhang, A. L. – Zhang, L. – Li, J. Y. – Lei, C. Z. (2007): An MspI PCR-RFLP detecting a single nucleotide polymorphism at alpha-lactalbumin gene in goat. *Czech J. Anim. Sci.*, 52. 138–142.
- Landoulsi, Z. – Benromdhan, S. – Ben Djebara, M. – Damak, M. – Dallali, H. – Kefi, R. – Abdelhak, S. – Gargouri-Berrechid, A. – Mhiri, C. – Gouider, R. (2017): Using KASP technique to screen LRRK2 G2019S mutation in a large Tunisian cohort. *BMC Med. Genet.*, 18.70.
- Lopez-Galvez, G. – Amigo, L. – Ramos, M. (1994): Genetic polymorphism of whey proteins in two ovine breeds. *Milchwissenschaft*, 49. 123–125.
- Macha, J. – Novackova, I. (1974): Geneticky polymorfismus beta-laktoglobulinu V mlece ovci. *Zivocisma Vyroba.*, 19. 883–888.
- Meie, M. – Conte, G. – Serra, A. – Buccioni, A. – Secchiari, P. (2006): Relationships between beta-lactoglobulin polymorphism and milk fatty acid composition in milk of Massese dairy ewes. *Small Rum. Res.*, 73. 37–44.
- Mohammadi, A. – Nassiry, M. R. – Elyasi, G. – Shodja, J. (2006): Genetic polymorphism of β -lactoglobulin in certain Iranian and Russian sheep breeds. *Iran. J. Biotechnol.*, 4. 265–268.
- Moioli, B. – Pilla, F. – Tripaldi, C. (1998): Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats: a review. *Small Rumin. Res.*, 27. 185–195.
- Niemi, M. – Blauer, A. – Iso-Touru, T. – Nystrom, V. – Harjula, J. – Taavitsainen, J. P. – Stora, J. – Liden, K. – Kantanen, J. (2013): Mitochondrial DNA and Y-chromosomal diversity in ancient populations of domestic sheep (*Ovis aries*) in Finland: comparison with contemporary sheep breeds. *Genet. Sel. Evol.*, 45. 2.
- Othman, O. E. – El-Fiky, S. A. – Hassan, N. A. – Mahfouz, E. R. – Balabel, E. A. (2013): Genetic polymorphism detection of two α -Casein genes in three Egyptian sheep breeds. *J. Genet. Engin. Biotech.*, 11. 129–134.
- Palhiere, I. – Larroque, H. – Clement, V. – Tosser-Klopp, G. – Rupp, R. (2014): Genetic parameters and QTL detection for milking speed in dairy Alpine and Saanen goats. *Proc. 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver*, 892–892.
- Pena, R. N. – Sanchez, A. – Folch, J. M. (2000): Characterization of genetic polymorphism in the goat beta-lactoglobulin gene. *J. Dairy Res.*, 67. 217–224.
- Peter, C. – Bruford, M. – Perez, T. – Dalamitra, S. – Hewitt, G. – Erhardt, G. – ECONOGENE Consortium. (2007): Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle- Eastern sheep breeds. *Anim. Genet.*, 38. 37–44.
- Rampilli, M. – Cecchi, F. – Giuliotti, L. – Cattaneo, G. M. (1997): The influence of B-Ig genetic polymorphism on protein distribution and coagulation properties in milk of Massese breed ewes. *Proc. IDF Seminar "Milk protein polymorphism"*, Brussels, 311–315.
- Ramunno, L. G. – Cosenza, G. A – Rando, A. N. P. P. – Macciott, N. P. P. – Pappalardo, M. – Masina, P. (1997): Identification of carriers of the Welsh CASA1 variant using an allele-specific PCR method. *Anim. Genetics.*, 28. 150–158.
- Ramunno, L. – Cosenza, G. – Pappalardo, M. – Pastore, N. – Gallo, D. – Di Gregorio, P. – Masina, P. (2000): Identification of the goat CSN1S1F allele by means of PCR-RFLP method. *Anim. Genet.*, 31. 333–346.
- Ramunno, L. – Cosenza, G. – Pappalardo, M. – Longobardi, E. – Gallo, D. – Pastore, N. – Di Gregorio, P. – Rando, A. (2001): Characterization of two new alleles at the goat CSN1S2 locus. *Anim. Genet.*, 32. 264–268.
- Recio, I. – Fernandez-Fournier, A. – Martin-Alvarez, P. J. – Ramos, M. (1997): β -lactoglobulin polymorphism in ovine breeds: influence on cheese-making properties and milk composition. *Lait*, 77. 259–265.
- Rozas, J. – Sanchez-DelBarrio, J. C. – Messeguer, X. – Rozas, R. (2003): DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19. 2496–2497.
- Ruff, G. (2003): szóbeli közlés.

