

A hucul kancacsaládok azonosítása mtDNS markerrel

Sziszkosz Nikolett – Kusza Szilvia – Jávör András – Mihók Sándor

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,

Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet, Debrecen

sziszkosz@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt száz év alatt ezer állatfajta felmorzsolódott, mára a háziállatfajták harmada a veszélyeztetett kategóriába került. Erre a sorsra jutott a hucul ló is, melynél a fajtafenntartás mellett a genetikai diverzitásuk megőrzése is kiemelt szakmai feladat. Ennek egyik kifejezője a populációt létrehozó him- és nőivarú egyedek száma, ami azok minőségével együtt meghatározza a fajta genetikai változatosságát. Ezen túl, minél több alapítóra vezethető vissza egy állomány, annál hosszabb ideig képes a genetikai megújulásra. A törzskönyvek a kancacsaládok és a mén genealógiai vonalak vezetésével ezt képesek dokumentálni, de a molekuláris genetikai vizsgálatok, konkrétan a mitokondriális DNS elemzése teheti egyértelművé az anyai alapítók (kancacsaládok) pontos meghatározását. Így válhat még megbízhatóbbá a genetikai diverzitás-védelem, ezzel együtt a fajtafenntartás. A kutatás során a vizsgálandó szakaszba tervezett primerpárok tervezését követően kiválasztásra került a legmegfelelőbb számunkra, ami a citokróm b régióban foglal közre 1092 bp hosszú régiót. A PCR reakció sikeres optimalizálása után 170 hucul kanca szekvenciájának a meghatározása következett. A minták tíz haplotípust hoztak létre, ami jóval kevesebb, mint a méneskönyvben vezetett kancacsaládok száma. További vizsgálatok indokoltak a reprezentatívabb eredmények kialakításához, hosszú távú következtetések levonásához.

Kulcsszavak: mitokondriális DNS, citokróm b, hucul, ló

SUMMARY

Hundred animal species have disappeared during the last century. By this time, approximately one-third of domestic animals have been in the endangered category. Hucul horses are also in this category; furthermore saving the genetic diversity beside the race preservation is an important challenge as well. The number of mares and stallions is only one of the expressive elements of genetic diversity; together with their quality determine the genetic variability of this breed. Beyond that, if an exact breed can originate from more founders, it can be more renewed genetically. Stud book documents these data by registering the mare families and stallions' genealogical lineage. Molecular genetics, especially mitochondrial DNA analysis can make the precise identification of mare families possible. As a result of these molecular based methods, protection of genetic diversity, as well as breed preservation became more reliable. After the primer designing, the optimal primer pair was chosen which targets a 1092 bp length DNA sequence in the cytochrome b region. After the successful PCR optimisation, we determined 170 Hucul mares' sequences. According to our results, the samples compose ten haplotypes, which are much less, than the registered number of mare families in the stud book. Further investigations are needed to reach more representative results, and drawn the further consequences.

Keywords: mitochondrial DNA, cytochrome b, Hucul, horse

BEVEZETÉS

Az 1992-es Rio de Janeiro-i konferencia óta egyetértés van abban, hogy a háziállat-fajták megőrzése is a világ biodiverzitásának védelméhez tartozik (Bodó, 2002). Napjainkban, csak a teljesítményt előtérbe helyező állattenyésztés során, a kedvezőtlenebb elsődleges értékmérő tulajdonságokkal rendelkező fajták háttérbe szorulnak, lassan feleslegessé válnak (Mihók, 2006a). Ugyanakkor kialakultnak lehet tekinteni a háziállatok génjeinek védelmét, a genetikai környezetvédelmet, vagyis a géntartalékok fenntartásának, megőrzésének elméletét. Az alkalmazott állattenyésztési genetika világkongresszusokon rendre helyet kap a genetikai diverzitás-védelem, mint tudományos viták témája. Ez ma már hozzátartozik a fenntartható fejlődés elvéhez, és a génkészletek molekuláris módszerekkel való vizsgálata folyamatosan előtérbe kerül (Bodó, 2002; Mihók, 2011). Kitűnő példa erre Magyarországon a szürke marha és a mangalica sertés esete (Mihók, 2006a). Bizonyos polimorfizmus vizsgálatok történtek már a hucul lófajtánál is (Mihók, 2011).

