

## **MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**Genetikai diverzitás és filogenetikai kutatások Közép- és Dél-Európában élő  
domesztikált és vadon élő állatfajokban**

**Dr. Kusza Szilvia**

**Debrecen  
2019**

## Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS .....	2
1.1. Kutatásaim előzményei.....	3
1.2. Általános célkitűzések .....	4
2. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	4
3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK RÖVID ÖSSZEFOGLALÁSA.....	6
3.1. Juh.....	6
3.1.1. Cigája, ruda, pramenka és egyéb kelet-, délkelet-európai juhajták .....	6
3.1.2. Hortobágyi racka.....	7
3.2. Szarvasmarha.....	8
3.2.1. Román szürke marha.....	8
3.3. Ló.....	8
3.3.1. Hucul.....	8
3.4. Vaddisznó .....	9
3.5. Mezei nyúl .....	10
3.6. Sakál .....	11
3.7. Dámszarvas.....	12
Irodalomjegyzék.....	13
Köszönetnyilvánítás .....	14
A téziseket alátámasztó legjelentősebb publikációk jegyzéke .....	16

## 1. BEVEZETÉS

Ma már szinte közhelynek számít, hogy Földünk klímaváltozása milyen súlyos meteorológiai, biológiai, és ezek által társadalmi hatásokkal jár. Mindezzel párhuzamosan a számos újonnan megjelenő betegség, illetve az egyre növekvő emberi népesség biztonságos élelmezésének problematikája is előre nem látható kockázatokat és kihívásokat rejt. Ebből következően az emberiségnek bolygónk lehetőség szerint minél nagyobb mértékű megóvásának dilemmái mellett súlyos népelelmezési kérdésekre is választ kell találnia. Az élővilág sokszínűségének megőrzése, valamint a változó környezethez sikeresen alkalmazkodó növény és vadon élő állatfajok, illetve haszonállat fajták jobb megismerése olyan kutatói feladat, mely egyszerre szolgálja az emberiség hosszú távú jövőjét, és ígér az állattenyésztés mindennapjaiban is hasznosítható eredményeket. Mindebből az is következik, hogy az állatállomány genetikai sokféleségének fenntartása a jelen és a jövő egyik kulcskérdése.

A különböző fajok és fajták genetikai összetétele, szerkezetük és a helyi környezeti viszonyokra adott válaszaik még kevésbé ismertek, pedig olyan genetikai variánsokat tartalmazhatnak melyek a megváltozó környezeti feltételekhez, illetve betegségekhez való adaptáció szempontjából értékesek lehetnek. Szakmai körökben ma már köztudott az élelmiszerbiztonság, valamint a helyi, őshonos fajták egyedi genetikai változatai és tulajdonságaik közötti kapcsolat, azonban számos genetikai kérdés továbbra sem pontosan tisztázott. Pedig az éghajlatváltozáshoz való alkalmazkodás kulcsát lehet sejteni ezekben a fajtákban, melyeket megfelelő tenyésztési programok révén az intenzív termelésben használt fajtákba is át lehetne ültetni. Mindezek miatt igen fontos az őshonos fajták védelme és adaptációs tulajdonságuk vizsgálata genomikai és bioinformatikai módszerek alkalmazásával. Mindeddig a legtöbb vizsgálat a klímaváltozás fajokra gyakorolt hatásaira összpontosított, azonban ugyanilyen jelentőséggel bír a fajokon belüli genetikai diverzitás felmérése is, mivel a fajokon belüli változatosság azok környezethez való alkalmazkodóképességének alapját képezi. A csökkent genetikai diverzitás már középtávon is veszélybe sodorhatja a fajokat és fajtákat, hiszen a genetikai diverzitásukkal együtt alkalmazkodóképességük is gyengül. Egyre nyilvánvalóbb tehát, hogy a genetikai diverzitás önmagában is jelentős természeti erőforrást jelent. A klímaváltozás közvetlenül veszélyezteti ezt a genetikai változatosságot, még akkor is, ha maguk az adott fajok fenn is maradnak. A klímaváltozás a továbbiakban várhatóan különösen súlyos hatással lesz a genetikailag változatos fajokra, továbbá azon populációkra, melyek nem képesek könnyen élőhelyet változtatni. Az élőhely fragmentáció, izoláció csak tovább súlyosbítja ezt a helyzetet, mert az itt élő populációk nagyobb eséllyel pusztulnak ki, mivel csökken, de akár meg is szűnik közöttük a génáramlás, továbbá a megváltozott körülmények között nem képesek új, megfelelő élőhelyeket találni. Ez természetesen magával vonja genetikai örökségük végleges és visszafordíthatatlan eltűnését is.

Nem szabad azonban elfelejteni, hogy napjainkban a biológiai diverzitás rohamos csökkenése közvetett vagy közvetlen módon az emberi tevékenységre vezethető vissza. Sok faj fennmaradásához vagy fenntartható hasznosításához pedig elengedhetetlen az emberi beavatkozás. A célzott, fenntartásra és hosszú távú megőrzésre irányuló munka számos faj/fajta létezésének zálogát is jelenti, és a genetikai sokféleség kulcsfontosságú szerepet játszik a megőrzéshez kapcsolódó prioritások kijelölésében.

A fenti kérdések vizsgálata tekintetében igen értékes földrajzi egységnek számít Közép- és Dél-Európa, azon belül is a Kárpát-medence. E térség a nedves óceáni, a száraz kontinentális és a mediterrán éghajlati régiók határán helyezkedik el, így az éghajlati övek már kisebb eltolódása is oda vezethet, hogy országunk és annak közvetlen földrajzi környezete átcsúszhat a három régió valamelyikének domináns hatása alá. A Kárpát-medencét érő hatásokkal foglalkozó tanulmányok fő állítása az, hogy az üvegházhatás erősödésével a hazai éghajlat szárazabbá és napfényben gazdagabbá fog válni, legalábbis a melegedés kezdeti, néhány évtizedében.

A fajok genetikai szerkezetére számottevően hatnak a földtörténeti közelmúlt eseményei, mindenekelőtt a nagy klimatikus változások által befolyásolt areadinamikai folyamatok. A Kárpát-medencében is a legutóbbi eljegesedés maximuma (LGM), és az azt követő felmelegedés volt az az utolsó, jelentős földtörténeti esemény, amely alapjaiban meghatározta a különböző fajok jelenkori populációinak képét. Az eddigi eredmények alapján a Kárpát-medence változatos természetföldrajzi viszonyai, mozaikossága lehetővé tette ezen időszak alatt is a különböző menedékek, refúgiumok kialakulását, mely számos faj számára biztosította a túlélést a kedvezőtlen viszonyok közepette. Később ezekből a menedékekből indultak az újránepesedési folyamatok. Ezen túl a medence jelleg, valamint a Kárpát-medence központi elhelyezkedése okán, a távolabbi refúgium területekről kiinduló vándorlások is érintették ezt a területet, amely fajtól függően segítette, vagy éppen gátolta a további terjedést. Mindezekből fakadóan a Kárpát-medencében kimagasló szintet ért el a biodiverzitás, ami páratlan lehetőséget, de egyben felelősséget is jelent számunkra.

