

DIPLOMADOLGOZAT

DMITRASINOVITY ALEXANDRA
Mezőgazdasági biotechnológus mesterképzés

Gödöllő

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Mezőgazdasági Biotechnológus szak

**AZ ERDÉLYI TARKA PULYKA MOLEKULÁRIS
GENETIKAI VIZSGÁLATA MIKROSZATELLIT
MARKEREKKEL**

Belső konzulens: Balázs Réka
PhD hallgató

Külső konzulens: Dr. Pálincás-Bodzsár Nóra
tudományos főmunkatárs

Készítette: **Dmitrasinovity Alexandra**
Mezőgazdasági
Biotechnológus Msc.

Intézet/Tanszék: LEVELEZŐ tagozat
Genetika és Biotechnológiai
Intézet

Gödöllő

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	2
1. Bevezetés.....	3
1.1. Célkitűzés	4
2. Szakirodalmi áttekintés	5
2.1. A pulyka eredete, házasítása és elterjedése	5
2.2. A hazai pulykaállományok kialakulása és jellemzése	6
2.2.1. Bronzpulyka	9
2.2.2. Rézpulyka.....	11
2.2.3. Erdélyi tarka pulyka	12
2.3. Marker kutatás a baromfitenyésztésben	15
2.4. Mikroszatellit markerek.....	16
3. A vizsgálatok módszerei	18
3.1. A vizsgálatban részt vevő állományok, mintavétel	18
3.2. A DNS izolálása, minőségi és mennyiségi ellenőrzése	18
3.3. A vizsgált pulykaállományok genotipizálása mikroszatellit markerekkel	19
3.4. Az alkalmazott populációgenetikai statisztikai módszerek	23
4. Eredmények és értékelésük	25
4.1. A felhasznált mikroszatellit markerek alkalmassága a vizsgálatra	25
4.2. Populáción belüli genetikai diverzitás	27
4.3. <i>F</i> statisztika és genetikai távolság	28
4.4. Klaszteranalízis és főkoordináta elemzés	30
5. Következtetések és javaslatok.....	33
6. Összefoglalás.....	34
7. Köszönetnyilvánítás	35
8. Irodalomjegyzék.....	36
9. Táblázatok és ábrák jegyzéke.....	40
10. Mellékletek.....	41
1. A detektált allélméret (bp) és gyakoriságuk (%) az egyes vizsgált pulykapopulációkban.....	41
11. Nyilatkozat	42
TARTALMI KIVONAT	44

Rövidítések jegyzéke

bp	Bázispár
BP	Bronzpulyka
DNS	Dezoxi-ribonukleinsav
DW	Desztillált víz
EDTA	Etilén-diamin-tetraecetsav
ETP	Erdélyi tarka pulyka
NaCl	Nátrium-klorid
NH ₄ Cl	Ammónium-klorid
PCoA	Principal Coordinates Analysis (főkoordináta elemzés)
PIC	Polymorphism Information Content (polimorfizmus információ tartalom)
PCR	Polymerase Chain Reaction (polimeráz láncreakció)
QTL	Quantitative Trait Loci
RNS	Ribonukleinsav
RP	Rézpulyka
rpm	Rotations Per minute/ Percenkénti fordulatszám
SDS	Sodium dodecil sulfate
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (pontmutáció)
SSR	Single Sequence Repeat/ Egyszerű szekvencia ismétlődés
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	TRIS-Bórsav-EDTA puffer
TRIS	trisz (hidroxi-metil) -amino-metán

1. Bevezetés

„A génmegőrzés a jövő állattenyésztésének záloga”
(Dr. Liptói Krisztina)

A biodiverzitás, és ezen belül az agrobiodiverzitás drasztikus csökkenése világméretű probléma. A legtöbb országban, így a magyar mezőgazdaságban sem tudták felvenni a versenyt a csekélyebb termelőképességű őshonos fajták azokkal a kereskedelmi vonalakkal, melyeket az intenzív tartási technológiák igényeihez mérten hoztak létre. Az 1900-as évek elején a paraszti gazdálkodás háttérbe szorulásával egyetemben nagy arányban jelentek meg a külföldről származó nagy teljesítményű fajták, melynek következtében az őshonos állományok szinte teljesen eltűntek. Ma még génbankokban elérhetőek olyan ritka genotípusok, melyek nagy variabilitással, egyedülálló tulajdonságokkal rendelkeznek, és felhasználhatóak az intenzív tenyésztésben is.

Hazánk meghatározó szerepet tölt be napjainkban a génmegőrzés terén. Őshonos haszonállataink kiemelkedő értékűek, számos olyan ritka, egyedi génváltozattal rendelkezhetnek, melyeket a kereskedelmi fajták nélkülöznek, és fontosak lehetnek az adott fajta fennmaradása, illetve genetikai sokféleségének megőrzése szempontjából. Emellett egyre növekszik a kereslet a különleges minőségű baromfi termékek iránt, ami nemcsak eltérő technológiát, hanem alapvetően más, például a környezethez jól adaptálódó genotípusokat is igényel, mint a helyi, őshonos fajták (Crawford, 1990).

Magyarország jelenlegi határain kívül is, a Kárpát-medencében maradtak fent olyan állatállományok, melyek molekuláris genetikai módszerekkel bizonyíthatóan őshonos magyar fajtának tekinthetők. A Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézetének (NBGK-HGI) egyik programja a „Székely géngyűrű”. A génmentési program célja olyan régi fajták, tájfajták (marha, juh, baromfi) megmentése, melyek eredeti, ősi tulajdonságokat mutatnak, és a Kárpát-medencében szórványosan maradtak csak fent. Mind Székelyföldön, mind Magyarországon *in vivo* tenyészetek és génbanki állományok létrehozása és fenntartása zajlik a program keretein belül (Szalay, 2017).

1.1. Célkitűzés

Mivel a „Székely gényűrű” program egyik feladata az erdélyi tarka pulyka, mint fajta stabilizálása, és önálló fajtaként való elismertetése, ezért célul tűztem ki a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézete (NBGK-HGI) által fenntartott populáció molekuláris genetikai vizsgálatát mikroszatellit markerek alapján.

Összehasonlításba helyeztem az Erdélyből származó pulyka populációt az őshonos magyar bronz- és rézpulyka fajtákkal, mely során arra kerestem a választ, hogy az állományok milyen mértékben térnek el egymástól a genetika szintjén.

A tanulmányhoz szükséges vizsgálatokat az NBGK-HGI, Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési Osztálya genetika laboratóriumában végeztem el.