A hucul ló a Kárpátokban, a Tisza, a Prut, a Csereposz, a Putila, a Brodina forrásvidékén, Bukovina, Galícia, Magyarország határterületén élő hucul nép kezén kialakult, jól jellemezhető, primitív lófajta (Mihók, 2004, 2006b). A fajta rendkívüli tulajdonságait a hegylakók értékelték nagyra, hiszen tökéletesen alkalmazkodott az úttalan hegyi körülményekhez, a zord időjáráshoz, a szegényes takarmányozáshoz. A fajta tudatos, törzskönyvi nyilvántartáson alapuló tenyésztése az 1800-as évek végétől kezdődött meg, amit megtört az első világháború. A háború során számos áthelyezés, evakuálás, széjjelosztás és visszatelepítés történt, ami új törzskönyvi nyilvántartással folytatódott. A ma ismert genealógiai vonalai és kancacsaládjai az első világháború után teremtődtek meg, kétséget hagyva a felől, hogy az első világháború előtti kancacsaládok milyen mértékben kaptak (kaphattak) szerepet a háború utáni és ma ismert kancacsaládokban. A genealógiai vonalagnál, inkább törzseknel ez nem kérdés, mert két törzse (Goral és Hroby) egyértelműen a régi lucsinai tenyészet továbbvivője, a többi (Ousor, Pietrosu, Prislop, Gurgul és Polan) az 1930-as évektől épült

fel. A lótenyésztés általános válságából, a lovassport szakágakra szorítókozó lóhasználatából, a hucul ló eredetileg is szűkre szabott tenyészkörzetéből következően a fajta ma kislétszámú, veszélyeztetett sorsú kategóriába sodródott és Románia, Lengyelország, Csehország, Szlovákia, Ausztria, Magyarország együttes tenyészkanca-létszáma alig éri el az 5000 egyedet. A felsorolt törzsek (a törzsek egyes genealógiai vonalai) tisztaságának a megőrzése, folyamatos tenyésztése a cél, de új vonalak alapítása nem indokolt (Mihók, 2004, 2006b; Rola et al., 2011). A kancacsaládoknál nem ilyen egyértelmű a helyzet, részben a már fentebb említettek miatt, részben azért, mert a mai teljes állomány két fészekből (az egykori galíciai Zabie és környéke, valamint a hucul vidék Lucina környékével) származtatható és számos fajtaalapítót sorolnak fel az Osztrák-Magyar Monarchia felbomlását követően létrejött, ma hucult tenyésztő országok. A törzskönyvek ugyan dokumentálják a kancacsaládokat és 43 kancacsaládot tartanak nyilván a már említett országokban, de feltételezhetőek átfedések az országok között, valamint a háború előtti és utáni kancacsaládok között is (Mihók, 2011). Ezt már képtelen a törzskönyv megoldani, ehhez a molekuláris genetikai vizsgálatok adta lehetőséget célszerű igénybe venni. A mitokondriális DNS vizsgálattal válhat megbízhatóvá a napjainkban egyre fontosabb genetikai diverzitás-védelem (a ritka, de annál értékesebb genotípusok szaporítása, megőrzése), ezzel együtt a génmegőrzés szabályai szerinti fajtafenntartás.

A hucul kislovak tényleges anyai alapítóinak (a fajta kancacsaládjainak) meghatározására alkalmas a mitokondriális DNS (mtDNS) vizsgálat. A mtDNS maternálisan, a genomiális DNS-től függetlenül öröklődik, osztódása nem követi a magi osztódás szabályait (Csaba, 1988). Replikációja folyamatos, osztódása a baktériális replikációhoz hasonlít, egy bizonyos méret elérése után kettéosztódik. Az egy kópiában jelenlévő génei nem vagy csak nagyon rövid intronokat tartalmaznak (csak kevesebb, mint 10%-a nem kódoló szekvencia a mitokondriális genomnak) (Csaba, 1988; Tóth és Hegyesi, 2007). A mtDNS sokkal érzékenyebb a mutációk kialakulására, mint a genomiális DNS, mivel az oxigén szabad gyökök nagyobb mennyiségben képződnek és a DNS hibajavításra sem kerül sor, a repair rendszer hiánya miatt. A sejtmagi DNS-hez viszonyított mutációs rátája megközelítőleg tízszer nagyobb, így a mitokondriális DNS-nek nagyobb az evolúciós sebessége (Ádám, 2001). A magas evolúciós ráta következtében a mtDNS-t nagyfokú polimorfizmus jellemzi. Ennek és a maternális öröklődésnek köszönhetően pedig kiválóan alkalmas az mtDNS anyai vonalak feltárására és a genom evolúciójának modellezésére (Boore, 1999). A filogeográfia a haplotípusok földrajzi előfordulásának és leszármazási kapcsolatainak összekapcsolásával alakul ki, segítségével bepillantást nyerhetünk a különböző populációk leszármazási kapcsolataiba (Pecsenye, 2006). A populációk mtDNS-ei közötti különbségek (melyek a törzsfjlődés szempontjából fontosak) évezredek alatt alakulnak ki és hűen tükrözik az adott populációk szétválásának idejét (a mutáció létrejötte előtt vagy után) (Brown, 2007). Az