Hiba lenne azonban, ha a Kárpát-medencét közvetlen földrajzi környezetéből kiszakítva tennénk vizsgálataink tárgyává. Sok vadon élő állatfaj jelenlegi diverzitását itt a Kárpát-medencében ugyanis a dél-európai refúgium területekről való visszatelepülés befolyásolja, emellett a közép- és dél-európai térség egyes régiói évszázadok óta intenzív gazdasági, kereskedelmi (és alkalmanként politikai) kapcsolatban álltak és állnak egymással, így a domesztikált állatfajok elterjedése, illetve diverzifikálódása tekintetében is komoly hatást gyakoroltak egymásra. Szükséges tehát e nagyobb térség kapcsolódási pontjainak és kölcsönhatásainak összefüggéseket is számba vevő kutatása, hiszen ezek következménye az az egyedi vadon élő és házasított fauna, mely Közép- és Dél-Európa – s ezen belül a Kárpát-medence – sajátja.

Ennek a gazdag örökségnek azonban csak elenyésző százalékát sikerült mindeddig vizsgálat tárgyává tenni a genetikai diverzitás szempontjából. Mivel a populációs szinten folytatott vizsgálatok elterjedésével egyre szorosabbá vált a kapcsolat az evolúciobiológia és az ökológia között is, természetszerűen kiszélesedett a megválaszolható kérdések köre is.

A demográfiai és a genetikai módszerek kombinációjával olyan alapvető, populációs szintű folyamatok vizsgálata vált lehetővé, mint a migráció, a génáramlás, a szelekció és a véletlenszerű génsodródás (drift), vagy a populációk túlélése, illetve kipusztulása. Ezen folyamatok megértése által tárható fel az elterjedési területeken élő állományok genetikai szerkezete és történeti-evolúciós dinamikája. A megválaszolható kérdések körének a módszertan fejlődése általi jelentős bővülése, valamint a Kárpát-medence biodiverzitásával és biogeográfiájával kapcsolatos ismerethiány jelentette kutatási potenciál egyértelművé tette számomra, hogy vizsgálataimat a lehetőségekhez mérten erre a kutatási területre kell összpontosítanom.

### **1.1. Kutatásaim előzményei**

Kutatásaim első éveiben kiskérődzők (kecske, juh) tejfehérjégen polimorfizmusainak és kecske állományok Caprine arthritis encephalitis (CAE) fertőzöttségének genetikai hátterével foglalkozó kutatásokban vettem részt. Majd egy Marie Curie ösztöndíj segítségével Swine Leukocyt Antigen (SLA) gének polimorfizmus és transzkriptom vizsgálatával foglalkoztam. PhD disszertációm egyik részében őshonos juhajták genetikai diverzitás vizsgálatával foglalkoztam, mely kutatási területet ekkor nagyon megszerettem. Így fokozatszerzésem után, elsődlegesen ezen a kutatási területen maradtam, bővítve a fajok/fajták (juh, pulyka, ló, szarvasmarha, házi méh, aranysakál, ázsiai elefánt, balkáni gerle, dámszarvas, fácán gímszarvas, házi egér, mezei nyúl stb.) körét, újabb markereket, módszereket, statisztikai értékeléseket használva. Több állatfaj esetén elsőként határoztam meg a genetikai szerkezetet, diverzitás fokát.

Több hazai és külföldi ösztöndíjat nyertem, külföldi egyetemekre, kutatóintézetekbe, illetve hazai és nemzetközi pályázatokat vezettem, vettem részt bennük. Kutatásaim sok esetben hazai és nemzetközi együttműködések keretében zajlanak, különböző markerekkel, genomikai módszerekkel, illetve archaikus DNS bevonásával. Ezek közül MTA doktori disszertáciomban az így kapott eredmények egy részét mutatom be, azokat, melyek nem PhD disszertáció eredményeként születtek és Közép-, Dél-Európában, elsődlegesen a Kárpát-medencében élő domesztikált, valamint vadon élő állatfajok genetikai diverzitását, szerkezetét vizsgálta. A kutatások módszereit, legfőbb eredményeit esettanulmányokkal szemléltetem.

## **1.2. Általános célkitűzések**

Közép- és Dél-Európa, benne a Kárpát-medence élővilága a biológiai sokféleségét tekintve egyedülálló a világon. Ennek ellenére csak nagyon kevés tudományos szakcikk, kutatás von be állatfajokat erről a területről, pedig az itt élő domesztikált és vadon élő állatfajok genetikai diverzitásáról szóló kutatási eredmények nemzetközi érdeklődésre is számot tartanak. Ezáltal az itteni populációk vizsgálata és sokféleségének megőrzése nem csak erkölcsi, de fontos tudományos feladatot is jelent az ezzel foglalkozó kutatók számára.

A fentiek alapján MTA doktori értekezésem céljaul tűztem ki, hogy PhD fokozatom megszerzése utáni kutatómunkám azon eredményeit mutassam be, melyek Közép- és Dél-Európában élő domesztikált (juh, szarvasmarha, ló) és vadon élő állatfajok (vaddisznó, mezei nyúl, sakál, dámszarvas) genetikai sokféleségének jellemzésével (diverzitás, szerkezet, demográfiai változások) foglalkozott.

Azonban szeretném arra is felhívni a figyelmet, hogy egy-egy kutatómunka sohasem teljesen befejezett. A kapott eredményekre alapozva minden esetben további kérdések merülnek fel és azokat új módszerekkel, más megközelítéssel, további területek és minták bevonásával próbáljuk megválaszolni. Az esettanulmányaim végén ezekre is kitérek.

Bízom benne, hogy eredményeimmal hozzájárultam a vizsgált régió biodiverzitásának feltárásához, fenntartásához, hosszú távú megőrzéséhez és a gyakorlat számára is alkalmazható tudományos megállapításokat sikerült tennem mind a domesztikált, mind a vadon élő állatfajokkal végzett kutatómunkám során.

## **2. ANYAG ÉS MÓDSZER**

Az egyes fajok/fajták laboratóriumi és statisztikai vizsgálata különböző elemszámmal, módszerrel történt, azokat 1. táblázatban foglaltam össze.

1. táblázat: Vizsgálataimba vont állatfajok/fajták laboratóriumi és statisztikai vizsgálatainak legfőbb jellemzői