Eredményeim nagy segítséget nyújthatnak az erdélyi tarka pulyka önálló fajtaként való elismertetésének folyamatában.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A pulyka eredete, házasítása és elterjedése

A pulyka újvilági eredetét bizonyítja, hogy kizárólagosan az amerikai földrészen került elő olyan paleontológiai lelet, mely a pleisztocén, illetve holocén időszakban is előforduló pulykafélék alcsaládjába tartozó egyedekből származik. Jelenlegi ismereteink alapján a pulyka a tyúkalakúak rendjébe (*Galliformes*), a valódi tyúkfélék alrendjébe (*Galli*), a fácánfélék családjába (*Phasianidae*), a pulykafélék alcsaládjába (*Meleagridinae*) és a *Meleagris* nembe tartozik. A vadpulykaként emlegetett *Meleagris gallopavo* a *Meleagris* nemzetség névadója, melyen belül a legújabb állatrendszertani tanulmányok hét alfajt tartanak számon:

1. *Meleagris gallopavo gallopavo* (Mexikói pulyka)
2. *Meleagris gallopavo silvestris* (Kelet-Amerikai pulyka)
3. *Meleagris gallopavo intermedia* (Rio Grandei pulyka)
4. *Meleagris gallopavo mexicana* (Gould-féle pulyka)
5. *Meleagris gallopavo osceola* (Floridai pulyka)
6. *Meleagris gallopavo merriami* (Merriami pulyka)
7. *Meleagris gallopavo onusta* (Moore-féle pulyka)

Annak ellenére, hogy irodalmi adatok alapján az Európában is elterjedt házi pulyka a mexikói vadpulykától (*Meleagris gallopavo gallopavo*) származik, mégis azt feltételezik, hogy a különböző fajtaváltozatok kialakulásában más vad alfajok is közreműködtek. Már korábban is felfedezték, hogy az amerikai farmerek a házasított pulykákat keresztezték a vadpulykával, az utódok életképességének és ellenálló-képességének növelése érdekében (Csukás, 1955).

Az őslakosok által történő tudatos keresztezéseknek köszönhetően az állományok elvesztették korábbi jellegzetes feketés megjelenésüket, méretüket tekintve nagyobbak lettek, színben pedig a keleti vadpulyka (*Meleagris gallopavo silvestris*) jellegzetes bronzos tollazatát mutatták (Bogenfürst et al. 2011).

A pulyka domesztikációjának lehetséges módjáról több elképzelés szóba jöhet. Az egyik elképzelés szerint Amerika felfedezését követően spanyol papok a vadpulykát megszelídítették, háziállatként tartották, majd a Földközi-tenger partvidékére került. Egy másik elmélet szerint a kontinenst felfedező a pulykát Közép-Amerikában már szelídítve találták, tehát a házasítást vélhetően a mexikóiak végezték, ugyanis számukra a pulyka volt a legfontosabb húsforrás. Szemben az előzőkkel, a harmadik hipotézis egy XX. századi megfigyelésen alapul, mely szerint a pulyka öndomesztikáció révén került az ember környezetébe (Petneházy, 2011).

Többfajta elmélet kering arra vonatkozólag is, hogy miként került a pulyka őse Európába, a legkorábbra datálható, mely szerint a pulyka már az Újvilág felfedezése előtt megjelent Európában. A X-XII. századi alföldi sírok feltárásánál talált pecsétgyűrűkön ugyanis több esetben is megjelenik a pulyka motívuma (Bökönyi & Jánossy, 1958).

Az egyik legérdekesebb bizonyíték Mátyás király nevéhez kötődik, aki uralkodásának végén meg akarta honosítani a pulykát Magyarországon. 1490-ben levelet írt a milánói hercegnek, melyben sürgette a kért pulykák, és a hozzájuk értő ember érkezését. Mátyás király azonban két évvel korábban halt meg, mint Amerika felfedezése megtörtént (Csánky, 1883).

A legelterjedtebb az az elmélet, hogy Amerika felfedezését követően hurcolták be a kontinensre az eleinte tolláért, sarkantyújáért és csontjáért domesztikált, később a legfontosabb húsforrásként számon tartott szárnyasokat. Eszerint eleinte a spanyol partoknál, majd később egész Európában megjelentek a domesztikált szárnyasok, melyek sok festőt is megihlettek, számos ábrázoláson és festményen feltűntek (Sütő & Mihók, 2006).

A XVI. században a törökök által Magyarországon is megjelent az indiai tyúkként emlegetett rézpulyka, mely kiváltképp jól viselte a parlagi körülményeket, betegségekkel szemben ellenálló, kiváló élelemkereső képességével a középkori majorságok legfontosabb állata lett. Az uradalmakban és majorságokban hagyományosan a nők feladata volt a pulykák tartása és őrzése, melyért külön díjazásban részesültek. A tojás- és húseladásból származó bevételt pedig saját szükségleteikre fordíthatták (Orbán, 2015).

A pulykahús egyre növekvő népszerűségével a negyedik fő élelmiszer- és fehérjeforrás lett, mind az Egyesült Államokban, mind az európai országokban (Dalloul et al. 2014).

A külterjes tartásmód ellenére évente 20-30 tojást is rakó szárnyasok - újvilági rokonaikhoz hasonlóan - a szabad ég alatt faágon aludtak, és a XVII. századra fokozatosan felváltották a pávát az európai elit asztalán (Múlt Kor Történelmi Magazin, 2013: <https://multkor.hu/20131128/a-pulyka-kulturtortenete-az-aztekoktol-a-halaadasig?fbrkMR=desktop&pIdx=2>).

2.2. A hazai pulykaállományok kialakulása és jellemzése

Audubon megfigyelései szerint a vadpulykák április közepén kezdtek fészket építeni, igyekeztek olyan helyet keresni, ahol az a lehető legjobban rejtve maradtak a ragadozók elől. A fészket a földre, egy kikapart üregbe, kidőlt farönkök mellé, bokrok alá rakták. Általában 10-15 db halvány krémszínű tojást tojt, melyeket olyan nagymértékben óvott, hogy kétszer nem

járta be ugyanazt az utat a fészek felé, elhagyáskor pedig gondosan letakarta a tojásokat levelekkel. Kotlási hajlamuk és kiváló anyai gondoskodásuk a mai pulykákban is fellelhetők (Burke & Dennison, 1980).

1. ábra: Vadpulyka

(forrás: <https://www.audubon.org/birds-of-america/wild-turkey>)



Bár a házi madarak megőrizték vadon élő rokonaik sok jellemzőjét, alapvető különbségek azért vannak. A házi pulykák túlnyomó többsége nagyon kis létszámú törzsből származik, a legtöbb teljesen fehér tollazatú, bár néhányan megőrizték a vad típust, foltos megjelenést. Talán a legszembeütőbb különbség a vad és a házi pulyka közötti viselkedés az utóbbi röpképtelensége, valószínűleg a test szerkezetének időbeli változása miatt (Audubon, 1830).

Az őshonos magyar baromfifajták őseink által a letelepedéskor behurcolt különféle baromfitípusok keveredéséből alakultak ki, kiválóan alkalmazkodtak a Kárpát-medence környezeti feltételeihez, ezáltal az idők során hazai fajtákká váltak. Az egyes baromfifajok parlagi változatai, így a magyar parlagi pulyka is, jelentős szerepet játszott a magyar gazdálkodás, kultúra, valamint a hagyományok terén. Magas húsminőségével külföldön is kedvelt árucikknek számított, mindemellett kiváló élelemkereső, kotlási hajlamú és nevelő baromfiféle. A Duna-Tisza közén a magyar parlagi pulyka két színváltozata terjedt el, a fekete és a fehér, melyek mostanra azonban szinte teljesen eltűntek (Szalay, 2015).

A fehér pulyka jellegzetességei voltak az ún. marabutollak, melyet régen nagyra becsült áruként tartottak számon. A fekete magyar pulyka testsúlya kisebb és gyengébb tollhasznosítású volt fehér rokonánál, így az lassan elkezdte kiszorítani a fekete változatot, mely szinte teljesen eltűnt. Jelenleg a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centruma gondozásában

tartanak fenn egy kisebb méretű populációt génmegőrzés céljából. A XX. század elején érkezett szintén Amerikából hazánkba a bronzpulyka, mely fokozatos elterjedésével ugyancsak nem kedvezett a kisebb testű parlagi változatok fennmaradásának (Szalay, 2015).

