

# MIKROSZATELIT DNS- VIZSGÁLATOK A MOCSÁRI TEKNŐS NÉGY DUNÁNTÚLI ÁLLOMÁNYÁN

*Molnár Tamás<sup>1</sup>, Lanszki József<sup>1</sup>, Magyary István<sup>1</sup>,  
Jeney Zsigmond<sup>2</sup>, Lehoczky István<sup>2</sup>*

*1 Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar, Kaposvár  
Sertés- és Kisállattenyésztési Tanszék*

*2 Halászati és Öntözési Kutatóintézet*



# CÉLKITŰZÉSEK

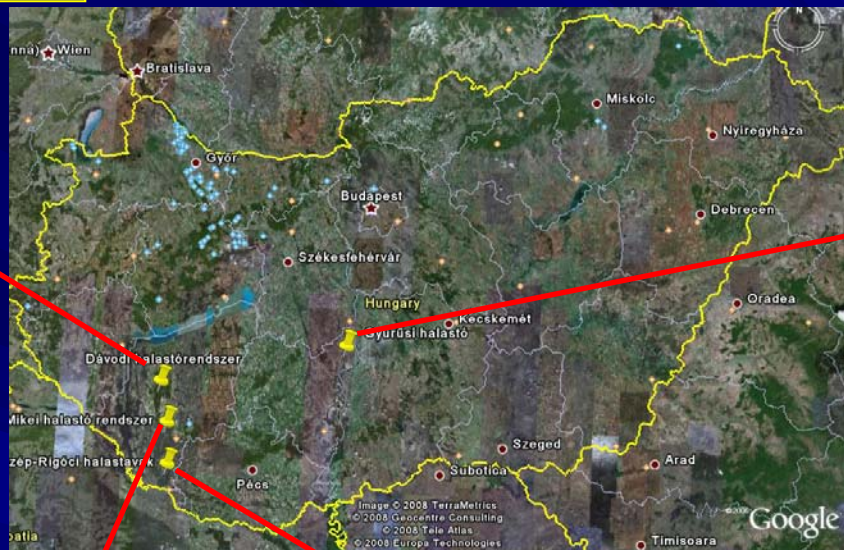
**1) a mikroszatellit módszer alkalmazásával a hazai mocsári teknős állomány genetikai sokféleségének vizsgálata**

**2) a vizsgált populációk**

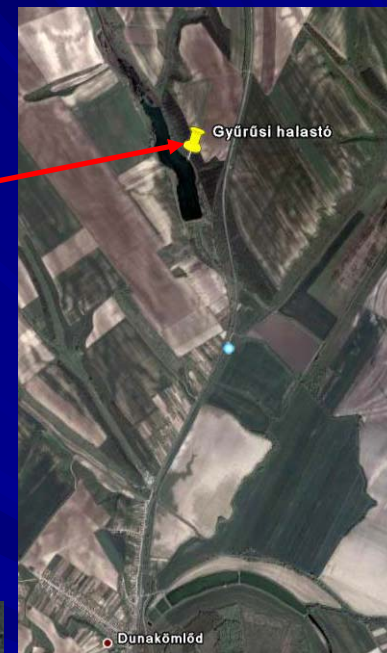
- **beltenyésztettségének**
- **genetikai távolságának**
- **migráció mértékének**
- **egymástól való elkülöníthetőségének megállapítása**

# VIZSGÁLT TERÜLETEK

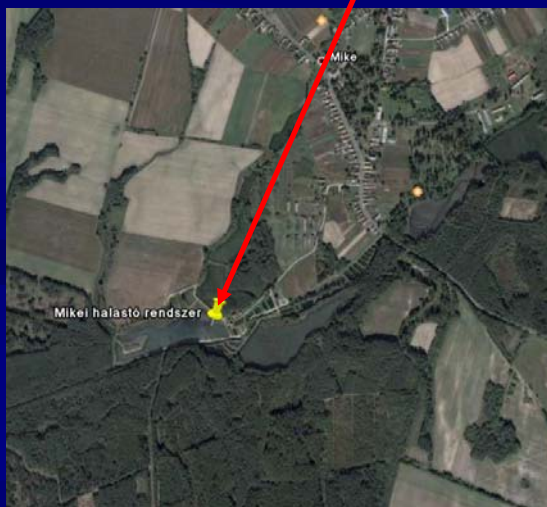
**A Boronka-melléki  
Tájvédelmi Körzet (BmTK)  
Dávodi halastórendszere**