	Faj	Fajta	Elemzés	Minta típusa	Ország	Marker	Statisztikai értékeléshez használt programok
DOMESZTIKÁLT ÁLLATFAJOK	juh	cigája	137	gyapjú	Albánia, Horvátország, Románia, Szerbia	16 mikroszatellit	FSTAT v2.9.3 (Goudet, 1995), GENEPOP v3.4 (Raymond és Rousset, 1995), ARLEQUIN v.3.1. (Excoffier és mtsai, 2005), SPLITSTREE4 v4.9.1 (Huson és Brayant, 2006), DOH (Brzustowski, 2002) program, STRUCTURE v 2.0 (Pritchard és mtsai, 2000), DISTRICT (Rosenberg, 2004)
		pramenka	67	gyapjú	Szerbia	16 mikroszatellit	
		ruda	76	gyapjú	Albánia, Románia	16 mikroszatellit	
		bardhoke	31	gyapjú	Albánia	16 mikroszatellit	
		sakiz	49	gyapjú	Törökország	16 mikroszatellit	
		kivircik	90	gyapjú	Törökország	16 mikroszatellit	
	gokceada	39	gyapjú	Törökország	16 mikroszatellit		
		pramenka (privovirska)	38	gyapjú	Bosznia és Hercegovina	15 mikroszatellit	GENEPOP vs 3.4 (Raymond és Rousset, 1995), POPGENE vs 1.3 (Yeh és mtsai, 1999), FSTAT v2.9.3 (Goudet, 1995), ARLEQUIN v 3.1 (Excoffier és mtsai, 2005), SPLITSTREE4 v4.9.1 (Huson és Brayant, 2006), STRUCTURE v 2.0 (Pritchard és mtsai, 2000), DISTRICT (Rosenberg, 2004)
		hortobágyi racka	253	vér	Magyarország	15 mikroszatellit	
	szarvasmarha	román szürke	32	vér, sperma	Románia	11 mikroszatellit, mtDNS D-loop (825 bp)	ARLEQUIN v.3.0. (Excoffier és mtsai, 2005), GENEPOP v.4.2. (Raymond és Rousset, 1995; Rousset, 2008), FSTAT v. 2.9.3.2 (Goudet, 2002), CERVUS v. 3.0 (Kalinowski, 2007), BOTTLENECK v.1.2.02 (Cornuet és Luikart, 1996), MEGA v 6.05 (Tamura és mtsai, 2013), NETWORK v. 4.111 (Bandelt és mtsai, 1999)
		román barna	19	vér	Románia	11 mikroszatellit, mtDNS D-loop (825 bp)	
		román tarka	15	vér	Románia	11 mikroszatellit, mtDNS D-loop (825 bp)	
		román feketetarka	15	vér	Románia	11 mikroszatellit, mtDNS D-loop (825 bp)	
német tarka		12	vér	Románia	11 mikroszatellit, mtDNS D-loop (825 bp)		
ló	hucul	71	szőr	Magyarország, Ausztria, Szlovákia	17 mikroszatellit, mtDNS D-loop (338 bp)	POPGENE v.1.31. (Yeh és Yong, 1999), MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout és mtsai, 2004), BOTTLENECK 1.2.02. (Cornuet és Luikart, 1996), DnaSP 4.50.2 (Rozas és mtsai, 2003), ARLEQUIN v.3.0. (Excoffier és mtsai, 2005), NETWORK szoftver 4.6.0.0. (Bandelt és mtsai, 1999), MEGA 4.0 (Tamura és mtsai, 2007)	
	konik	7	szőr	Lengyelország	17 mikroszatellit, mtDNS D-loop (338 bp)		
	Przewalski	8	szőr	Magyarország, Németország	17 mikroszatellit, mtDNS D-loop (338 bp)		
VADON ÉLŐ ÁLLATFAJOK	vaddisznó		254; 14	szövet	Fehéroroszország, Magyarország, Lengyelország, Ukrajna, Moldova, Oroszország európai része; Ausztria, Magyarország, Lengyelország, Spanyolország, Szardínia, Törökország	mtDNS D-loop (664 bp), 60K SNP	DnaSP 5.0 (Librado és Rozas, 2009), SAMOVA analízis (Dupanloup és mtsai, 2002), ARLEQUIN 3.1 (Excoffier és mtsai, 2005), NETWORK 4.6.0.0 (Bandelt és mtsai, 1999), BEAST 1.6.1. (Drummond és Rambaut, 2007; Pesole és mtsai, 1999), Tracer 1.5 (Rambaut és Drummond, 2007); PLINK v 1.9. (Purcell és mtsai, 2007), adegenet programcsomag (Jombart és mtsai, 2008)
	mezei nyúl		140; 105	szőr, szövet	Grúzia/Georgia, Lengyelország, Litvánia, Magyarország, Olaszország, Románia, Szerbia	mtDNS D-loop (358 bp), mtDNS cyt-b+trNA- Thr+trNA-Pro+CR régió (916 bp)	DnaSP 5.10 (Librado és Rozas, 2009), PartitionFinder2.1.1. (Lanfear és mtsai, 2016), BEAST v2.3 (Bouckaert és mtsai, 2014), IQ-TREE 1.6. (Nguyen és mtsai, 2015), MEGA6 (Tamura és mtsai, 2013), PopART 1.7 (http://popart.otago.ac.nz/downloads.shtml), ARLEQUIN 3.5 (Excoffier és Lischer, 2010), BAPS v6 (Corander és mtsai, 2004, 2008)
	arany sakál		70	szövet	Magyarország	10 mikroszatellit, mtDNS D-loop (385 bp)	MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout és mtsai, 2004), FSTAT 2.9.3. (Goudet, 1995), ARLEQUIN 3.1. (Excoffier és mtsai, 2005), GENEPOP 3.4 (Raymond és Rousset, 1995), NeESTIMATOR 2.01 (Do és mtsai, 2014), BOTTLENECK 1.2.0.2. (Cornuet és Luikart, 1996), STRUCTURE 2.3.4. (Pritchard és mtsai, 2000), STRUCTURE HARVESTER (Earl és vonHoldt, 2012), CLUMPAK (Kopelman és mtsai, 2015), GENELAND (Guillot és mtsai, 2005; Guillot, 2008), DnaSP 5.10. (Librado és Rozas, 2009)
	dámszarvas		41	szőr	Magyarország	mtDNS D-loop (450 bp)	MrBayes 3.2 (Ronquist és mtsai, 2012), IQ-TREE 1.6. (Nguyen és mtsai, 2015), NETWORK 5.0.0.1. (Bandelt és mtsai, 1999), BAPS v6 (Corander és mtsai, 2008), ARLEQUIN 3.5. (Excoffier és Lischer, 2010), DnaSP 5.10 (Librado és Rozas, 2009)

### 3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK RÖVID ÖSSZEFOGLALÁSA

#### 3.1. Juh

##### 3.1.1. Cigája, ruda, pramenka és egyéb kelet-, délkelet-európai juhajták

Napjainkban egyre több genetikai kutatás zajlik az őshonos fajták védelmének érdekében, azonban az egyes fajtacsoportba sorolt fajták genetikai szerkezete és azok egymáshoz viszonyított volta még mindig kevésbé ismert. Vizsgálatunkban célunk volt korábbi eredményeink kiegészítése a kelet- és dél-európai helyi, sok esetben veszélyeztetett létszámú juhajtákkal, azok genetikai szerkezetének, egymáshoz való viszonyuknak további statisztikai módszerekkel való vizsgálata.

Az eredmények igazolták, hogy a fajta tulajdonképpen egy fajtacsoport, amelybe több populációt sorolnak, és közülük több értékes, ritka genetikai variációt tartalmaz. Megállapítottam, a vizsgált állományok közötti genetikai különbségek mértékét. Eredményeim szerint vitatható Draganescu (2003) állítása, miszerint a cigája juhajtája a román ruda fajtából alakult ki. Az azonban bizonyítást nyert, hogy a vizsgált állományok közül a román ruda legközelebb a rozsdás cigájához állt. Mason (1967) állítását bizonyítottam, miszerint a ruda fajta genetikai kapcsolatban állhat a török kivircikkel és a helyi cigája és zackel fajtakörbe tartozó juhokból eredeztethető. Országokénti csoportosításban a heterozigóta hiány a szerb állományokban volt a legnagyobb, fajtacsoportokénti felosztásban pedig a pramenka fajtakörben. Ugyanez az érték a horvát cigájában, illetve a cigája fajtakörbe tartozó populációkban volt a legkisebb, azaz beltenyésztettségtől ezen populációk esetében kell tartani (2. táblázat).