A pulykák nemzetségét a fácánok egyik újvilági ága alkotja, különös ismertetőjegyük, hogy a fej és a nyak felső része tollatlan. A pulyka kétségkívül a mai napig a legnagyobb méretű háziszarvas, szárnyfesztávolsága 1,5-1,8 méter is lehet (Aslam, 2012).

Teste hosszúkás, tojás alakú, lefelé keskenyedő. A fej széles, húsos, színe vörös, helyenként kékes bibircsekkkel. A bak feje, valamint a nyakának felső része tollatlan. A csőr görbült, erős tövű, mely felett szarv alakú húskepződmény látható, mely az állat ingerült állapotában hosszúra nyúlik, és a csőről ormányként lóg. A szem élénk, a nyaklebeny nagy. Hosszú hátranyúló nyak, széles, mély és telt mell jellemzi, melyen a szőrpamacs rendkívül hosszú, sörteszerű és elálló. A hát rövid és széles, a farok felé lejt. Szárnyai nagyok, törzshöz simulók, melyek a bak izgalmi állapotában a földet söprik. A farok normál állapotban leeresztett, izgalmi állapotban legyező alakú. A comb hosszú, izmos, a lábszár vastag, erős. Testtartása egyenes, tollazata merev és fényes (Szalay, 2015).

2.2.1. Bronzpulyka

A bronzpulyka (2. ábra), nevét feszes, testhez simuló tollazatáról kapta, mely jellegzetes vöröses-zöldes árnyalata bronzszínben pompázik (Bogenfürst et al. 2011).

2. ábra: Bronzpulyka kakas

(forrás: <https://farm.tomathouse.com/indyuki/porody.html>)



A bronzpulykát Angliában tenyésztették ki a húsmínőség javítása érdekében, azonban megtartva a fajra jellemző tulajdonságokat, többek között az élelemkereső képességét. Magyarországon a bronzpulyka a legkorábban kitenyésztett pulykafajták közé tartozik, ugyanis már az 1800-as években fajtatiszta tenyésztési céllal került a Kárpát-medencébe (Debreceni Egyetem, 2023: Bronzpulyka – <https://akit.unideb.hu/sites/default/files/2023-03/Bronzpulyka.pdf>). Szerepe inkább a második világháború után lett jelentős, ugyanis a szaporítás mellett felhasználták a kisebb testű magyar parlagi pulykaállományok értékmérő tulajdonságainak feljavítására is (Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete, 2009: Tenyésztési program – A bronzpulyka http://www.mgehu.com/WEBSET_DOWNLOADS/526/A%20bronzpulyka_%C3%BAj%20teny%C3%A9szt%C3%A9si%20program_MGE_2009.pdf).

Az 1960-as évek elejéig közkedvelt haszonbaromfi volt, edzett és nagy ellenálló képességű állományai nem igényeltek beltéri tartást, a tarlókon megkeresték élelmüket, mely

főként rovarokból és magvakból állt. Olykor messzire elkóboroltak, hatalmas területet bejártak élelem után kutatva, így szinte teljesen elhagyták a szemestakarmány-kiegészítést. Kiválóan alkalmasak voltak a növények védelmére, ugyanis szívesen fogyasztottak répabarkót, burgonyabogarat. A kora őszi vegetációváltozást is jól tűrték, az érett gyümölcsöket sem vetették meg, mint a kökény és a szőlő, azonban a vágásra szánt állatokat intenzívebb hízalásra fogták. A pulykák 6-8 hónapos korban váltak ivaréretté, és a következő évben 45-50 pettyezett tojást is rakhattak (Bogenfurst et al. 2011).

Biogazdálkodásra alkalmas fajta, génmegőrzése fontos feladat, kiváló húsminőséggel rendelkezik, melynek szárazanyagtartalma magas, ízletes, könnyebben emészthető, ezáltal táplálkozásbiológiailag is jótékony hatású (Debreceni Egyetem, 2023: Bronzpulyka – <https://akit.unideb.hu/sites/default/files/2023-03/Bronzpulyka.pdf>).

A fej széles, húsos, élénkvörös, a csőr sötét tövű, a vége világosabb szaru színű, felette szarv alakú húsképződmény, mely izgalmi állapotban vérvörös, kékes, vagy ibolyaszínű, az idősebb tojóknál is megjelenik, azonban kisebb. A szem élénk, sárgás- sötét- vagy mogyoróbarna. A törzs hosszúkás, tojásdad alakú, a farok szintén hosszú, majdnem földig érő, udvarlaskor a kakasoké legyező alakú. A láb szürkés, a fiatal egyedeké barna, a körmök szaruszínűek. A tollazat élénk, csillogó, a kakasok színe élénk, a hát világos bronzszínű, a mell, szárny és farok tollak kékesfeketék, a farok tollak vége fehéren szegélyezett pántban végződik. A hímek súlya elérheti a 8 kg-ot is, a tojók súlya kisebb 5-6 kg, a tojáshozam 50-80 db évente (Szalay, 2015).

A régi magyar baromfifajták külön-külön is hungarikumnak tekinthetők, nem kevésbé a termékeik. A HU-BA pulykára fajtakísérlet is történt, ahol megfigyelték, hogy a génbankban tartott állományok közül a bronzpulyka tojástermelése jobb, mint a rézpulykéé. A kísérlet során a tojások keltethetősége jobbnak bizonyult a bronzpulyka kakas és rézpulyka tojó párosítás esetében, de a rézpulyka gyengébb tojástermelése végett az kevesebb utódot eredményezett (Szalay & Kovácsné, 2008).

Annak ellenére, hogy a bronzpulyka kiszorította a kisebb testű parlagi fajtákat, azok tulajdonságait hordozza, államilag elismert, védett, őshonos mezőgazdasági haszonállatfajta, melyet két kisebb génbankban tartanak fent hazánkban, a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központban, és a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumában.

2.2.2. Rézpulyka

A rézpulykát (3. ábra) elsősorban Boszniában tenyésztették, emiatt gyakran „bosnyák pulykaként” is emlegetik. Keresett árucikknek számított a piacokon, edzettségét és igénytelenségét jól tükrözi, hogy lábon hajtották a piacra. Mindemellett kitűnő élelemkereső, szorgalmasan kotló, betegségekkel szemben ellenálló fajtaként tartják számon. Gyom- és kártevő mentesítésre tökéletesen alkalmas fajta, ízletes húsa miatt méltó helye lehetne a kiváló magyar élelmiszerek sorában (Szalay, 2015).

3. ábra: Rézpulyka kakas

(forrás: <https://www.agronaplo.hu/20240202/porognek-a-termelok-jol-megugrott-ezeknek-az-allatoknak-a-szama-itthon-4716>)



A rézpulykát domború koponya, széles, húsos, vörös kékes bibircsekkal borított fej jellemzi. A csőr sötét tövű, a vége világosabb szaruszínű, felette szarv alakú húsképződmény, mely izgalmi állapotban vérvörös, kékes, vagy ibolyaszínű, az idősebb tojóknál is megjelenik, azonban kisebb. A szem élénk, mogyoróbarna. A törzs hosszú, tojásdad alakú vége felé elkeskenyedő, szárnya törzshöz simuló, mely a kakasok izgalmi állapotában a földig ér. A kakasok farka udvarlaskor legyező alakú, nyugalmi állapotban szintén a földig ér. A láb hosszú, izmos, színe hússzínű, erős egyenes lábujjakkal. A kakasok tollazatának színe sötét rézvörös, a szárnyfedő és a farok tollak fehéresek, a tojó színe a kakasokénál világosabb. A kakasok súlya elérheti a 7 kg-ot is, a tojók súlya kisebb, 4-5 kg. Tojáshozama évente 30-40 db, a tavaszi tojóidőszakot követően a nyár folyamán rendszerint másodszor is tojnak és kotlanak (Szalay, 2015).