utóbbi években a mtDNS citokróm b régió szekvencia-változásának vizsgálatai fontos szerepet töltek be a származás-ellenőrzések során (Farias, Orti et al., 2001). A citokróm b (*Cyt-b*) az oxidatív foszforilációban főszerepet játszó gének egyike, továbbá az általa kódolt fehérje struktúrája és funkciója is jól ismert a kutatók számára. Kitűnően alkalmazható molekuláris filogenetikai vizsgálatokban. A *Cyt-b* gén lassan és gyorsan evolválódó kodonokat is tartalmaz, konzervatívabb és variabilisabb régiókkal vagy doménokkal is rendelkezhet (Castresana, 2001). A hucul populációk mtDNS-ének vizsgálatával betekintést nyerhetünk az egyes populációk közötti kapcsolatokba és azok genetikai hátterébe. A kutatás célja a valódi alapítók számának meghatározása, átfedések kimutatása, az esetlegesen előforduló méneskönyv-vezetési hibák feltárása, figyelemfelhívás a kivételes genotípussal rendelkező egyedekre.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A minták különböző hazai ménesekből, a törzskönyvi nyilvántartás szerint különböző családoktól származtak, amelyek feldolgozására a Debreceni Egyetem MÉK Állatgenetikai Laboratóriumában került sor. A genomiális DNS izolálása szőrhagymából történt (FAO/IAEA, 2004). A primertervezés során a Primer3 programot használva a mtDNS D-loop és citokróm b régiójába terveztünk primereket, amelyet az optimális PCR reakció körülményeinek beállítása követett. A szekvenáláshoz használt primerek kiválasztása: hét primerpárból négy primerpár tervezése a D-loop régióba, további három primerpár tervezése pedig a citokróm b régióba történt a ló mtDNS-én belül (acc no: X79547). A primerek által határolt szekvenciák az 1. ábrán láthatóak. A primerek tesztelése után meghatározásra került az optimális feltapadási hőmérséklet és a PCR kondíció, amelyek a következők: 95 °C 10:00 perc, 35 ciklus 95 °C 0:30 perc, 62 °C 0:45 perc, 72 °C 0:30 perc, 72 °C 10:00 perc, 4 °C. Az amplifikációhoz szükséges reakcióelegy a következő: 1 µl izolált DNS, 1 µl dNTP (2 mM) /Fermentas/, 2 µl 5X Colorless GoTaq Flexi Buffer /Promega/, 1,5 µl MgCl₂ (25 mM) /Promega/, 0,1 µl reverse és 0,1 µl forward primer (10 pmol/µl) /SIGMA/, 0,07 µl GoTaq DNA polymerase (5 u/µl) /Promega/, 4,23 µl dH₂O. A nukleinsavak elválasztása elektroforézissel (2%-os Seakemagaróz, 1X TAE puffer, 0,5 mg/ml Gelred vagy Grsafe) történt, a termékek ellenőrzése céljából. A PCR termék tisztítását a Viogene DNA/RNA Extraction (PCR-M Clean up System) kittel végeztük, a gyártó utasításai alapján. A tisztított PCR termék koncentrációját NanoDrop készülékkel mértük meg. A minták szekvenáltatása az Eurofins MWG Operon cég segítségével valósult meg. Az eredmények bioinformatikai értékelése során a leolvasott nukleotidok helyességét a BioEdit programmal ellenőriztük, a szekvenciákat a ClustalW programmal hasonlítottuk össze, a statisztikai analízisek során a MEGA5.1, a dnap5 és a Network programcsomagokat alkalmaztuk.