2. táblázat: Heterozigotizációs és  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  értékek országokénti és fajtacsoportokénti megosztásban

Országokénti csoportok	$H_o$	$H_E$	$F_{IS}$	$F_{ST}$
albán (AL-TS; AL-BARDH; AL-RUDA)	0,506	0,736	0,312	0,101
román (RO-RUST-TS; RO-RUDA)	0,536	0,769	0,303	0,062
szerb (SM-CS-TS; SM-SVR-PR; SM-KRI-PR)	0,423	0,705	0,400	0,090
török (TR-SAKIZ; TR-KIV-MAR; TR-KIV-TRA; TR-GOKCE)	0,472	0,695	0,322	0,159
	NS	NS	NS	NS
Fajtacsoportok				
cigája (AL-TS; CR-TS; RO-RUST-TS; SM-CS-TS)	0,557	0,722	0,228	0,124
pramenka (SM-SVR-PR; SM-KRI-PR)	0,402	0,699	0,425	0,059
ruđa (AL-RUDA; RO-RUDA)	0,499	0,751	0,335	0,090
egyéb (AL-BARDH; TR-SAKIZ; TR-KIV-MAR; TR-KIV-TRA; TR-GOKCE)	0,481	0,703	0,316	0,154
	**	NS	*	NS

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , NS-nem szignifikáns

A különböző fajtákba (populációkba) sorolt egyedek magas százalékban ténylegesen a saját fajtájukba tartoznak, csak kis mértékben mutatható ki más fajtákra jellemző genetikai hatás. Leghomogénebb az albán bardhoke és a horvát cigája volt. A genetikai szerkezetre irányuló vizsgálattal megerősítettem, hogy a vizsgált állományok genetikai szerkezete összefüggésben van azok földrajzi elhelyezkedésével.

A vizsgált állományok, fajták génrezervként kezelendők és alapul szolgálhatnak beltenyésztett, modern fajták javítására. A kapott eredmények kihathatnak az

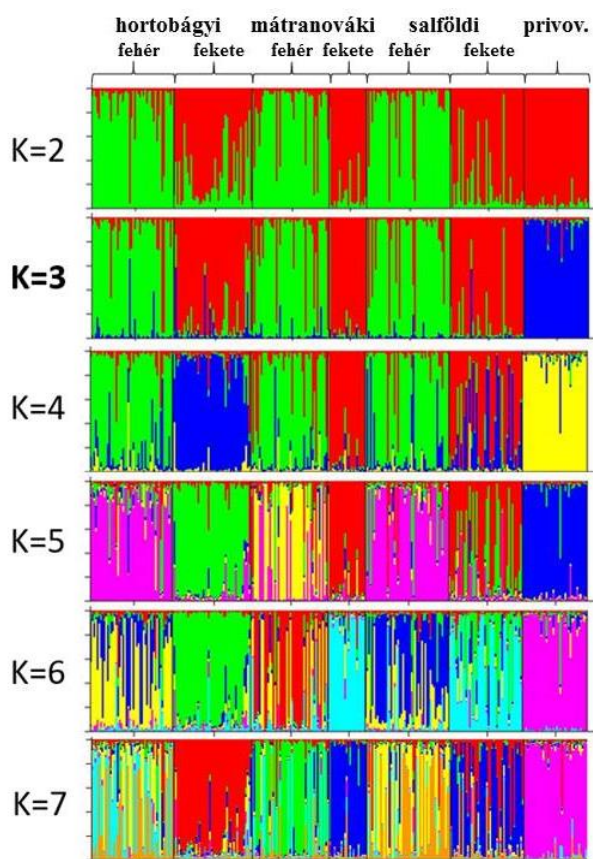
élelmiszerbiztonságra, beleértve a genetikai értékek megmentését az éghajlatváltozásra adott válaszaik által.

### 3.1.2. Hortobágyi racka

Vizsgálatunk célját az adta, hogy megállapítsuk a hortobágyi racka genetikai diverzitásának szintjét, illetve, hogy pontot tegyünk egy rég vitatott kérdésre, miszerint a két színváltozat mennyire különül el egymástól.

A kapott eredmények szerint a vizsgálatba vont három magyar hortobágyi racka állomány (Hortobágy, Mátranovák, Salföld) genetikai diverzitása közepes, a közöttük levő genetikai különbözőség elhanyagolható, illetve mérsékeltnek tekinthető mind az állományok földrajzi helyei, mind pedig a színváltozatok között. Annak ellenére, hogy a genetikai differenciáltság jelei kis mértékben, de mutatkoznak, továbbra is a fehér és fekete színek fajtán belüli változatként való kezelését javaslom (1. ábra).

1. ábra: Klaszteranalízis eredménye  $K=2$ - $K=7$



Beltenyésztéses leromlásra utaló jeleket mutattam ki, elsődlegesen a fekete színváltozatban. Az állományok teljes genetikai variációjának túlnyomó része az egyedek között található.

Mivel az őshonos fajtákkal lehet a leggazdaságosabban természetes környezetben, ökológiai gazdálkodás keretében kimagasló minőségű élelmiszert, alapanyagot előállítani, így a fajta védelmi helyzete továbbra is indokolt és feladatot jelent a juhtenyésztő gazdáknak.



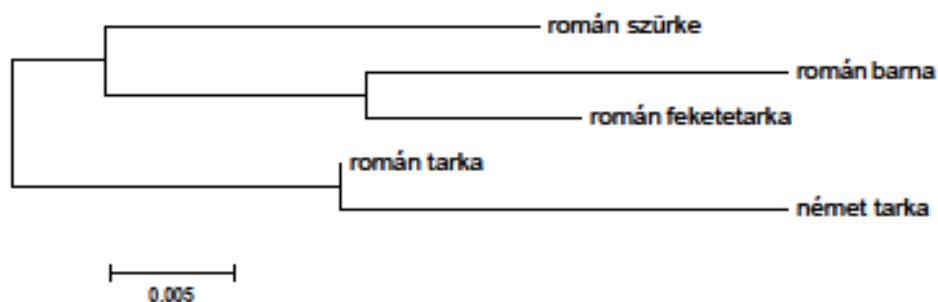
## 3.2. Szarvasmarha

### 3.2.1. Román szürke marha

Vizsgálatunkban célul tűztük ki a román-szürke, barna, tarka és feketetarka szarvasmarhafajták genetikai diverzitásának meghatározását 11 mikroszatellit marker és az mtDNS D-loop régió alapján, különös tekintettel a veszélyeztetett román szürke fajtára, annak érdekében, hogy információt nyerjünk a jövőbeni tenyésztési programok és fajtamegőrzési tervek számára. Ezen felül elvégeztük a vizsgált fajták és a génbanki adatbázisban található 525, elsősorban podóliai típusú marha mtDNS szekvenciájának összehasonlító elemzését, azért, hogy elsőként tárjuk fel a genetikai kapcsolatokat a vizsgált és a többi szarvasmarhafajta között.