Magyarországon 1998-tól regisztrált, őshonos fajta, 2023-ban a biológiai sokféleség világnapján az év használlata volt. Kizárólag génmegőrzési céllal fenntartott állományai a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ mellett a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumában lelhetőek fel, valamint 2007-től Apajpusztán tartanak fent elitállományt. Létszámuk kritikus szinten van, a törzskönyvezett tojók száma nem éri el az 500-at, ezért védelmük napjainkban különösen fontos (Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete, 2009: A rézpulyka tenyésztési programja: http://www.mgegodollo.hu/WEBSET_DOWNLOADS/526/A%20r%C3%A9zpulyka_%C3%BAj%20teny%C3%A9szt%C3%A9si%20program_MGE_2009.pdf).

2.2.3. Erdélyi tarka pulyka

A pulyka magyar parlagi változatai fekete és fehérek voltak, így az is elképzelhető, hogy az erdélyi tarka pulyka (4. ábra) a kettő korábbi változat keveréke lehet, küllemét tekintve. Egy 1950-ben megjelent német magazin címlapján is feltűnik egy fenotípusában hasonló állat, így az sem kizárt, hogy német telepések által került Székelyföldre (Magyar Mezőgazdaság, 2022: <https://magyarmezogazdasag.hu/2022/12/31/erdelybol-erkezik-regi-uj-magyar-pulykafajta/>).

4. ábra: Erdélyi tarka pulyka kakas
(forrás: saját fotó)



A pulyka első erdélyi említése 1642-ből származik, I. Rákóczi György idejéből, azonban csak a későbbi időkben nőtt meg a kereslet és az érdeklődés iránta. Erdélyben az 1880–1945 közötti időben pulykát csak a nagybirtokokon tenyésztettek, kisparaszti tartása egészen jelentéktelen volt. Az erdélyiek a pulykákat nem fajták, hanem színek szerint különböztették meg: fehér, fekete, háromszínű vagy tarka, cirmos (vörhenyes fehér), téglás (bronzszínű). A pulykákat korábban tágas mezőn, vagy tarlón tartották, a zárt helyeket nem kedveli, az ősi mexikói pulykához hasonlóan az éjszakát a fákon töltik a magasban, ezért Székelyföldön a szárnytolakat sem vágták le. Marosvásárhelyen közkedvelt volt a fehér és tarka pulyka, egyes gazdaságok akár 100-300 egyedből álló létszámban is tartották. Az idő előrehaladtával már kedvelt fogás volt a lakomákon, piacon való értékesítésük okán elérhették a 12 kilós súlyt is. Kedvelt háziállatnak számított, ugyanis nyáron megkereste az élelmét a tanyák körül, a veteményesekben pedig más állatokkal ellentétben nem okozott kárt. Sajnálatos módon, ahogy a többi országban, úgy Erdélyben is a pulykákat húsup miatt tartották, ennél fogva a tarka pulykákat apránként felváltotta az Amerikában erre a célra kitenyésztett bronzpulyka. Korábban említésre került, hogy a mai kor húsigényét csak a szuperintenzív tartású húshibridek tudják kielégíteni, azonban génmegőrzési szempontból ez a tartástechnológia nem kedvez az egyre ritkábban fellelhető egyedi génváltozatokat hordozó erdélyi tarka pulykáknak. Igaz, hogy a korábban kedvelt „paraszt” pulykák meg sem közelítik tömegben a modern hibrideket, azonban a fent felsoroltakon kívül jellegzetes vadas ízükkel, és nem utolsósorban csodálatos megjelenésükkel magasan felülmúlják a ma kizárólag árutermelői célt szolgáló állományokét (Szalay, 2017).

Parlagi fajta lévén az erdélyi tarka pulyka betegségekkel szemben ellenálló, kotlási hajlama kiemelkedő, kiváló élelemkereső, így kora tavasztól őszi takarmányozásra nincs szüksége. A kakasok természete vehemens, termékenyítőképessége kimagasló, a tojó spermatárolási képességének köszönhetően pedig egyetlen párzás után akár 40 napig is képes termékeny tojást tojni. Érett vörös húsnak minősége egyedülálló, növekedési erélye jóval kisebb, mint az árutermelő hibrid fajtáknak, 16 hetes korra éri el a vágásérettséget. Zamatos húsa miatt a legmagasabb minősítést nyerte el a hozzáértők véleménye alapján. Ahhoz, hogy az erdélyi tarka pulyka őshonos állatként szerepelhessen a bronz- és rézpulyka mellett, meg kell felelni bizonyos jogszabályi követelményeknek. Az állami támogatásnak köszönhetően már nemcsak Erdélyben, hanem Magyarországon, Valkón is létrehoztak egy telepet, ugyanis a fajtaelismerés egyik alapfeltétele a 250 db tojó megléte. Jelenleg a kis létszámú állomány miatt intenzív szelekcióra nincs lehetőség, a tojók maradnak, és a családtenyésztés során egy-egy

családba csak a kifejezetten jellegzetes fenotípusos tulajdonságokat mutató kakasokat sorolják (<https://magyarmezogazdasag.hu/2022/12/31/erdelybol-erkezik-regi-uj-magyar-pulykafajta/>).

Az erdélyi tarka pulyka gyűjtése, és a tenyészetek kialakítása 2014-ben kezdődött a gödöllői NBGK-HGI jogelődje, a Haszonállat- és Génmegőrzési Központ munkatársai és a homoródalmási Dr. Köbölkuti Lóránd segítségével, aki többek között az erdélyi tarka pulyka tenyésztésével, valamint nukleusz állományának kialakításával foglalkozik. A gödöllői Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete 2016-ban hét Hargita és egy Kovászna megyei településéről szerzett be 54 erdélyi tarka pulyka egyedet, melyből 4 tenyészcsaládot hozott létre annak érdekében, hogy ez a genetikai állomány alapul szolgáljon majd egy későbbi fajtaelismeréshez. Számos falut és eldugott tanyát kellett felkeresni, a tojásokat a lehető legtöbb helyről begyűjteni - az esetleges beltenyésztés elkerülése miatt - egy szaporodóképes állomány létrehozásához (Szalay, 2017).

A fej hosszú és széles, húsos, vörös, helyenként kékesbe játszó, bibircsekkel fedett. A koponya domború. A kakas feje, valamint nyakának felső része tollatlan. Görbült csőre töve erős, világos szaruszínű, felette szarv alakú húsképződmény, mely a kakas ingerült állapotában megnyúlik, vérvörös, kékesfehér, majd ibolyaszínű ormányként csüng, a tojóknál ez a képződmény kisebb. A szem élénk, sötét krémszínű. Hosszú, farok felé ívelő nyaka felső 15-18 cm-es része tollatlan, hátul teljesen, elől pedig részlegesen húsdudoros. A törzs hosszú, közepén mély, gömbölyű, elől szintén mély és telt a mell, melyen a kakasoknál hosszú, sörteszerű szörpamacs található. A hát a nyaktól a hát közepéig emelkedő, utána a farok felé lejt. A szárnyak törzshöz simulók, terjedelmesek, a kakas izgalmi állapotában a földet söprik. A farok udvarlaskor legyező állapotú, nyugalmi helyzetben hosszú, leeresztett. Az alsó comb hosszú, a lábszár erős és vastag, hússzínű, a lábujjak egyenesek. Tollazat fényes, merev, alapvetően három színből áll, fehér alapon a fekete és a barna különböző árnyalatai. A kakas súlya 6-9 kg, a tojó valamivel kisebb, 4-6 kg. A fajtaelismertetéshez szükséges biológiai és termelési paraméterek (testtömeg gyarapodás, tojástermelés, termékenységi adatok, kelési százalék, stb.) pontos meghatározása folyamatban van (Szalay, 2017).