1. ábra: A ló mtDNS D-loop és Cyt-b régióinak szekvenciárszletei FASTA formátumban

```

>gi|577571|emb|X79547.1| Equus caballus mitochondrial DNA sequence, D-loop regio
ATTTCCTCCCTAAACGACACCAATTTACCTCATGTGCTATGTCAGTATCAGATTATACCCGACATAAAGGATACCCACCTGACATGCAATAT
CTTATGAATGGCCTATGTACGTCGTCATFAAAATGTCTGCCCATGAATAAAGCAATGACATAAATATCATTATCTTACATAAGTACATTATA
TTATTGATCGTGCATACCCCATCCAAGTCAAAATCATTTCCAGTCAACACGCATATCACAGCCCATGTTCCACGAGCTTAATCACCAAGCCGGGG
AAATCAGCAAACCTCCCAACTAGCGTGTCCCAATCCTCGCTCCGGGCCATCCAACACGTGGGGTTTCTACAATGAAACTATACCTGGCATCTGGT
TCTTCTTCAGGGCCATTCACCACCAACCTCGCCATTTCTTCCCTTAAATAAGACATCTCGATGGACTAATGACTAATCAGCCCATGCTCACAC
ATAACTGTGATTTTCATGCATTTGGTATCTTTTATATTTGGGGATGCTATGACTCAGCTATGGCCGTCAAAAGGCCCTCGACGCAGTCAATTAATTTG
AAGCTGGACTTAAATTGACGTTATTCCTCCGCACTCAACCAACATAAGGTGTTATTCAGTCCATGGTAGCGGGACATAGGAAACCAAGTGACCT
GTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCT
GTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCT
GTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCTGTGCACCT
CCACATATGTACATTCAACACAATCTTGCACCAACCCCAAAACAAGACTAAACAATGCACAATACTTCATGAAGCTTAACCCCTCGCATGCCAAC
CATAATAACTCAACACACCTAACAAATCTTAACAGAACTTTCCCCCGCCATTAATACCAACATGCTACTTTAATCAATAAAAATTTCCATAGACAG
CGATCCCTCTAGATCTAATTTTCTAAATCTGTGCAACCTCTCTCCGCG
>gi|40806321|gb|AY15159.1| Equus caballus cytochrome B (CYTB) gene
TATTCCCAGGTGGAAATCAACACGACCAATGACATGAAAAATCATCGTGTATTTCAACTATAAGAACCAATGACAAAACATCTGGAATCTC
ACCCACTAATFAAAATCATCAATCACTCTTTATTGACCTACCAGCCCTCAAAACATTTTCATCATGATGAAACTTCGGCTCCCTCCTAGGAATCT
GCCTAATCTCCAAATCTTAAACAGGCCTATTCTAGCCATACACTACACATCAGACACGACAACTGCCTTCTCATCCGTCACACTCATCTGCCGA
GACGTTAACTCCGATGAATTTTCGCTACCTCCATGCCAACGGAGCAATCAATTTTTTATCTGCCTTTTCATTACAGTAGGACGGCGCTCTAC
TAGGCTCTTACACATTCCTAGAGACATGAAACATTGGAATCATCTCTTTTTCAGAGTTATAGCTACAAGATTCAGGGCTATGTCCTAACCATGA
GGCCAAATATCCTTTTGGAGGACCAACAGTATCAGCAACCTCCTATCAGCAATTCCTACATCGGTAACCTCGTTCGAGTGAATCTGAGGTGG
ATTTCAGTAGACAAAGCCACCTTACCCGATTTTTGCTTCCACTCATCTACCCCTTCATCAGAGCCGCTGGTGTGCTACATTTACTATT
CTTCAGAAAACAGGATCTAATAACCCCTCAGGAATCCCATCCGATATGGACAAAATCCCATTCACCCCATATTAACAATTAAGACATCTTAGG
ACTCCTCCTCTGATCTTGTCTCTACTAACTCTAGTATTATTTCTCCCGACCTCCTAGGAGACCCAGACAACACTACACCCAGCTAACCTCTCAG
CACTCCCTCATATTAACAGGAATGGTCTCTCTGTTTGGCTACGCCATCTCAGCTCCATTCCCAACAAACTAGGGCGGCTATTAGCCCTAAT
CCTCCTCATCTGATCTAGCACTCATCCCACTCCACATATCAAAAACAACGAAGCATAAATTCGGCCTCTCAGCCAATGCGTATTCTGACT
CTTAGTGGCAGACTTACTGACTCAACAATGAAATCCGCGGAGAGCCAGTGAACAACCCATACGTAATTAATTCGGCCAACCTGGCCCTCAATCCTCTACT
TCTCCATAATCTCATTTTTTATCCGATTCGCAAGCAGCTTTCGAAAACAATTTCTAAAATGAAGA