A veszélyeztetett román szürke szarvasmarha-állomány kis populációméretéhez képest, meglepően magas genetikai sokféleséget mutat. A magas genetikai variabilitás oka a termelési tulajdonságok fejlesztését célzó szelekciós munka hiánya, illetve annak alacsony szintje lehet. Így a tenyésztési munkában azt továbbra is kerülendőnek, míg a jelenlegi fajtavédelmi programot a jelenlegi klimatikus körülmények között még megfelelőnek tartom a fajta sokféleségének megőrzése érdekében. Eredményeimmel bizonyítottam a vizsgált fajták eredetére és fajtaképzésükre vonatkozó ismereteinket is (2. ábra).

2. ábra: NJ filogenetikai fa a vizsgált szarvasmarha fajták genetikai kapcsolatának bemutatására



## 3.3. Ló

### 3.3.1. Hucul

Vizsgálatunk célja az volt, hogy a veszélyeztetett hucul lovak genetikai diverzitását meghatározzuk biparentális markerrel, illetve a fajtát ért palacknyak hatásról információt nyerjünk. A hucul, továbbá más primitív fajták, mint a lengyel konik és a przewalski vadló, valamint 200 NCBI GenBank-ból származó mtDNS szekvenciának az összevont elemzését is elvégeztük, annak érdekében, hogy a hucul ló eredetéről és genetikai kapcsolatairól is képet kapjunk.

Vizsgálatomban egy olyan, még mindig kis létszámú, hányatott sorsú, kevés genetikai kutatás alapját szolgáló lófajta vizsgálatát tűztem ki célul, amelyről tudott, hogy már többször elszenvedte a palacknyak-hatást. Mindezek ellenére, eredményeim szerint a fajta mai állománya nagy diverzitást mutat, ami valószínűleg a fajta eredetének köszönhető. Kimutatható volt múltbeli palacknyak-hatás (3. táblázat), többes anyaági eredet, a genetikai szerkezet strukturáltságának hiánya (sem földrajzi, sem fajtabeli) és két másik primitív lótól, a konik, illetve Przewalski lovaktól való genetikai különbözősége.

3. táblázat: Palacknyak-hatás vizsgálat eredményei a BOTTLENECK program 3 tesztjének 3 modellje alapján

teszt/modell	IAM	TPM	SMM
előjel próba	10,18 (0,012)*	10,03 (0,039)*	9,96 (0,001)*
standardizált különbség teszt	3,564 (0,002)*	0,541 (0,294)	-3,108 (0,001)*
Wilcoxon-féle előjeles rang próba	0,000*	0,039*	0,987

\* null hipotézis elvetése / palacknyak-hatás

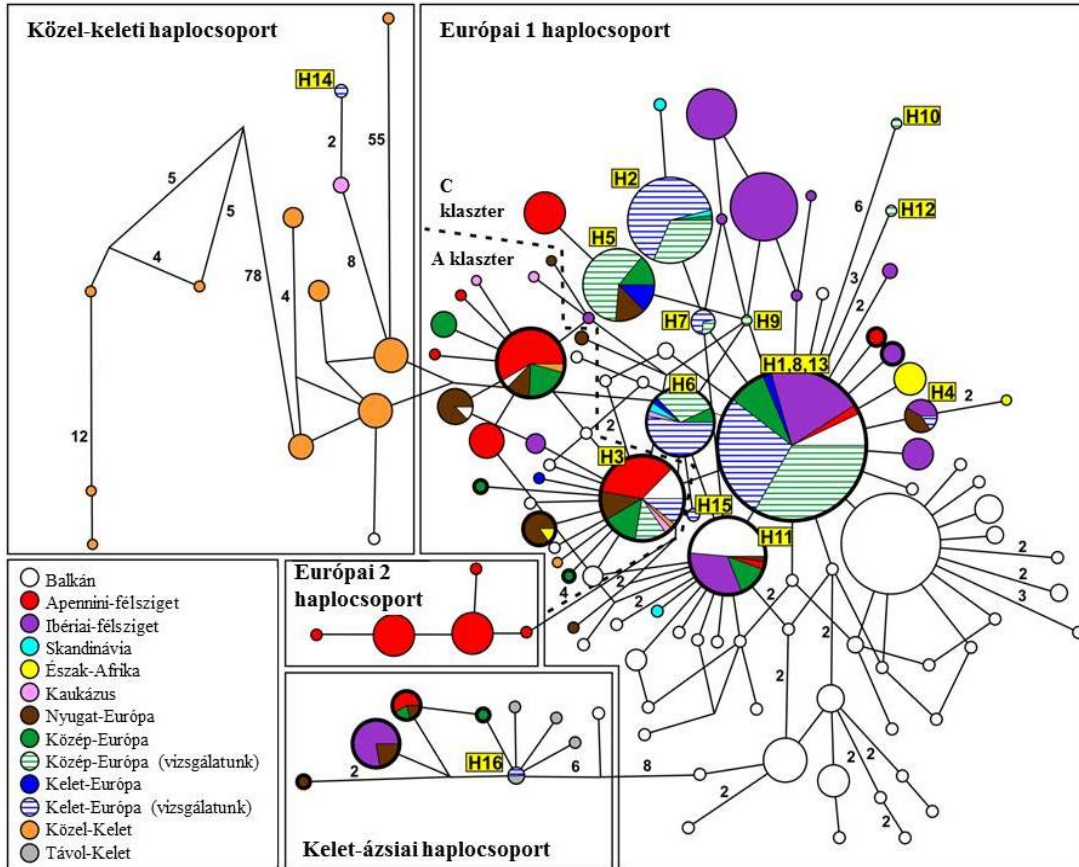
A pontos fajtavédelmi célok és módszerek – melyek eddig elsődlegesen kulturális és történelmi feljegyzéseken alapultak - kidolgozásának szempontjából fontos a fajta további vizsgálata, az arra ható természetes és mesterséges események (tenyésztés) feltárása, mivel ilyen fajták esetén gyakori jelenség a beltenyésztettség, a genetikai változatosság hiánya, a káros allélok fixálódása vagy jelentős múltbéli demográfiai változások, melyek nagy biztonsággal csak genetikai vizsgálatokkal igazolhatóak.

### 3.4. Vaddisznó

Vaddisznóval végzett vizsgálatainknak több célja volt. Egyrészt mitokondriális kontroll régió segítségével jellemeztük a közép- és kelet-európai vaddisznó populációk közötti genetikai diverzitást, szerkezetet és demográfiai változásokat. Különös figyelmet fordítottunk a mtDNS variabilitás leírására, az Európa és Ázsia többi részén megfigyelt haplotípus diverzitást is figyelembe véve, és célunk volt a populációk genetikai struktúrájának megállapítása, továbbá annak a megértése, hogy a jelenleg megfigyelt genetikai diverzitás és szerkezet mutat-e múltbéli, jégkorszak utáni demográfiai expanziót. Másrészt genomikai módszerrel vizsgáltuk, hogy múzeumban tárolt vaddisznó bőrmintákból kinyert DNS mennyire használható kereskedelmi forgalomban elérhető SNP chipekkel végzett genotipizálásokra, illetve, hogy a II. világháború előtti és jelenkori állomány diverzitásának szintjét összehasonlítsuk.