2.3. Markerkutató a baromfitenyésztésben

Az állattenyésztési genetika egyik fő célja a termelési értékmérők kialakulásában fontos szerepet játszó gének, genváltozatok markereinek kutatása és felhasználása. A fenotípusos jegyeken kívül nehéz meghatározni egy-egy populáció genetikai értékét, azaz hogy mennyire tekinthetők egyedinek, és térnek el más genotípusoktól. Baromfi esetében egy-egy egyed értéke is sokkal kisebb más haszonállatokéhoz képest. Az utóbbi években óriási fejlődés figyelhető meg a markerkutató területén. Évek óta elérhetőek azok a nagy áteresztőképességű módszertani és bioinformatikai rendszerek (rész/teljes genom szekvenálása, SNP chip), melyek igencsak megnövelték a feltárt DNS markerek számát (Pálkás-Bodzsár et al. 2021). Például tyúk esetében a máig azonosított QTL-ek (Quantitative Trait Loci) száma meghaladja a 18.000-et, melyek csaknem 470 tulajdonságot (termelési, fenotípusos, egészségi, szaporodási, fiziológias) reprezentálnak (Hu et al. 2019: <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/GG/index>).

Genetikailag megkülönböztetünk monogénes és poligénes tulajdonságokat. A monogénes tulajdonságokat egyetlen gén szabályozza, ezek a mendeli öröklődés mintáját követik, így például a tollazat színe, vagy a csupasz nyak. A poligénes, vagyis több gén által szabályozott tulajdonságok nem követik a mendeli öröklődést, azonban számos, gazdaságilag jelentős tulajdonságot határoznak meg, úgymint a növekedési erély, húsminőség, és a szaporodással kapcsolatos tulajdonságok. Feltérképezése összetett, mivel ezeket több lokusz is befolyásolhatja (Aslam, 2012).

Megemlítendő, hogy a teljes genomot lefedő SNP vizsgálatok eredményei csak megfelelő validálást követően használhatóak fel a gyakorlatban, a genotípus-környezet interakció, és az epigenetikus hatásokat figyelembe vételével (Allais et al. 2019; Moreira et al. 2019; Perini et al. 2021). Baromfi esetében ez több problémába is ütközik, hiszen esetünkben rövid a generációs intervallum, és a detektált markereket erősen befolyásolják a környezeti hatások, leginkább egy-egy populációra vonatkoznak. Nagy segítséget nyújtanak ebben a modern SNP technikák, hiszen rövid idő alatt nagy részletességgel térképezik fel a genom egyes területeit (Beuzen et al. 2000). A mikroszatellit markerek ugyan nem adnak olyan mély betekintést, mint ezek a módszerek, ám a genetikai diverzitást és annak változásait nagyon jól jelzik, mely a génmegőrzésben kulcsfontosságú (Pálkás-Bodzsár et al. 2020).

2.4. Mikroszatellit markerek

A mikroszatellitek az öröklődő genetikai változatok egyik típusa, amelyek a genom kódoló és nem kódoló részein is megtalálhatóak. A természetesen előforduló mikroszatellitek a genom kb. 3%-át alkotják, lehetnek a centromerben, a telomerikus és heterokromatikus állományban is (Bakos et al. 2008).

Rövid, ismétlődő, 1-6 bp hosszúságú DNS szakaszokból állnak, a leggyakoribbak a dinukleotid ismétlődések, például a CA/TG és a CT/AG szekvenciák. Magas mutációs ráta jellemzi őket (tízszereze az SNP mutációs rátájának), aminek következtében az ismétlődő egységek száma változhat a következő generációk során (Roher et al. 1994).

A mikroszatellitek evolúcióját különféle mutációk hajtják előre. A hosszmutáció az ismétlődő szekvenciák hosszának változását okozza azáltal, hogy az ismétlődő egységek száma nő, vagy csökken. Ennek eredményeként az ismétlődő szekvenciák hossza változékonny lehet, mely a replikációs csúszásból eredhet, ami a mutáció és genetikai változatosság forrása. Ezzel szemben a pontmutációk feldarabolják a hosszú ismétlődéses szakaszokat rövidebbre, ezért a mikroszatellitek nem végtelen hosszúságúak. Nagymértékű polimorfizmusuknak köszönhetően a mikroszatellitek kiválóan alkalmasak a genetikai variabilitás vizsgálatára, hiszen az ismétlődő egységek változékonysága lehetővé teszi az egyedek és populációk közötti genetikai hasonlóságok/különbségek kimutatását (Buchanan et al. 1994).

A mikroszatellitek a genetikai markerek II. típusú csoportjába tartoznak, melyek olyan faj specifikus DNS markerek, amik nagyfokú polimorfizmust mutatnak. Mivel a DNS szakasz fehérjéket nem kódoló régiókban helyezkednek el (neutrális markerek), nem hat rájuk a szelekciós nyomás, nagy számuk miatt viszont géntérképezésre (O'Brien, 1991), az egyes állományok közötti genetikai különbségek kimutatására használhatóak (Zhou & Lamont 1999). Hosszúságuk alapján megkülönböztetünk, midi-, mini- és mikroszatellitek. Ezek a repetitív szekvenciák egyszerűen izolálhatók vérből, vagy szövetből, így PCR reakcióval felamplifikálhatóak, és különböző eljárásokkal detektálhatóak (Bruford & Wayne, 1993).

A mikroszatellitek előnye, hogy kodomináns öröklődésűek, tehát egy lókuszon heterozigóta allélok is kimutathatók, hátrányuk azonban, hogy a tervezés során a vizsgálni kívánt genomot szekvenciaszinten kell ismerni a primerpárok alkalmazhatósága végett. A kettő, vagy több primerpárt alkalmazó technika a multiplex PCR, költséghatékonysága ismert, azonban a több primer egy időben való alkalmazása nehézségekbe ütközhet, ha nem megfelelően kerülnek optimalizálásra. A mikroszatellitek egyenletes eloszlása a genomban, kiváló alternatíva a géntérképezéshez, illetve a fajták közötti genetikai összehasonlításokhoz.

Számos genetikai vizsgálat során alkalmazhatóak, genomkarakterizálás, származásellenőrzés, genetikai távolság becslése, vagy rokonsági kapcsolatok vizsgálata (Crawford et al. 1991, Bodzsár 2012).

3. A vizsgálatok módszerei

3.1. A vizsgálatban részt vevő állományok, mintavétel

A vizsgálatban két őshonos magyar pulykafajta, a bronz- és a rézpulyka, valamint a fajtaelismerés előtt álló erdélyi tarka pulyka állomány vett részt. Az állatokat zárt populációban tartja fenn a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat- génmegőrzési Intézete Gödöllőn.