```

Megjegyzés: az aláhúzások a szekvenciával identikus primerpárokat jelölik. Munkánk további szakaszában a folyamatos aláhúzással kiemelt „E” primerpárt találtak legoptimálisabbnak.

Figure 1: The sequences of the D-loop and Cyt-b region of the horse mtDNA in FASTA form

Note: the colours nominate the identic primer pairs. The 'E' primer pairs (highlighted by continuously underline text) were found to be the most optimal for the further work.

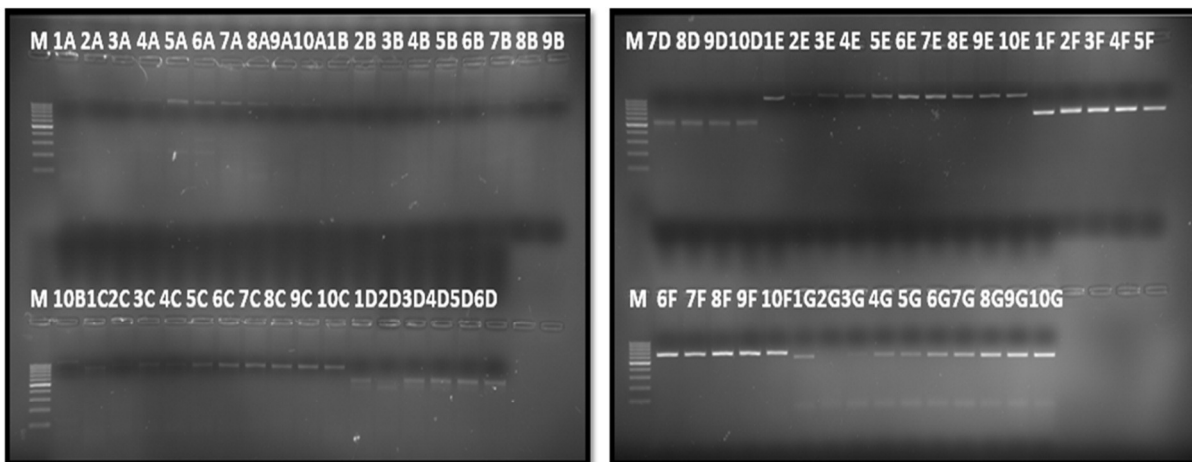
EREDMÉNYEK

A primerpárok tesztelését követően, a PCR reakció optimalizálása után, a gradiens (több hőmérsékleten hibridizáló) PCR eredményeként az „E” primerpárt találtuk a legmegfelelőbbnek. Az „E” és az „F” primerpárok esetében kaptuk a legkevesebb mellékterméket, és mivel az „E” primerpár hosszabb szakaszt fed le (1092 bázispár hosszú terméket fog közre a mtDNS citokrom b régióján belül), mint az „F” primerpár, így a későbbiekben az „E” primerpár került alkalmazásra (2–3. ábra).

A vizsgálat során 170 hucul minta mtDNS-ének citokrom b régió bázisainak a meghatározása történt, de a szekvenálás során az 1092 bp-ból 730 bp bizonyult értékelhetőnek. A statisztikai értékelés során en-

nek a 730 bp-nak az analizését végeztük el. A MEGA5.1 programcsomag segítségével a mintákat egymáshoz illesztettük. A molekuláris törzsfá készítésénél az UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) távolság alapú, klaszter módszert alkalmaztuk, Kimura-2 algoritmussal, így az összes nukleotid gyakoriságát egyformának tekintettük. A DnaSp program segítségével vizsgáltuk a hucul lovak különböző diverzitás értékeit, nevezetesen a haplotípust, illetve a variábilis pozíciók számát, a nukleotid gyakoriságot, valamint az In/Del pozíciókat. A haplotípusok vizsgálata eredményeképpen az egy haplotípusba tartozó kancákat egy kancacsaldnak tekintettük. A vizsgált összes mintában 10 haplotípust különítettünk el, ami megegyezik a MEGA5.1 programcsomag segítségével kapott eredményekkel.