MtDNS vizsgálataimmal bizonyítottam, hogy a közép- és kelet-európai vaddisznók többsége az európai E1-C haplocsoportba sorolhatóak (a vizsgált egyedek 94 %-a) és csak az egyedek 5 %-a képviselte az E1-A klasztert. Vizsgálatom elvégzésekor elsőként dolgoztunk ekkora elemszámmal a régióban. A Kelet-Ázsiára és a Közel-Keletre jellemző haplotípusokkal csak két oroszországi egyed rendelkezett, aminek magyarázatára történelmi forrást találtam a mintázott régióban. Gyenge genetikai strukturáltságot mutattam ki a vizsgálatba vont földrajzi régióban, illetve a populációk közötti, sok közös haplotípus előfordulása nem mutatott bizonyítékot arra vonatkozóan, hogy a holocén alatt és a holocén előtti időszakban erős demográfiai fluktuáció ment volna végbe (3. ábra).

3. ábra: Median-Joining network az 598 GénBank-ból származó és a 254 saját vaddisznó szekvenciákból kapott haplotípusok felhasználásával. A körök mérete arányos a haplotípusok gyakoriságával, színük a mintavételi helyszínükre utal. Vastag külső körszegély házisertés szekvenciára utal a haplotípuson belül. A haplotípusokat összekötő vonalakon található számok a mutációk számát jelentik.



A kereskedelmi forgalomban levő 60K SNP chipet használva azt találtam, hogy a II. világháború előtti vaddisznó minták kevésbé voltak polimorfak, mint a jelenkorik. Azonban ezt az eredményt fenntartással kell kezelni. További, jó minőségű mintákra és abból kinyert DNS-re van szükség ahhoz, hogy pontosabban össze tudjuk hasonlítani a populációk időbeli és térbeli változásait.

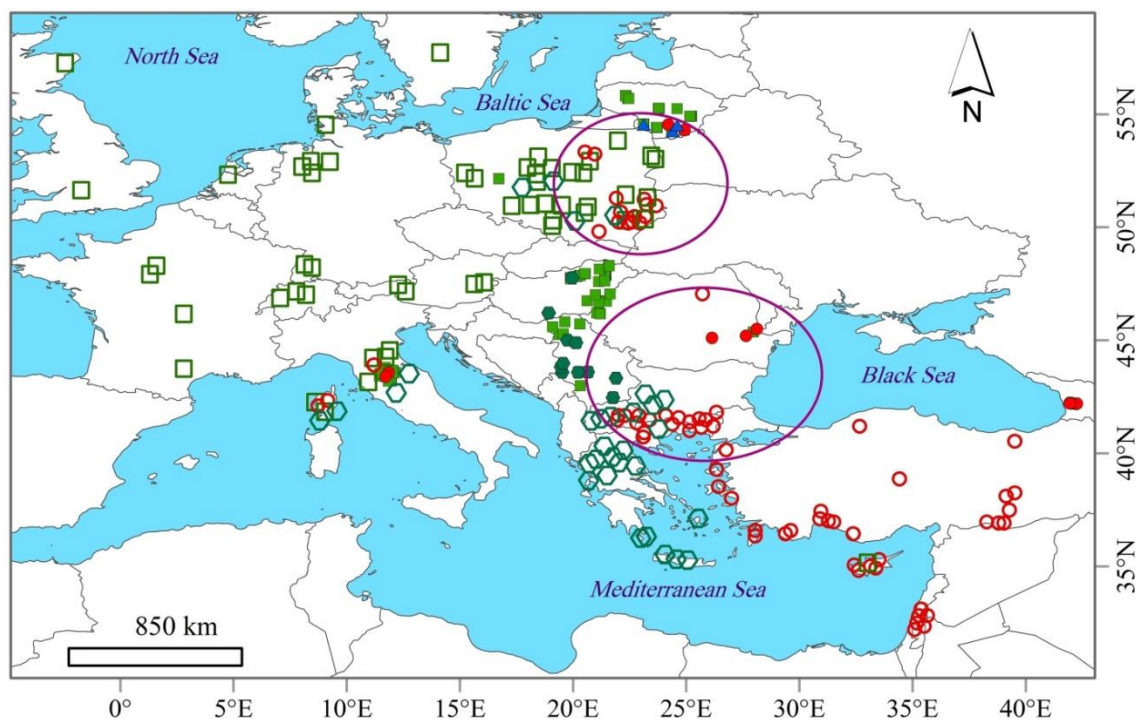
### 3.5. Mezei nyúl

Kutatásunkat széleskörű mintavételezésre alapoztuk, melybe hét, kevésbé gyakran mintázott országot vontunk be, a következő célok megválaszolására: i). a mitokondriális genetikai variabilitás meghatározása a közép- és kelet-európai, kaukázusi mezei nyulakban; és ii). a vizsgált populációk filogeográfiai kapcsolatait, kontaktzónákat meghatározni.

Eredményeim arra utalnak, hogy az észak-, közép- és nyugat-európai mezei nyúl populációk forrása Dél- és Délkelet-Európában, a balkáni régióban található, és egy délről északra történő génáramlás történt a jégkorszak utáni újranépesülés során. Két kontaktzónát határoztam meg Közép-Kelet-Európában: az egyik Délkelet-Európában (Macedónia, Északkelet-Görögország,

Bulgária és Románia), míg a másik Északkelet-Európában (Litvánia, és Északkelet-Lengyelország) van (4. ábra).

4. ábra: A vizsgálatunkban szereplő mezei nyúl egyedek mintázási helyei (teli geometriai formák), illetve a filogeográfiai vizsgálatokhoz NCBI GenBank-ból letöltött szekvenciák helyei (üres geometriai formák). Négyzet: közép-európai; hexagon: délkelet-európai; kör: anatóliai/közél-keleti vonal; háromszög: havasi nyúl (*L. timidus*). A zöld szín az európai vonalat, a piros az anatóliai/közél-keleti vonalat és a kék a havasi nyulat jelenti. Ellipszissel jelöltük a két kontaktzónát Észak- és Délkelet-Európában.



A genetikai szerkezet és filogenetikai vizsgálatok azt mutatták, hogy a közép-, kelet-európai mezei nyúl állományok az EUR és AKK vonalba tartoznak, és több esetben kimutattam az emberi tevékenységek (áttelepítések) hatását. Magyarországon csak európai vonalba (azon belül mind a közép-európai, mind a délkelet-európai alcsoportba) tartozó egyedeket találtam. Minden vonalban nagy haplotípus diverzitást mértem, míg közelmúltban bekövetkezett expanzió nyomait csak a közép-európai alcsoportban mutattam ki.

Eredményeimmel nagyrészt korábbi eredményeket, feltételezéseket erősítettem meg, azonban pontosabb képet kaptunk a közép-kelet-európai mezei nyúl állomány genetikai hátteréről anyai vonalon, amit remélhetőleg mind a vadgazdálkodás, mind a konzervációbiológia hasznosítani tud tevékenységei során.

### 3.6. Sakál

Kutatásunk célja az volt, hogy az aranysakál Magyarországon legkorábban kolonizált területéről, más tanulmányokhoz képest nagy elemszámmal, vizsgáljuk a faj genetikai diverzitását és szerkezetét.