A réz- és bronzpulyka esetén 32-32 egyed, az erdélyi tarka pulykánál 40 egyed szárnyvénájából gyűjtött vérmintát használtam fel a munka során. Véralvadásgátló gyanánt nátrium-citrát oldatot alkalmaztam 1:1 arányban.

3.2. A DNS izolálása, minőségi és mennyiségi ellenőrzése

A DNS izolálást a hagyományos kisózásos módszer (Miller et al. 1988) madárra módosított protokollja (Bodzsar et al. 2009) alapján végeztem el összesen 104 egyedből. 1000 µl sejt lízis oldathoz (0,15 M NH₄Cl, 0,01 M KHCO₃, 1 mM EDTA, pH 7,4) 5-5 µl vért adtam, átforgatva homogenizáltam azt, majd 1 órán át 37 °C-on inkubáltam és 2 percig centrifugáltam (13000 rpm, 20 °C) (5. ábra). A felülúszó leszívása után 1000 µl sejt lízisben ismét átmosásra kerültek a minták, majd újabb centrifugálás következett az előbb említett módon. A felülúszó eltávolítását követően a csapadékot vortexeltem, majd hozzámértem 300 µl nukleo lízis oldatot (1 M Tris-HCl, 0.4 M NaCl, 1 mM EDTA, pH 8,2) és 20 µl 10%-os SDS-t. A csövek átforgatása után 37 °C-on 30 percig inkubáltam a mintákat, majd hozzáadtam 100 µl túltelített (6 M) NaCl-ot, melyet 20 mp vortexelés és újabb centrifugálás követett 10 percig (13000 rpm, 20 °C). A 0,6 ml-es eppendorf csöveket feliratoztam, majd belemértem 300 µl isopropanolt, és hozzáadtam 300 µl-t a felülúszóból. A csöveket óvatosan átforgattam, amíg a DNS szabad szemmel is láthatóvá vált, majd ismét centrifugáltam 13000 rpm-en 2 percig 20 °C-on. A felülúszó leszívását követően 500 µl 70%-os etil-alkohollal történt a DNS mosása, melyet még kétszer ismételtem. Az utolsó lépésben eltávolítottam róla az etanolt, majd teljes beszáradást követően 100 µl TE (TRIS-EDTA) oldatban oldottam vissza a DNS-t 37 °C-on overnight.

A DNS izolálása után a minták koncentrációját és tisztaságát vizsgáltam meg NanoDrop 2000c Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific) készülék használatával. Minden minta megfelelő minőségű, és a vizsgálatához elegendő mennyiségű DNS-t tartalmazott, így ismétlésre nem volt szükség. A későbbi munkafolyamat megkönnyítése érdekében a DNS mintákat egalizáltam, egységes koncentrációra (5 ng/µl) hígítottam.

5. ábra: DNS izolálás pulyka vérből
(forrás: saját fotó)



3.3. A vizsgált pulykaállományok genotipizálása mikroszatellit markerekkel

A munkához felhasznált 13 mikroszatellit marker polimorfizmus információ tartalma alapján került kiválasztásra a szakirodalomból (Reed et al. 2002, Dranchak et al. 2003).

A vizsgálat idő- és költséghatékonyabbá tétele érdekében az eredeti fluoreszcens primerek helyett, úgynevezett farkas (tailed) primereket alkalmaztam (Blacket et al. 2012). Ennek lényege, hogy nem közvetlenül jelölt primerekkel dolgoztam, hanem azok forward szekvenciáinak 5' vége elé különböző, vagy azonos szekvenciákat, de eltérő fluoreszcens jelöléssel illesztettem (WELL-RED festékek: D2, D3, D4). Így a megfelelő optimalizálással különböző marker szettek alakítottam ki PCR reakciókon belüli multiplexálással és/vagy a PCR termékek poolozásával a fragmens analízis során. Vagyis egyidejűleg több markerrel végeztem el a genotipizálást (1. táblázat). Munkámban két különböző farkas szekvenciát használtam eltérő jelölésekkel. A Tail A – D2 (fekete) és a Tail C – D4 (kék) univerzális primerek szekvenciái megegyeztek (5'-CAGGACCAGGCTACCGTG-3') (Blacket et al. 2012), így az amplifikáció erősségének megfelelően váltogatni lehetett a kétféle intenzitású fluoreszcens jelölést primerenként. A Tail B – D3 (zöld) primer szekvenciája eltért ettől (5'-CGGAGAGCCGAGAGGTG-3') (Blacket et al. 2012) annak reményében, hogy egy multiplex PCR-en belül több primert is alkalmazhassak, az egymáshoz közeli fragment méretek különböző színnel való megjelölésével. Az optimalizálás során azonban kiderült, hogy nem

mindig működőképes az egy PCR reakción belüli többféle szín (fluoreszcens jelölés) használata. A továbbiakban ezért arra törekedtem, hogy lehetőleg a méretben eltérő, de azonos farok szekvenciával rendelkező (azonos fluoreszcens festékkel jelölt) markerek kerüljenek egy multiplex PCR szettbe, és inkább a PCR termékeket pooloztam a kapilláris gélelektroforézis során (1. táblázat).

1. táblázat: A tanulmányban résztvevő pulyka állományok vizsgálata céljából felállított és optimalizált mikroszatellit marker szettek

Fragment analízis	Multiplex PCR	Mikroszatellit marker	Allélméret (bp)	Fluoreszcens jelölés (WELL- RED)	Tapadási hőmérséklet (°C)
FA1	M1	MNT122 MNT108	128-150 200-221	D4	60
	M4	MNT100 MNT17 MNT112	165-173 191-198 234-262	D3	58
FA2	M5	MNT20 MNT142 MNT11	204-215 244-248 298-305	D2	56
	M6	MNT114 MNT144	162-170 186-202	D3	58
FA3		MNT9	172-187	D4	58
	M2	MNT116 MNT13	158-179 221-243	D3	58

A multiplex PCR reakciók (M1-M6) sorrendjének felállítása a fragment analízis figyelembe vételével történt. Az optimalizálás során az M3 multiplex PCR szett felbontásra került, markereit átcsoportosítottam, vagy más színű fluoreszcens jelölést kapott.

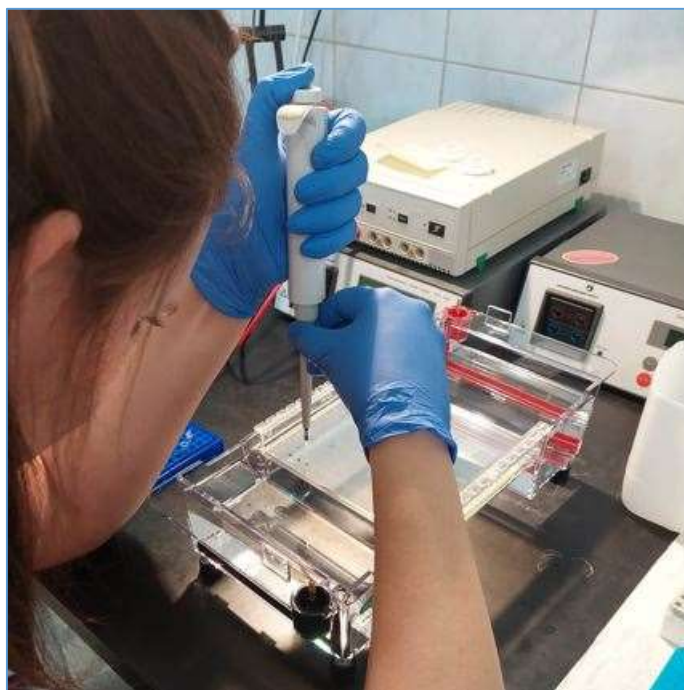
A PCR reakciókat 15 µl végtérfogatban mértem össze, melyek 5 µM primert, 20 mM MgCl₂-ot (10x Dream Taq Buffer, Thermo Scientific), 25mM dNTP mixet (Thermo Scientific), 5 U/µL Taq DNS polimeráz enzimet (Dream Taq DNA polymerase, Thermo Scientific), és 25 ng genomi DNS-t tartalmaztak. Az egy multiplex PCR reakcióban lévő primerek arányát az amplifikációjuk erősségét figyelembe véve változtattam, azonban mindegyikre érvényes, hogy egy adott primer farkas forward szekvenciájának mennyisége mindig fele annyi, mint a reverz primeré, és megegyezik a hozzá tartozó jelölt univerzális (farok) szekvencia mennyiségével.