2. ábra: A primerpárok tesztelése gradiens PCR készülékkel

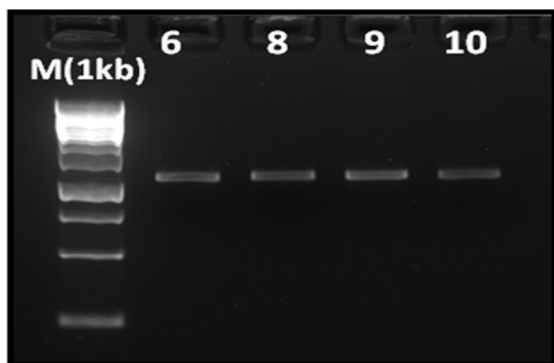


Megjegyzés: a gradiens PCR segítségével a hét primerpárt tíz hibridizációs hőmérsékletet alkalmazva vizsgáltuk meg.

Figure 2: Testing the primer pairs by gradiend PCR

Note: analyzing seven primer pairs at ten different temperatures.

3. ábra: A PCR reakció utáni tisztítás sikerességének ellenőrzése gélelektroforézis segítségével



Megjegyzés: a képen négy mintának a tisztítás után kapott termékei láthatók egy kb-os létrát alkalmazva (M).

Figure 3: Verification of the purification after the PCR was performed by gel electrophoresis

Note: this figure shows the product of 4 samples after the purification, (M) means an 1 kb length DNA ladder.

A minták szekvenciáiban inszerciót és deléciót nem találtunk. A Network programcsomaggal készített háló eredményei alapján ugyanazok a jellemzők állapíthatók meg, a 10 haplotípus jól elkülönül egymástól. Az első haplotípusba egyaránt kerültek minták a törzskönyvvezetés szerinti 4Kitca, az 5Plosca, az Aspiráns, a 882Gelnica, a 17Aglaiia és a 2Lucinia kancacsaládokból. A második haplotípusba 11 mintából hét a 86Deremoxa kancacsaládba tartozott. A harmadik haplotípust egyetlenegy minta képezte, míg a negyedik haplotípus esetén nyolc mintából hét az 1Panca családba tartozott. A következő haplotípusban nagyrészt a 882Gelnica kancacsaládból kerültek ki az egyedek, a hatodik haplotípusban a 4Kitca és Wrona kancacsaládba soroltak lelhetőek fel. A hetedik, nyolcadik és kilencedik haplotípus esetén az Árvácska, az Aspiráns és a 12Sarata kancacsaládok különültek el. A hetedik haplotípusba a 48 mintából három kivételével az Árvácska kancacsalád egyedei kerültek, a nyolcadik haplotípus esetében 40 mintából 11 mutatott a méneskönyvi adatokkal összevetve eltérést, a többi egyed a méneskönyv szerint is az Aspiráns elnevezésű kancacsaládba tartozik. Ez utóbbiak nehezen értelmezhetők a törzskönyvvezetés szülő: ivadék logikájából felépített rendszerével. Az utolsó haplotípusba 26 minta került, ebből négyenél szerepel a méneskönyvben másik kancacsalád, mint ami a haplotípusra jellemző, azaz a 12Sarata kancacsalád.

KÖVETKEZTETÉSEK

A hucul fajta a tenyészkancák számát figyelembe véve, a génmegőrzés/génvédelem osztályozási szabályai alapján, a veszélyeztetett csoportba sorolandó. Az aktív és pontos tenyésztői munka eredményeképpen máig fenntarthatónak bizonyult, de a fajta genetikai sokszínűségének megmaradásához, a génmegőrzés szabályai szerinti tudatos tenyésztéshez okvetlenül

szükséges a kancacsaládok pontos ismerete. A méneskönyv-vezetés az idők során sok változáson ment keresztül, ami felveti a pontosítások szükségességét. A fajta fenntartása a genetikai diverzitás maximális őrzése mellett ugyan nemzeti keretek között, de nemzetközi integrációban történik. Ennek során mindegyik ország (közte Magyarország is) a lehető legtöbb kancacsalád (minél több alapítóira visszavezethető egyed) fenntartására törekszik, lényegében importok útján, ami a kancacsaládok átfedését is felveti (Mihók, 2011).

