



Néhány horvátországi pontyfajta genetikai jellemzése és visszatelepítése eredeti tógazdaságaikba

Lehoczky István^a, Ivelić Duška^b, Jablan Ines^b,
Treer Tomislav^b, Bakos János^a, Jeney Zsigmond^a

Halászati és Öntözési Kutatóintézet (HAKI), Szarvas

^bZágrábi Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar

Szarvas. 2009.05.28.

Bevezetés

- HAKI ex-situ génbank (15 magyar, 15 külföldi fajta)
- Délszláv háború, fajták lehetséges összekeveredése, tenyészhalak elvesztése, elvesztett genetikai változatosság
- Együttműködés (Zágrábi Egyetem és HAKI, cél: Nasicei és Poljanai fajták visszatelepítése)

Célkitűzések

- A horvát fajták (Nasicei, Poljanai) szaporítása és visszatelepítése (100.000 lárva/fajta) származási helyükre
- A helyi fajták és a génbanki állományok genetikai változatosságának leírása (allélszám, allélgazdagság, egyedi allélek száma) mikroszatellit DNS-markerek segítségével
- A fajták közötti genetikai távolság meghatározása
- Beltenyésztettségre utaló jelek keresése

Anyag és módszer 1.



- Minták gyűjtése a poljanai és a nasicei halfarmokon (köszönet Tea Odaknak), valamint a HAKI génbankjában (úszóminták 96%-os etanolban)

Anyag és módszer 2.

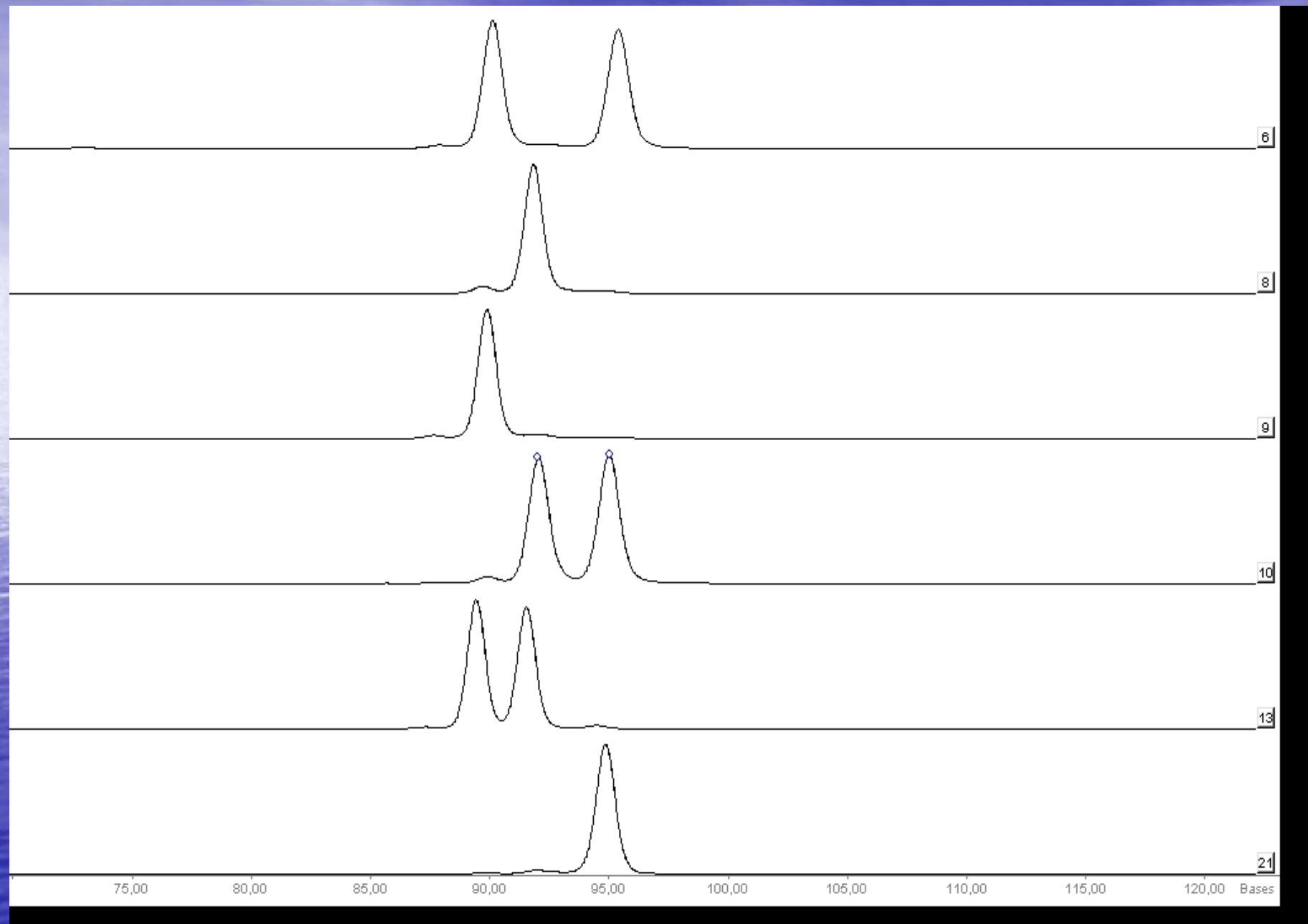
- Teljes genomikus DNS-kivonása:
 - Protein-kináz enzim
 - magas sókoncentráció, fenol, kloroform, izopropanol (Miller et al., 1988)
- DNS mennyiségi és minőségi vizsgálata (agaróz gélelektroforézis, spektrofotométer) hígítás, szükség esetén újbóli kivonás
- 80-150 ng/ml genomikus DNS