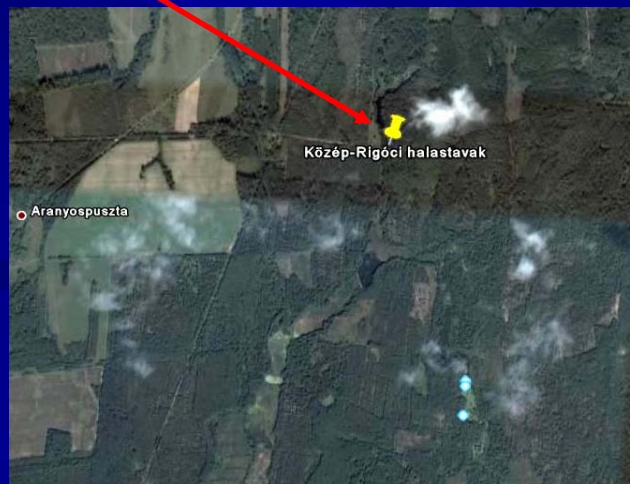
**Gyűrűsi halastavak**



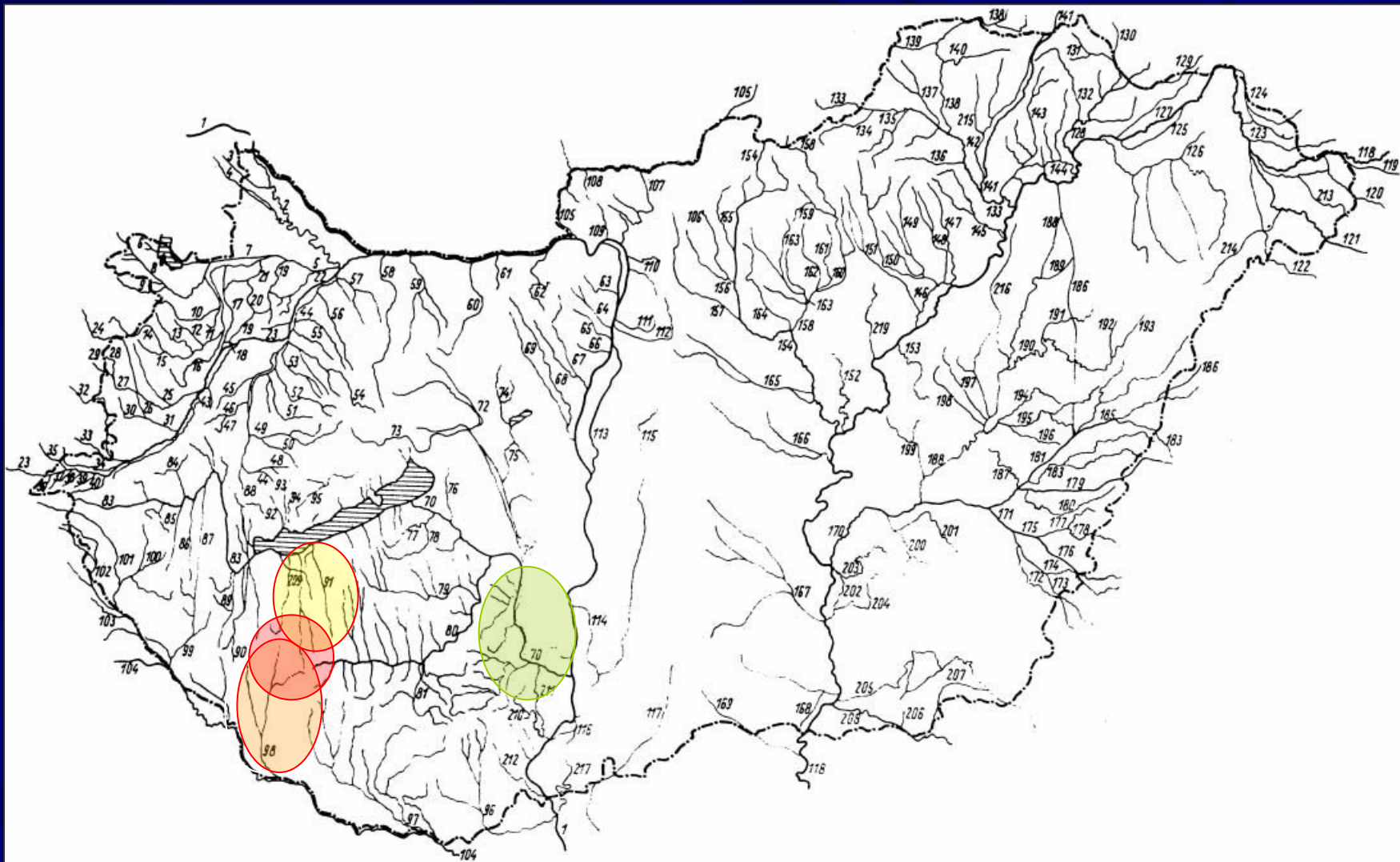
**Miki halastó-rendszer**



**Közép-Rigóci halastavak**



**Közép-Rigóci  
halastó-rendszer**



# ANYAG ÉS MÓDSZER

## Mintagyűjtés:

- mintául izomszövet (Dávodpuszta, n=37) és vér (Dávodpuszta n=19, Mike n=67, Rigóc n= 21, Gyűrűs n=10) szolgált
- az izommintákat 96 %-os etanolban, a vérmintákat -20°C-on tároltuk

## A DNS kivonása és tisztítása:

- 37°C-on, protein kinázos emésztést követően Gentra Purgene Tissue kit alkalmazásával fenol-kloroformos módszerrel történt
- a DNS tisztítását követően az oldás 100µl TE pufferban történt



# ANYAG ÉS MÓDSZER

## PCR reakció

- CY5 vég jelölés
- Emidoidea blandingii*  
(Libants et al., 2004,  
Osentoski et al., 2002 )



Primer	T <sub>A</sub>	Ismétlődési minta	Primer szekvencia
BTCA9	46	[CA]9	F-TAC TCA AGA TTT GAA GCA GAT ACA
			R-GGC TTG ATT CTA CTG TCA CTT AC
BTGA2	52	[GGA]5 N3 [GA]3	F-ATG ATC TAA TGG TCC CTT CTG
			R-CTG TTA GCT TAT TCT TCT GCA A
BTGA3	48	[GA]11	F-CCT AGA TTT TGT CTG GCT ATT A
			R-TAT CTC AGT AAT AAT CCC CTT AG
BTGA4	52	[GA]11	F-CTC ATA AAG TAA GGA CGG GAA
			R-CCT AGA GAT GGA ATC TTT TGT ATT
Eb 17	55	[AAT]5	F- CCC ACA AAA GTA GAC ACC TAT§
			R- GGC ACT GAA ATA AGA GAA AGT A

# ANYAG ÉS MÓDSZER

## PCR reakció, gélelektroforézis:

- a PCR termékeket ALFexpress II fragmens analízátoron szeparáltuk
- a fragmens hosszok meghatározásához méret standardot alkalmaztunk