Jelen kutatás a hucul kancák kancacsaládokba sorolhatóságát kívánta meghatározni molekuláris genetikai marker alkalmazásával. A mitokondriális DNS anyai ágon öröklődik és a hibajavító rendszer hiánya következtében nagyobb a mutációs rátája, mint a genomiális DNS-nek. A primertervezés után gradiens (több hőfokon elvégzett) PCR reakció segítségével kiválasztottuk a legmegfelelőbb primerpárt az általunk tervezett hét primer közül. Ez a primerpár 1092 bázispár hosszú terméket fog közre a mtDNS citokróm b régióján belül, amiből a szekvenáltatást követően 730 bázispárnyi szakasz bizonyult vizsgálhatónak. A mitokondriális DNS vizsgálat eredményeképpen tíz haplotípusba különült el a 170 hucul minta. A méneskönyvben viszont több kancacsaládot tartanak nyilván, mint amennyi haplotípust sikerült kimutatnunk. Feltűnő a haplotípusok és a törzskönyvszerinti kancacsaládok diszharmóniája is. Az eltéréseket némely kancacsalád közös eredete, akár törzskönyv-vezetési hibák is okozhatják.

Megbízhatóbb eredményekhez egy másik variabilis szakasz vizsgálata látszik indokoltnak, amivel a kétes esetek tisztázhatókká válhatnak, illetve összehasonlítható lesz a két szakasz vizsgálatként kapott haplotípus. A valós nőivarú alapító számhoz közelebb vihet bennünket egy másik marker alkalmazása is.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

17/2012. (II. 29.) VM rendelet az Európai Mezőgazdasági Vidékfejlesztési Alapból a genetikai erőforrások megőrzése intézkedés keretében a védett őshonos és veszélyeztetett mezőgazdasági állatfajták megőrzéséhez nyújtandó támogatásokból, a Póni- és Kislőtenyésztők Országos Egyesülete előfinanszírozásával megvalósított kutatás.



IRODALOM

- Ádám V. (2001): Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó. Budapest.
- Bodó I. (2002): A fajta és a típus szerepe a genetikai sokféleség fenntartásában. [In: Jávor A.–Mihók S. Génmegőrzés – Kutatási eredmények régi háziállatfajták értékeiről.] Lícium-Art Könyvkiadó- és Kereskedelmi Kft. Debrecen. 69–76.
- Boore, J. L. (1999): Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*. 27: 1767-1780.
- Brown, T. A. (2007): *Molecular Phylogenetics. Genomes 3*. T. A. Brown. Garland Science Publishing. New York – London. 3: 595–617.
- Castresana, J. (2001): Cytochrome b Phylogeny and the Taxonomy of Great Apes and Mammals. *Molecular Biology and Evolution*. 18: 465–471.
- Csaba G. (1988): Sejtbiológia. [In: Csaba G. Orvosi biológia.] Medicina. Budapest. 3: 83–207.
- FAO/IAEA (2004): Agriculture Biotechnology Laboratory, Handbook of Laboratory Exercises. IAEA Laboratories. Seibersdorf. Austria.
- Farias, I. P.–Orti, G.–Sampaio, I.–Schneider, H.–Meyer, A. (2001): The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *J. Mol. Evol.* 53: 89–103.
- Mihók S. (2004): A hucul ló. A Póni- és Kislótenyésztők Országos Egyesülete kiadványa. Debrecen.
- Mihók S. (2006a): Bevezetés. Génmegőrzés – Hagyományos háziállatfajták genetikai és gazdasági értékének tudományos feltárása. Debreceni Agrártudományi Centrum. Debrecen. 13–19.
- Mihók S. (2006b): A póniló és a kisló. Mezőgazda Kiadó. Budapest.
- Mihók S. (2011): A hucul lófajta génállományának megőrzése napjainkban. *Debreceni Szemle*. 19: 421–427.
- Pecsenye K. (2006): Populációgenetika. Pars Kft. Nagykövácsi.
- Rola, J.–Larska, M.–Rola, J. G.–Belák, S.–Autorino, G. L. (2011): Epizootiology and phylogeny of equine arteritis virus in hucul horses. *Veterinary Microbiology*. 148: 402–407.
- Tóth S.–Hegyési H. (2007): Bevezetés a humángenetikába. Semmelweis Kiadó. Budapest.