Anyag és módszer 3.

- 6 mikroszatellit DNS marker: MFW1, MFW4, MFW6, MFW7, MFW16, MFW28 (Crooijmans et al. 1997.)
- PCR:
 - első ciklus: 2 perc 94°C-on (denaturáció)
 - következő 30 ciklus : 40 másodperc 94°C-on (denaturáció), 50 másodperc 55°C-on (primer-annealing) és 90 másodperc 72°C-on (elongáció)
 - utolsó ciklus: 10 perc 72°C-on (*Taq* polymeráz terminális transzferáz-aktivitás)

Anyag és módszer 4.

- A PCR-termékek szétválasztása (7%-os poliakrilamid gél, 32% formamid, 5% karbamid) ALF Express II (Amersham Biosciences) fragmens-analizátoron
- A PCR-termékek méretének meghatározása:
 - molekulasúly-markerek (méret sztenderdek):
50,100,150,200,250,300,350,400,450,500 bp
 - ismert méretű standard minták
 - Fragment Analyser 1.03 (Amersham-Biosciences) szoftver



Anyag és módszer 5.

Adatelemzés

- Genepop (Raymond and Rousset, 1995): allélfrekvenciák, az allélok átlagos száma lókuszonként, H_e , H_o , eltérés a Hardy-Weinberg egyensúlytól (p értékek)
- Convert 1.31 (Glaubitz, 2004): egyedi allélek
- F-Stat (Goudet, 1995): fajtapáronkénti fixációs index (F_{st} - value), allélgazdagság (A_r – allelic richness)
- Populations (Langella, 1999): a fajták közötti Nei-féle genetikai távolság (Nei, 1972; Nei, 1978; Nei et al., 1983)

Anyag és módszer 6.

- Populations (Langella, 1999): dendrogramm (Neighbour Joining method- NJ)
- Treeview (Page, 1996): dendrogramm megjelenítése
- GeneClass (Piry és mtsai., 1999): besoroló teszt, self-classification, Bayesi módszer (Ranala és Mountain, 1997) (egyedi genotípusok vizsgálata, populációba való besorolás)

A large pile of fresh, silver fish, likely carp or similar species, with the word "Eredmények" overlaid in yellow text. The fish are densely packed, showing their scales and fins. The text is centered and written in a bold, sans-serif font.

Eredmények

Eredmények



Eredmények



Eredmények

A fajtákon belüli genetikai változatosság

Fajtánkénti
allélszám/lókusz
(egyedi allélek
száma)

- 6 lókusz: 90 allél
- allélszám/lókusz:
13(MFW28)-23(MFW1)

| Lókusz | Fajta | | | |
|----------|---------|--------------------|----------|---------------------|
| | Nasicei | Génbank Nasicei | Poljanai | Génbank Poljanai |
| MFW1 | 10 | 11 (3) | 10 (4) | 14 (4) |
| MFW4 | 10 (2) | 7 | 8 (1) | 13 (2) |
| MFW6 | 6 | 7 | 10 (3) | 10 (3) |
| MFW7 | 10 (2) | 9 (1) | 11 (1) | 13 (3) |
| MFW16 | 6 (1) | 11 (5) | 6 (1) | 14 (4) |
| MFW28 | 9 | 11 (1) | 13 (1) | 10 (1) |
| Σ | 51 (5) | 56 (10) | 58 (11) | 74 (17) |
| Átlag | 8,5 | 9,33 | 9,6 | 12,33 |