## Adatfeldolgozás:

- az adatfeldolgozás során GENEPOP, GeneClass, Populations programot használtunk



# EREDMÉNYEK

Az allélszám és az egyedi allélszám alakulása

Primer	T <sub>A</sub> (°C)	Allél- Szám	Allél méret (bp)	Egyedi allélek száma	Egyedi allélek			
					Pop Dávod	Pop Mike	Pop Rigóc	Pop Gyűrűs
<b>BTCA9</b>	46	24 (9)	156-198	7	3	2	1	1
<b>BTGA2</b>	52	16 (3)	137-145	4	1	1	1	1
<b>BTGA3</b>	48	7 (1)	110-120	1	0	0	1	0
<b>BTGA4</b>	52	9(3)	140-152	3	2	0	1	0
<b>Eb 17</b>	55	5 (5)	86-98	0	0	0	0	0

# EREDMÉNYEK

A várt és megfigyelt heterozigotitás értékek alakulása

Populáció	BTCA9		BTGA2		BTGA3		BTGA4		Eb 17	
	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>
Dávod	0,93	0,79	0,88	0,17	0,75	0,34	0,74	0,35	0,73	0,53
Mike	0,90	0,75	0,87	0,46	0,74	0,43	0,76	0,58	0,68	0,58
Rigóc	0,86	0,48	0,71	0,10	0,72	0,65	0,77	0,71	0,75	0,69
Gyűrűs	0,82	0,30	0,79	0,60	0,76	0,60	0,82	0,80	0,45	0,50

# EREDMÉNYEK

A Fis értékek alakulása populációnként és primerenként

<b>Fis (W&amp;C)</b>	<b>BTCA9</b>	<b>BTGA2</b>	<b>BTGA3</b>	<b>BTGA4</b>	<b>Eb 17</b>	<b>P= (df=10)</b>
<b>Dávod</b>	+0,148	+0,812	+0,547	+0,538	+0,275	High. sign.
<b>Mike</b>	+0,169	+0,469	+0,419	+0,238	+0,159	High. sign.
<b>Rigóc</b>	+0,451	+0,869	+0,099	+0,067	+0,081	High. sign.
<b>Gyűrűs</b>	+0,645	+0,255	+0,217	+0,020	-0,111	0,0001
<b>P= (df=8)</b>	High. sign.	High. sign.	High. sign.	High. sign.	0,1344	High. sign.