Korábbi balkáni, közép- és kelet-európai, illetve olasz sakálokon végzett filogeográfiai vizsgálatok eredményeit támasztottam alá kilenc polimorf mikroszatellit és mtDNS D-loop régió használatával, az ismereteink szerint legnagyobb egyedszámot magába foglaló magyar

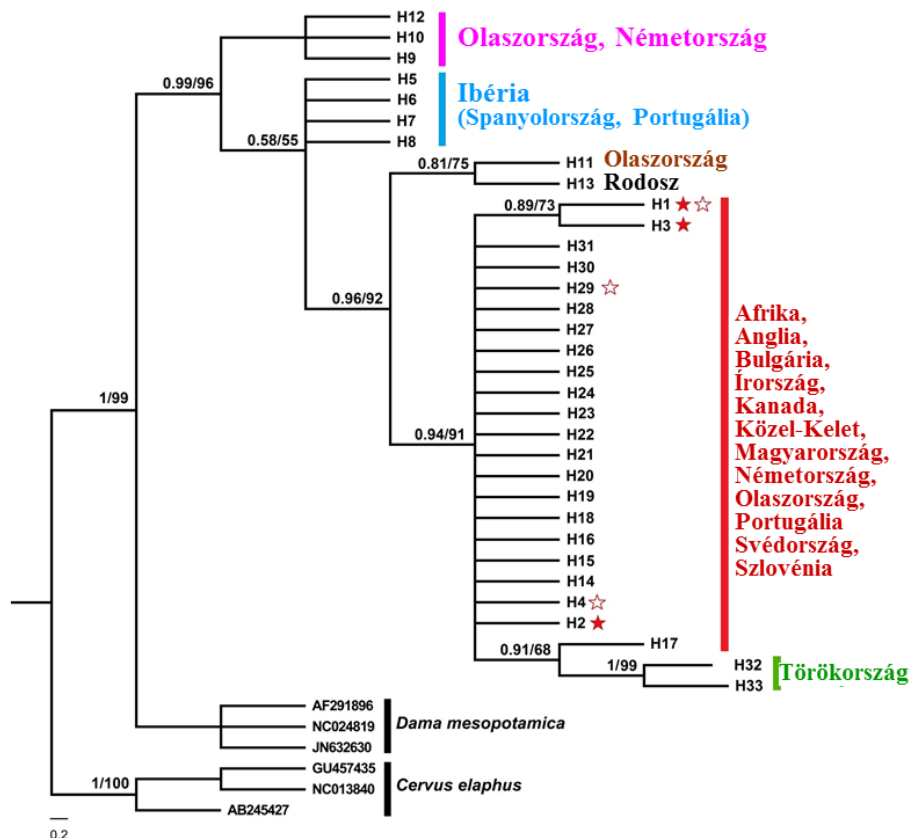
aransakál populációra alapozva. Bizonyítottam, hogy a gyors ütemben növekvő sakál létszám alacsony genetikai variabilitást és struktúrát mutat, szemben más kutyafélékkel, vagy az izraeli sakál populációval és az expanzió délről északra történik. Ezt azzal is alátámasztottam, hogy nem tudtam kimutatni biztosan elkülönülő szubpopulációt a mintázott területen belül, annak ellenére, hogy Magyarország földrajzilag Európa közepén helyezkedik el. A közeljövőben mindenképpen javaslok további genetikai és genomvizsgálatokat (RADseq, GBS), a hibridizáció és a genetikai szerkezet meghatározására, ökológiai vizsgálatokkal kiegészítve.

### 3.7. Dámszarvas

Vizsgálatunk célja volt, Magyarország északkeleti részén: i.) meghatározni a haplotípusok számát a mintázott térségben; ii.) meghatározni a genetikai diverzitás és haplotípusok eloszlását, illetve iii.) filogeográfiai vizsgálatot végezni a mintázott populációk haplotípusainak és a korábban Magyarországon és világszerte talált haplotípusok összevetésével.

Az északkelet-magyarországi dámszarvas populációk anyai ágon végzett genetikai vizsgálatával kapott eredményeim a faj diverzitására és filogenetikai szerkezetére vonatkozóan megerősítették az eddig közép-európai populációban leírtakat, illetve a történelmi feljegyzéseken alapuló tényeket (5. ábra).

5. ábra: Filogenetikai kapcsolat a dámszarvas haplotípusok között 450 bp hosszú mtDNS D-loop szakasz alapján. Kulcsoport (outgroup): *Dama mesopotamica* (AF291896, NC024818, JN632630) és *Cervus elaphus* (GU457435, NC013840). Az ágakon levő számok a Bayes-féle utólagos következtetés valószínűségét és a ML bootstrap százalékos értékeit jelölik. A telt csillagok a saját mintázott egyedeink haplotípusait, az üres csillagok Baker és mtsai (2017) által leírt magyarországi haplotípusokat jelölik.



A faj alacsony szintű diverzitással rendelkezik, ezen belül a magyar állomány is. Azonban ennek ellenére, a mintázott területen 2 új haplotípust írtam le, amiből az egyik csak Gúthon – ahonnan a legutóbbi 2 világrekord is származik –, és ott is csak egy egyedben fordult elő. Lehetséges, hogy további állomány/terület specifikus genetikai jellegzetességek azonosíthatóak nagyobb elemszámmal, más markerekkel, illetve mindenképpen érdemes lenne a mintagyűjtési területet az egész Kárpát-medencére kiterjeszteni. Bizonyítottam, hogy még mindig létezhetnek új, eddig fel nem fedezett haplotípusok zárt populációkban, illetve az emberi áttelepítések meghatározó szerepét a faj jelenlegi genetikai struktúrájában.

### **Irodalomjegyzék**

Baker KH, Gray HWI, Ramovs V, Mertzanidou D, Akın Pekşen C, Bilgin CC, Sykes N, Hoelzel AR. 2017. Strong population structure in a species manipulated by humans since the Neolithic: the European fallow deer (*Dama dama dama*). *Heredity* 119 (1): 16-26.

Draganescu C. 2003. *Romanian strategy for a sustainable management of farm animal genetic resources*. In: Draganescu C. (ed.) Institute of Biology and Animal Nutrition, Balotesti, Ministry of Agriculture, Forestry, Waters and Environment, Bucuresti.

Mason IL. 1967. *The Sheep Breeds of the Mediterranean*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK.

## Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet fejezem ki **prof. dr. Jávor András** rektori főtanácsadó úrnak (DE), aki PhD tanulmányaim alatt témavezetőm volt és utána laboratóriumvezetőként is önzetlenül támogatta kutatási tevékenységeimet, minden irányú szakmai ötletemet. Ugyanilyen hálás köszönettel tartozom **prof. dr. Bősze Zsuzsanna** tudományos tanácsadó asszonynak (NAIK-MBK) aki PhD témavezetésem után is hasznos és iránymutató tanácsokkal látott el a tudományos életben, további lépésekre biztatott a kutatói pályán.

Köszönettel tartozom **prof. dr. Kovács András** professor emeritus úrnak (DE) akinek hatalmas tudása, szakmai ötletei és a vele folytatott beszélgetések mindig inspirálóan hatottak rám.

**Prof. dr. Kukovics Sándor** (NAIK-ATHK) és **prof. dr. Mihók Sándor** (DE) urakat is köszönet illeti, hogy kutatásaik, pályázataik során nyitottak voltak együttműködésekre, és ezáltal segítették szakmai fejlődésemet.