Eredmények

- A megfigyelt heterozigotitás-értékek (H_o):
6,66% (Poljana) és 93.3 % (génbank Poljana) között
- A legtöbb esetben a fajták szignifikánsan eltérnek a Hardy-Weinberg egyensúlytól
- Az átlagos megfigyelt heterozigotitás (mean H_o) minden fajta esetében alacsonyabb, mint az átlagos várt heterozigotitás (mean H_e) – beltenyésztettségre utaló jel!
- A besoroló teszt: 97.4% - ban sikeres (3 egyed kivételével)

Eredmények

Várt (He) és megfigyelt (Ho) heterozigozitás

| Nasicei | He | Ho |
|---------|-------|-------|
| MFW1 | 85,96 | 24,13 |
| MFW4 | 79,11 | 74,19 |
| MFW6 | 61,23 | 41,19 |
| MFW7 | 78,53 | 92 |
| MFW16 | 61,18 | 19,35 |
| MFW28 | 85,06 | 75 |
| Átlag | 75,18 | 54,31 |

| Génbank Nasicei | He | Ho |
|-----------------|-------|-------|
| MFW1 | 90,57 | 86,66 |
| MFW4 | 73,71 | 76 |
| MFW6 | 66,12 | 16 |
| MFW7 | 80,32 | 64 |
| MFW16 | 83,67 | 84 |
| MFW28 | 86,77 | 84 |
| Átlag | 80,19 | 68,44 |

Eredmények

Várt (He) és megfigyelt (Ho) heterozigozitás

| Poljanai | He | Ho |
|----------|-------|-------|
| MFW1 | 84,02 | 25 |
| MFW4 | 86,40 | 54,83 |
| MFW6 | 87,17 | 76,66 |
| MFW7 | 79,67 | 75,86 |
| MFW16 | 63,84 | 6,66 |
| MFW28 | 89,09 | 40 |
| Átlag | 81,69 | 46,50 |

| Génbank Poljanai | He | Ho |
|------------------|-------|-------|
| MFW1 | 88,64 | 63,33 |
| MFW4 | 88,58 | 93,33 |
| MFW6 | 80,15 | 20,68 |
| MFW7 | 88,53 | 86,66 |
| MFW16 | 86,27 | 26,66 |
| MFW28 | 82,66 | 72,72 |
| Átlag | 85,80 | 60,56 |

Allélgazdagság

- egy adott mintában található allélok száma a genetikai diverzitás alapvető mérőszáma
- mintaszám nagysága (kis mintaszám – kevés allél, nagy mintaszám – sok allél)
- statisztikai módszer a mintavételi különbségek kiegyenlítésére (rarefaction)
- objektív mérőszám: allélgazdagság (allelic richness)

Eredmények

Allélgazdagság

| | Fajta | | | |
|--------|---------|--------------------|----------|---------------------|
| | Nasicei | Génbank Nasicei | Poljanai | Génbank Poljanai |
| Lókusz | | | | |
| MFW1 | 8,7 | 11,0 | 8,5 | 11,1 |
| MFW4 | 7,3 | 6,1 | 7,4 | 10,7 |
| MFW6 | 5,6 | 5,4 | 8,6 | 7,5 |
| MFW7 | 7,8 | 7,5 | 9,1 | 10,6 |
| MFW16 | 4,6 | 9,4 | 4,4 | 10,6 |
| MFW28 | 7,8 | 9,5 | 10,4 | 8,5 |
| Átlag | 7,0 | 8,1 | 8,1 | 9,8 |

Fixációs index

Fixációs index (Fst):

- a populációk differenciáltságának mérőszáma
- a populáción belüli és a populációk közötti genetikai változatosságot hasonlítja össze
- genetikai polimorfizmus-adatokon alapul (SNP-k vagy mikroszatellitek)
- az F-statisztikák egyik fajtája
- Sewall Wright, 1920

Eredmények

Fst - értékek fajtapáronként

| | Nasicei | Poljanai | Génbank Poljanai | Génbank Nasicei |
|---------------------|---------|----------|---------------------|--------------------|
| Nasicei | 0 | * | ** | ** |
| Poljanai | 0,1066 | 0 | * | * |
| Génbank Poljanai | 0,1475 | 0,0786 | 0 | * |
| Génbank Nasicei | 0,1614 | 0,1097 | 0,0680 | 0 |