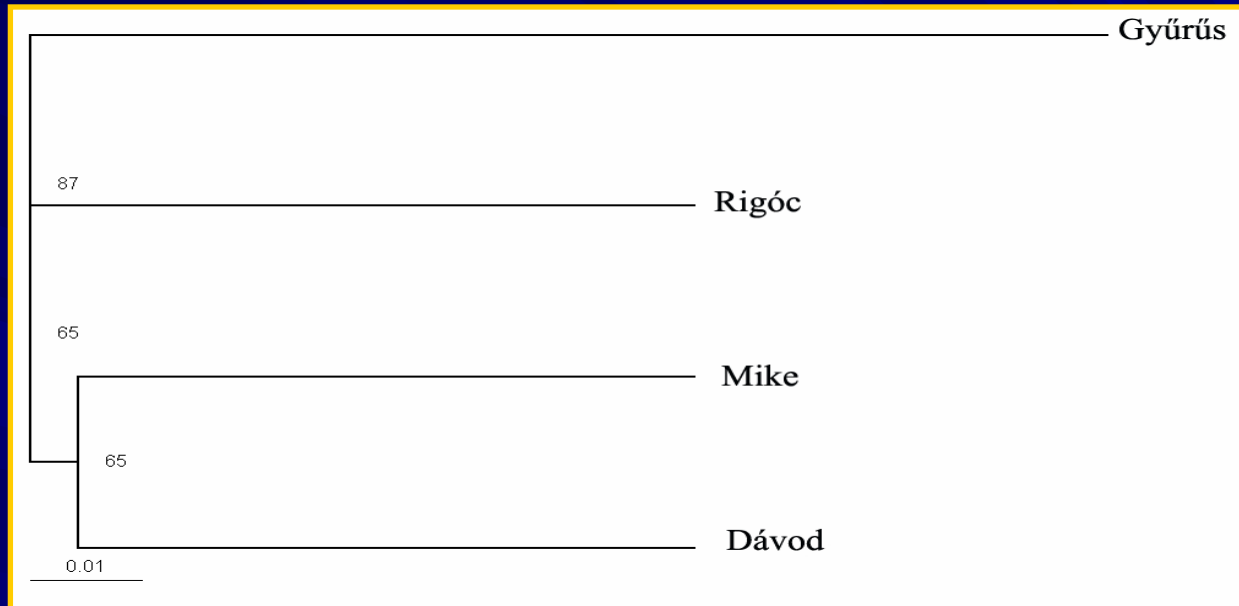
# EREDMÉNYEK

A Fst értékek alakulása populáció páronként

<b>Fst (W&amp;C)</b>	<b>Dávod</b>	<b>Mike</b>	<b>Rigóc</b>
<b>Mike</b>	0,0352		
<b>Rigóc</b>	0,0530	0,0238	
<b>Gyűrűs</b>	0,0660	0,0313	0,0368

# EREDMÉNYEK

A Nei-féle genetikai távolság alakulása populáció páronként



Nei Da	Dávod	Mike	Rigóc
Mike	0,1098		
Rigóc	0,2169	0,1184	
Gyűrűs	0,2901	0,1918	0,1750

# EREDMÉNYEK

A generációnkénti migráló egyedek számának alakulása populáció páronként

Nmoy	Dávod	Mike	Rigóc
Mike	3,32		
Rigóc	1,94	3,68	
Gyűrűs	1,11	1,71	1,68

# EREDMÉNYEK

A besoroló teszt eredménye

<b>Populáció</b>	<b>Besorolt</b>	<b>Összes</b>	<b>%</b>	<b>Téves</b>
Dávod	37	56	68	M:12, R:5, Gy:2
Mike	46	67	66	R:8, D:9, Gy:4
<b>Rigóc</b>	10	21	47	M:6, Gy:4, D:1
<b>Gyűrűs</b>	6	10	60	R:2, M:1, D:1
Szum	99	154	64,3	-

# KÖVETKEZTETÉSEK

- 1) Az öt mikroszatelit primer alkalmasnak bizonyult a genetikai változatosság jellemzésére.
- 2) Egyedi allélokat találtunk mindegyik populáció esetében, tehát a populációk megkülönböztethetőek, azonban az egyedi allélek száma populációnként erősen eltérő.
- 3) Az elvárt heterozigozitás (0,45-0,93), az édesvízi teknősökre jellemző irodalmi értékek közt változott (*E. blandingii*, 0,45-0,71, *Podocnemis expansa* 0,50–1,00)
- 4) A megfigyelt heterozigozitás (0,10-0,79) alacsonynak mondható. (ROQUES et al. (2006) Donana Nemzeti Parkban ( $H_o = 0,82$ )). Minden populációban jelentős heterozigóta deficitet tapasztaltunk.



# KÖVETKEZTETÉSEK

- 5) A migráció a négy populáció között változó, a szükséges mértéket ( $N_{moy}=1$ ) azonban mindenhol eléri.
- 6) A genetikai távolság, és a migráció nem a földrajzi távolság, hanem inkább a vízgyűjtők hatására változik, azonban ennek igazolásához több populáció vizsgálatára van még szükség.
- 7) A besoroló teszt, a migráló egyedek száma és a genetikai távolságok alapján a mihei populáció átmenetet képez a szomszédos populációkkal, tehát az ökológiai folyosó eredményesnek bizonyulhat, az érintkező vízgyűjtő-rendszerek esetében

**Köszönöm a figyelmet!**



**GENEPOP-pal: allél frekvencia, egyedi allélszám, várt és megfigyelt heterozigozitás érték, Hardy-Weinberg teszt, heterozigóta deficit p-értéke.**

**A migrálók számának beclése Barton és Slatkin módszere alapján. Az  $F_{st}$  és  $F_{is}$  értékek számítása Weir és Cockerham módszerével.**

**A besoroló tesztet (self classification, Bayesian method) a GeneClass, míg a genetikai távolságot (Nei's  $D_a$  distance, NEI et al, 1983) a Populations programmal számítottuk ki.**