Hálával tartozom külföldi munkáim során professzoraimnak, külön kiemelve **dr. Claire Rogel-Gaillard** (INRA) és **dr. Bogumila Jędrzejewska** (MRI-PAS) professzor asszonyokat, és a különböző egyetemek, illetve kutatóintézetek vezetőinek, amiért fogadtak intézményükben, segítségemre voltak szakmai fejlődésemben és azóta is mindennemű együttműködésre nyitottak velem.

A teljesség igénye nélkül a következő külföldi munkatársaimnak szeretnék mindenképp köszönetet mondani, amiért az elmúlt években együtt dolgozhattam/tok velük, számítanak szakmai véleményemre, meglátásaimra: **dr. Daniela Elena Ilie**, **dr. Dinu Gavojdian**, **dr. Frank E. Zachos**, **dr. Astrid Vik Stronen**, **dr. Laura Iacolina**, **dr. Magdalena Niedzialkowska**, **dr. Ludovic Toma Ciszter**, **dr. Bouabid Badaoui**, **dr. Ali Esmailzadeh**, **dr. Eva Pasic-Juhas**, **dr. Mohammad Ashrafzadeh**, **dr. Ante Ivankovic**, **dr. Massimo Scandura**, **dr. Donata Marletta**, **dr. Andrzej Oleksa**. Bízom benne, hogy sikeres együttműködéseink folytatódnak a jövőben is!

Köszönetemet fejezem ki **dr. Győri Zoltán**, **dr. Holb Imre** és **dr. Balogh Péter** professzor uraknak (DE), akikkel ugyan nem egy szakterületen dolgozunk és nem állunk közvetlen szakmai kapcsolatban, mégis kutatói pályafutásom kezdete óta támogattak és nyíltan fordulhattam hozzájuk kérdéseimmel.

Köszönet illeti volt PhD hallgatóimat, **dr. Péntek-Zakar Erikát**, **Baginé dr. Hunyadi Ágnes** és **dr. Bagi Zoltánt**, amiért saját kutatási témájukon túl, más általam vezetett témákban is részt vettek, segítettek a napi teendőimre és türelmet tanulhattam tőlük. Ugyancsak köszönöm jelenlegi PhD hallgatóim (**Farkas Péter** és **Mihalik Bendegúz**) munkáját, segítségét az időigényes mintagyűjtésekben és laboratóriumi vizsgálatokban. **Bacsóné Nagy Krisztina** több éves munkájáért is hálás vagyok és bízom benne, hogy hamarosan elkészül PhD disszertációjával.

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni **Véghné Tóth Bianka**, titkárságvezető asszonynak (DE AKIT), aki már egyetemi szakdolgozómként is rendkívüli teherbírásáról és pontosságáról tett tanúbizonyságot, majd egyetemi éveit után is rendelkezésemre állt a laboratóriumi és adminisztratív terheim csökkentésében.

A Debreceni Egyetem Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet munkatársainak, külön vezetőjének, **prof. dr. Komlósi Istvánnak**, ezúton köszönöm a támogatást és a segítőkészséget, amelyet irányomba nyújtottak.



Köszönettel tartozom más intézményekben dolgozó kollegáimnak, **dr. Stéger Viktornak** (NAIK-MBK), **dr. Monori Istvánnak** (DE AKIT), **dr. Barta Endrének** (NAIK-MBK), **dr. Jurkovich Viktornak** (Állatorvostudományi Egyetem), **dr. Bajcsy Csabának** (Hannoveri Egyetem), akikkel együtt dolgozhattam és dolgozhatom, ezáltal lehetőségem van egyre jobban szélesíteni kutatási területeim körét, és tőlük tanulva más-más megközelítésben (biológusi, állatorvosi, informatikusi) vizsgálni az egyes kérdéseket.

Megköszönöm minden hazai és külföldi szerzőtársamnak, valamint a közleményeim köszönetnyilvánításaiban szereplők munkáját, vizsgálataimhoz nyújtott segítségét. Munkájuk nélkül nem tudtam volna kutatásaimat elvégezni!

Külföldi ösztöndíjaimat a Marie Curie program a Tempus Közalapítvány, míg hazai kutatásaimat a Debreceni Egyetem, illetve az általa elnyert pályázatok és a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíj Kuratóriuma támogatta.

És végül, de nem utolsó sorban, hatalmas hálával és köszönettel tartozom **Családomnak** és **Barátaimnak**, akik folyamatosan támogattak, mellettem álltak és legfőképpen bíztak bennem.



## A téziseket alátámasztó legjelentősebb publikációk jegyzéke

Kusza Sz., Nagy I., Sasvári Zs., Stágel A., Németh T., Molnár A., Kume K., Bősze Zs., Jávor A. & Kukovics S. (2008) Genetic diversity and population structure of Tsigai and Zackel type of sheep breeds in the Central-, Eastern- and Southern-European regions. *Small Ruminant Research* 78 (1-3): 13-23.

Kusza Sz., Ivankovic A., Ramljak J., Nagy I., Jávor A. & Kukovics S. (2011) Genetic structure of Tsigai, Ruda, Pramenka and other local sheep in Southern and Eastern Europe. *Small Ruminant Research* 99 (2-3): 130-134.

Kusza Sz., Priskin K., Ivankovic A., Jedrzejewska B., Podgorski T., Jávor A. & Mihók S. (2013) Genetic characterisation and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. *Biological Journal of Linnean Society* 109 (1): 54-65.

Kusza Sz., Podgorski T., Scandura M., Borowik T., Jávor A., Sidorovich VE., Bunevich AN., Kolesnikov M. & Jedrzejewska B. (2014) Contemporary genetic structure, phylogeography and past demographic processes of wild boar *Sus scrofa* population in Central and Eastern Europe. *PLOSOne* 9 (3): e91401

Ilie D.E.\*, Cean A., Czisster L.T., Gavojdian D., Ivan A. & Kusza Sz.\* (2015) Microsatellite and Mitochondrial DNA Study of Native Eastern European Cattle Populations: The Case of the Romanian Grey. *PLOSOne* 10 (9): e0138736. \*Megosztott első szerző

Kusza Sz., Ashrafzadeh M.R., Tóth B. & Jávor A. (2018) Maternal genetic variation in the northeastern Hungarian fallow deer (*Dama dama*) population. *Mammalian Biology* 93:21-28.

Stronen A.V., Iacolina L., Pertoldi C., Kusza Sz., Hulva P., Dykyy I., Kojola I. & Faurby S. The use of museum skins for genomic analyses of temporal genetic diversity in wild species. *Conservation genetics resources* (in press) DOI: 10.1007/s12686-018-1036-x

Ashrafzadeh M.R., Djan M., Szendrei L., Paulauskas A., Scandura M., Bagi Z., Ilie D.E., Kerdikoshvili N., Marek P., Soós N. & Kusza Sz. (2018) Large-scale mitochondrial DNA analysis reveals new light on phylogeography of Central and Eastern-European Brown hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778). *PLOSOne* 13(10): e0204653

Kusza Sz., Nagy K., Lanszki J., Heltai M., Szabó Cs. & Czarnomska S. (2019) Moderate genetic variability and no genetic structure within the European golden jackal (*Canis aureus*) population in Hungary. *Mammal Research* 64(1): 63-69.