- Semagn, K. – Babu, R. – Hearne, S. – Olsen, M. (2014): Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breed.*, 33. 1–14.
- Sztankóová, Z. – Kyselova, J. – Kott, T. – Kottova, E. (2008): Technical note: detection of the C allele of β -casein (CSN2) in Czech dairy goat breeds using LightCycler analysis. *J. Dairy Sci.*, 91. 1–5.
- Sztankóová, Z. – Kyselova, J. – Rychtarova, J. – Czernekova, V. (2011): Technical note: A novel method for routine genotyping of the G allele of b-casein (CSN2) and T allele of k-casein (CSN3) in a sheep population using LightCycler. *J. Anim. Sci.*, 89. 3843–3845.
- Sztankóová, Z. – Mátlóvá, V. – Rychtarova, J. (2012): Genetic polymorphism at the milk protein genes (CSN1S1, CSN2, and CSN3) in the Czech Sumava and Wallachian sheep breeds. *Grant J.*, 1. 63–66.
- Tamura, K. – Dudley, J. – Nei, M. – Kumar, S. (2007): MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, 24. 1596–1599.
- Thomas, A. S. – Dawe, S. T. – Walker, R. A. (1989): Milk protein polymorphism in Hyfer and Border Leicester X Merino sheep. *Milchwissenschaft*, 44. 686–688.
- Tortorici, L. – Di Gerlando, R. – Mastrangelo, S. – Sardina, M. T. – Portolano, B. (2014): Genetic characterisation of CSN2 gene in Girgentana goat breed. *Ital. J. Anim. Sci.*, 13. 720–722.
- Veress, G. – Kusza, S. – Bosze, Z. S. – Kukovics, S. – Jávora, A. (2004): Polymorphism of the α s1-casein, κ -casein and β -lactoglobulin genes in the Hungarian Milk Goat. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 34. 20–23.
- Yahyaoui, M. H. – Coll, A. – Sanchez, A. – Folch, J. M. (2001): Genetic polymorphism of the caprine kappa casein gene. *J. Dairy Res.*, 68. 209–216.
- Yahyaoui, M. H. – Pena, R. N. – Sanchez, A. – Folch, J. M. (2000): Polymorphism in the goat β -lactoglobulin proximal promoter region. *J. Anim. Sci.*, 78. 1100–1101.
- Yeh, F. C. – Yong, R. (1999): POPGENE version 1.31: Microsoft-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton, AB, Canada.
- Zhou, H. – Hickford, J. G. H. – Gong, H. (2007): Polymorphism of the ovine calpastatin gene. *Mol. Cell. Probe.*, 21. 242–244.
- 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.

Érkezett: 2021. augusztus

Szerzők címe: Kusza Sz. – Jávora A.

Debreceni Egyetem, Mezőgazdasági-, Élelmiszertudományi- és Környezetgazdálkodási Kar, Agrár Genomikai és Biotechnológiai Központ

Authors' address: University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Centre for Agricultural Genomics and Biotechnology
H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1.
kusza@agr.unideb.hu

Bősze Zs.

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Hungarian University of Agriculture and Life Sciences
H-2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. u. 4.

Kukovics S.

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Hungarian University of Agriculture and Life Sciences
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.