Vagyis egy adott primer farkas forward és reverz, valamint a hozzá tartozó jelölt farok szekvenciáinak aránya 1:2:1.

A PCR reakciókörülményei a következők voltak: 95°C 4 perc denaturálás, ezután következett 35 ciklussal az amplifikáció: 95°C 15 mp, 56/58/60°C 30 mp (marker szett függvénye a tapadási hőmérséklet, 1. táblázat) és 72°C 1 perc, végül az extenzió 72°C 9 perc, majd a 10°C-on tartás. A genotipizálást Kyratec SuperCycler Trinity grádiens PCR készülék segítségével kiviteleztem.

A PCR reakciók sikerességének ellenőrzése horizontális elektroforézis rendszerrel (Bio-Rad Power Pac 300 készülék), 1,5 %-os agaróz gélen (1,2 g agaróz por, 80 ml 1x TBE puffer: 1000 ml desztillált víz, 108 g TRIS, 55 g bórsav, 0,5 M EDTA), interkalálódó GelGreen festék hozzáadásával történt (6. ábra). A fragmenteket UV fény segítségével, UVP MultiDoc-It géldokumentációs rendszerrel vizualizáltam.

6. ábra: Agaróz gélelektroforézis
(forrás: saját fotó)



A pontos allélméretek meghatározására a viszonylag alacsony felbontású agaróz gélelektroforézis nem alkalmas, hiszen ez esetben az allélméretbeli különbségek nem vizualizálhatók bázispár pontossággal. Így azok detektálása 8 csatornás kapilláris gélelektroforézissel, automata DNS szekvenátor használatával történt (GenomeLab™ GeXP Genetic Analysis System, Beckman Coulter) a gyártó leírása alapján, melyhez 400 bp

7. ábra: Fragment analízis (allélméret: nt)
(forrás: saját ábra)



3.4. Az alkalmazott populációgenetikai statisztikai módszerek

A Microsatellite Toolkit program (Park 2001) használatával meghatároztam az alap diverzitásmutatókat, mint a mikroszatellit markerek polimorfizmus információ tartalmát (PIC: Polymorphic Information Content), a populáción belüli genetikai diverzitás mérése céljából az allélszámok átlagát (MNA), a várt (H_E) és a tényleges heterozigotitást (H_O).

A Wright-féle fixációs indexek (F_{IT} , F_{ST} és F_{IS}) alapján megbecsülhető a populációk differenciáltsága. A F_{IT} a teljes állományra vonatkozó változatosság, az F_{ST} a populációk közötti változatosság, az F_{IS} pedig az állományon belüli, egyedek közötti változatosság, mely beltenyésztettségi mutatóként is felfogható. Az F_{ST} értéke a szubpopulációk közötti genetikai különbségek számszerűsítése, ha értéke 0,05-nél kisebb, a differenciáltság csekély mértékű, 0,05 – 0,15 között enyhe, a 0,15 – 0,25 közé eső értékek nagymértékű, végül a 0,25 feletti értékek igen nagymértékű izolációt jeleznek (Wright 1978, Hartl & Clark 1989). Az F_{IT} és F_{IS} értékek segítségével meghatározhatjuk a Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérést is. Ha a kapott érték pozitív, akkor a homozigóta egyedek vannak nagyobb számban jelen a populációban, ha azonban az érték negatív, akkor az heterozigóta többletre utal. Az F-statisztika értékeit, a populáción belüli beltenyésztettségi szintet (F_{IS}) és a Hardy-Weinberg egyensúly állapotától való eltérést az FSTAT program használatával számoltam ki (Goudet, 2001).

A vizsgált populációkat páronként is összehasonlítottam a GENEPOP program (Raymond & Rousset 1995) segítségével, majd ezt követően számoltam ki a Reynolds-féle genetikai távolságokat, az alábbi képlet alapján:

$$DR = -\ln(1 - F_{ST})$$

Az adatok szemléletessé tétele céljából a PHYLIP programmal (Felsenstein, 1993) Neighbor-Joining dendrogramot készítettem.

A főkoordináta elemzés (PCoA: Principal coordinate analysis), egy olyan ordinációs módszer, mely hatékony dimenzió-redukcióra törekedve meghatározza azokat a koordináta tengelyeket, melyek mentén az adataink legjobban szemléltethetők (Ari 2012). A vizsgált populációk egyedeinek egymáshoz viszonyított helyzetét prezentáltam egyedi genetikai távolságok alapján ezzel a módszerrel a GenAlEx program segítségével (Peakall & Smouse, 2006, 2012).

A pulykaállományok osztályozásához klaszteranalízist végeztem a STRUCTURE programmal (Pritchard et al. 2000), mely az egyedek allélmintázatait hasonlítja össze páronként 20.000 burn-in fázissal, 50.000 iterációban. A program lényege, hogy mindenféle előzetes ismeret nélkül sorolja a genotípusokat azonos, illetve különböző csoportokba. A legvalószínűbb

csoportosítás meghatározására az Evanno módszert alkalmaztam, mely a „delta K” érték számítását jelenti (Evanno et al. 2005). A „K” értékekkel a csoportok számát határoztam meg, mely ebben az esetben $K=5$ volt. Minden K értéknél 100 futás indítottam, az eredményeket a CLUMPAK program (Kopelman et al. 2015) segítségével értékeltem és vizualizáltam.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. A felhasznált mikroszatellit markerek alkalmassága a vizsgálatra

A mintakollekciót reprezentatívnak tekintettem, mivel ezeket a populációkat kis létszámban tartják fent génmegőrzés céljából. Az ilyen jellegű vizsgálatoknál nem feltétlenül a mintaszám, mint inkább a markerszám növelése, és a megfelelő markerek gondos kiválasztása a mérvadó. A munkámban alkalmazott markerekből 5 volt közös a Reed és munkacsoportja által felfedezettel, ebből kettő, az MNT11 és az MNT20 csirkében is megtalálhatóak. Tanulmányukban a 12 markerből 7 bizonyult polimorfnak, az allélok száma 1-6 között volt, átlagosan 2,7 allél lókuszonként (Reed et al. 2002). 2003-ban Dranchak és munkatársai pulyka embrionális cDNS könyvtárat hoztak létre, ahol 128 szekvenciából 42 új lókuszon izoláltak tandem repetitív szekvenciákat, melyek közül 31 polimorfizmust mutatott (Dranchak et al. 2003). A tanulmányban, és a saját munkámban felhasznált mikroszatellitek közül 8 volt közös, melyekből az MNT100, MNT108, MNT112, MNT114, MNT 142 és az MNT144 új szekvencia volt, míg az MNT116 és az MNT122 humán eredetű fehérje szekvenciával mutatott hasonlóságot. Az új mikroszatellitek felfedezése pulykában mindig új lehetőséget ad a géntérképezéshez, illetve összehasonlítási alapot szolgáltat más fajok megismeréséhez is.