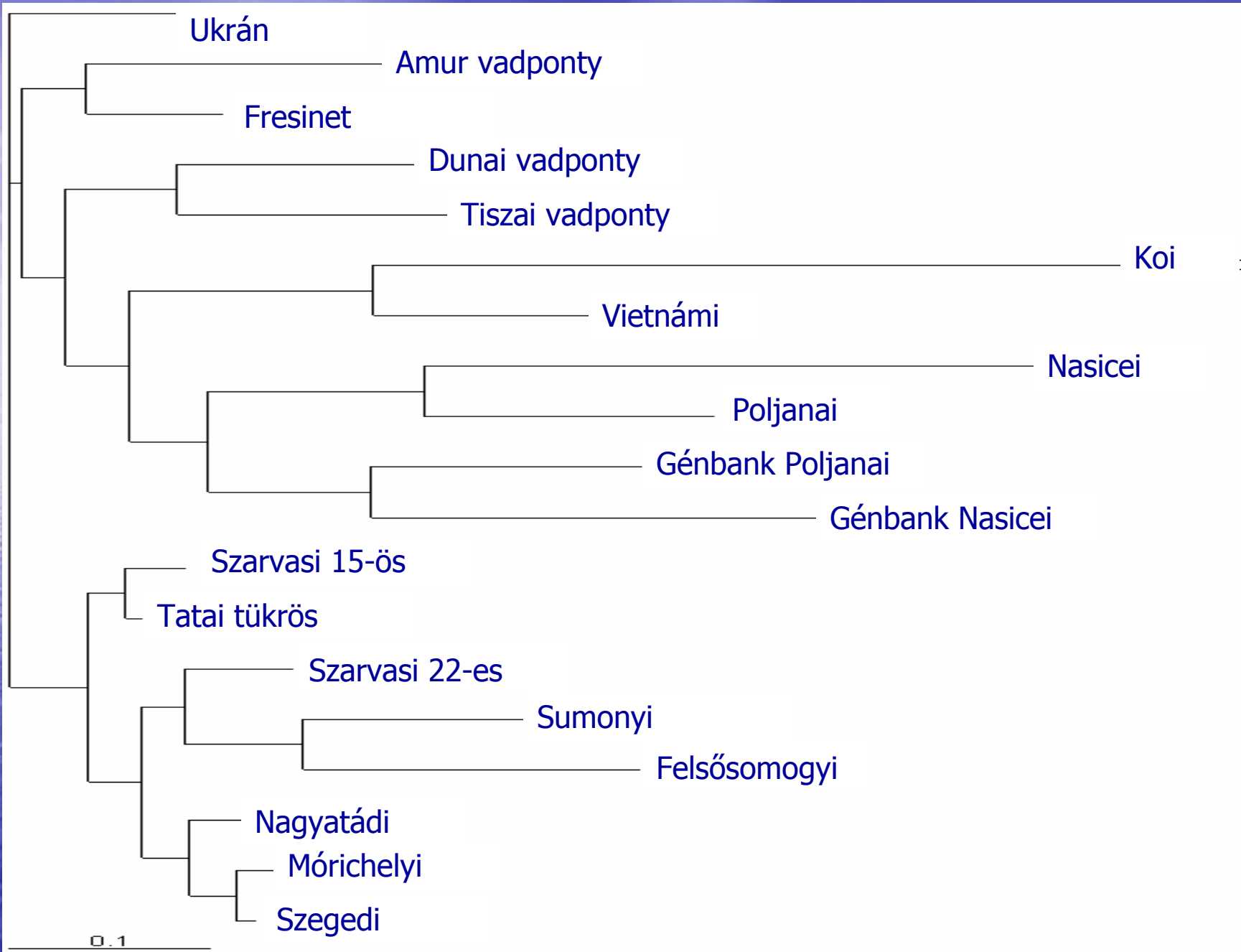
•*Szignifikáns 5%-os szinten

•** Szignifikáns 1%-os szinten

Eredmények

A fajták közötti genetikai távolság - értékek
(Nei-féle DA távolság)

| | Nasicei | Poljanai | Génbank Poljanai | Génbank Nasicei |
|---------------------|---------|----------|---------------------|--------------------|
| Nasicei | 0 | | | |
| Poljanai | 0,44 | 0 | | |
| Génbank Poljanai | 0,69 | 0,46 | 0 | |
| Génbank Nasicei | 0,67 | 0,57 | 0,38 | 0 |



Következtetések

- az összes vizsgált fajta beltenyésztett
- a HAKI génbankjából származó származó fajták változatosabbak
- a fajták genetikailag viszonylag távol állnak egymást
- a génbankban fenntartott fajták jól alkalmazhatóak visszatelepítési programokban
- a mikroszatellit markerek nagyon jól alkalmazhatóak a génmegőrzésben
- fontos a nemzetközi együttműködés

Köszönöm szépen a figyelmet!