Az általam használt 13 markert 5 multiplex és 1 szimplex PCR reakcióba sikerült rendeznem az optimalizálás során, így egyszerre 3-5 markerrel tudtam elvégezni a fragmens analízist (1. táblázat).

A markerek PIC értékét a detektálható allélok száma, az allélgyakoriság és a kapcsoltság befolyásolja. Botstein (1980) leírása szerint, ha értéke nagyobb, mint 0,50, akkor nagyon informatív, ha 0,25-0,50 közé esik, akkor meglehetősen informatív, és ha 0,25 alatti, akkor kevésbé informatív. Az általam választott 13 marker csaknem mindegyike a nagyon, vagy a meglehetősen informatív kategóriába esett (2. táblázat).

2. táblázat: A vizsgálatra használt mikroszatellit markerek polimorfizmus információ tartalma

Mikroszatellit marker	ETP	RP	BP	PIC átlag
MNT122	0,16	0,58	0,47	0,40
MNT108	0,28	0,38	0,34	0,33
MNT100	0,09	0,16	0,34	0,20
MNT17	0,40	0,50	0,60	0,50
MNT112	0,53	0,49	0,64	0,55
MNT20	0,07	0,00	0,03	0,03
MNT142	0,32	0,47	0,61	0,47
MNT11	0,45	0,57	0,59	0,53
MNT114	0,46	0,53	0,48	0,49
MNT144	0,57	0,58	0,52	0,56
MNT9	0,70	0,37	0,23	0,43
MNT116	0,50	0,26	0,46	0,41
MNT13	0,52	0,64	0,57	0,58

ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka, PIC átlag = a mikroszatellit marker polimorfizmus információ tartalma a három vizsgált pulyaállomány tekintetében

A pulykapopulációkat megvizsgálva az erdélyi tarka pulykánál azonosítottam a legtöbb, összesen 9 olyan allélt, melyek csakis ebben az állományban fordultak elő. A bronzpulyka esetében egy, a rézpulykánál pedig két allélt detektáltam, melyek az adott populációban voltak csak jelen. Ugyanakkor az alléloknak nemcsak az adott populációban való kizárólagos jelenlétük lehet beszédes, hanem emellett a többi állományból való hiányuk, vagy a gyakoriságuk mértéke populációnként is sokat mondó, pláne, ha genetikai különbségeket keresünk. Már az allélfrekvenciákat tartalmazó táblázat alapján is jól látható, hogy az erdélyi tarka pulykának jóval több unikális allélja van, mint a másik két őshonos pulykafajtának, még ha történetesen azok többsége ritka allél is, vagyis gyakorisága 10 % alatti (1. melléklet).

Mindezek alapján elmondható, hogy a választott 13 mikroszatellit marker tökéletesen alkalmas és elegendő volt a három pulykapopuláció genetikai vizsgálatához, és kimutatható általuk a genetikai hasonlóság/különbség.

4.2. Populáción belüli genetikai diverzitás

Az állományok genetikai diverzitásának alapját az allélok száma és gyakorisága adja, melyből meghatározható az allélszámok átlaga, a várt (H_E) és tényleges (H_O) heterozigotizáció, valamint megbecsülhető az állományon belüli variancia mértéke (F_{IS}), és a Hardy-Weinberg egyensúly (HW) állapotától való eltérés is.

Összesen 137 allélt detektáltam a 104 egyed 13 mikroszatellit markerrel való genotipizálása során, mely jóval magasabb arány az irodalomhoz képest a populációk közötti differencia sikeres kimutatásához.

Az allélszámok átlaga legmagasabb az erdélyi tarka pulykánál volt, köszönhetően a számos unikális, ritka allélnak, legkisebb pedig a rézpulyka esetében. A legmagasabb várt heterozigotizáció a rézpulyka esetében volt mérhető, ám a másik két állomány értékei sem voltak sokkal kisebbek. A tényleges heterozigotizáció értékei nem tértek el szignifikáns mértékben a várttól, csupán a bronzpulyka esetében, közel a Hardy-Weinberg egyensúlyhoz, vagyis a vizsgált állományok állapota kielégítő, a tenyésztési módszer megfelelő. Ezt alátámasztják az alacsony beltenyésztettség szintek is (F_{IS}) mindhárom populáció esetén, a rézpulykánál negatív ez az érték, ami a heterozigóták többségét jelzi az állományban (3. táblázat).

3. táblázat: Alap diverzitásmutatók értékei a vizsgált pulykaállományokban

Populáció	Átlag allélszámok $\pm$ SD	$H_E \pm$ SD	$H_O \pm$ SD	F_{IS}	HWE
ETP	3,85 $\pm$ 1,14	0,44 $\pm$ 0,060	0,42 $\pm$ 0,022	0,037	ns
RP	2,92 $\pm$ 1,04	0,50 $\pm$ 0,058	0,50 $\pm$ 0,025	-0,014	ns
BP	3,77 $\pm$ 1,24	0,52 $\pm$ 0,054	0,49 $\pm$ 0,025	0,06	*

P<0,05* P<0,01** P<0,001***

ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka, H_E = várt heterozigotizáció, H_O = tényleges heterozigotizáció, SD = szórás, F_{IS} = beltenyésztettség koefficiens, HWE = Hardy-Weinberg egyensúly állapotától való eltérés, ns = nem szignifikáns

4.3. *F* statisztika és genetikai távolság

A Wright-féle *F* statisztika értékeinek meghatározásával a populációk differenciáltságának mértékére kerestem a választ. A teljes állományra vetített változatosság (F_{IT}) értéke némileg magasabb volt, mint az állományok közötti variancia mértéke (F_{ST}), de nem számottevően. A F_{IS} érték, ami beltenyésztettség szintjét jelzi, a három populációt együtt értékelve is alacsonynak számít (4. táblázat).

4. táblázat: A vizsgált állományok genetikai differenciáltsága a Wright-féle fixációs indexek alapján

$F_{IT} \pm SE$	$F_{ST} \pm SE$	$F_{IS} \pm SE$
$0,155 \pm 0,033$ ***	$0,129 \pm 0,024$ ***	$0,029 \pm 0,017$

$P < 0,05^*$ $P < 0,01^{**}$ $P < 0,001^{***}$

F_{IT} = teljes állományra vetített variancia, F_{ST} = állományok közötti variancia, F_{IS} = állományon belüli, egyedek közötti variancia, SE = szórás

A populációkat páronként is összevetettem egymással (páronkénti F_{ST} , nem azonos a Wright-féle fixációs index F_{ST} értékével) (5. táblázat átló alatt) és azokból meghatároztam a Reynolds-féle genetikai távolságot (5. táblázat átló felett). Az eredményekből megállapítható, hogy a bronz- és rézpulyka populációk genetikailag közelebb állnak egymáshoz, és egyformán távol (a mért genetikai távolság több mint kétszerese) az erdélyi tarka pulyka állománytól (5. táblázat).

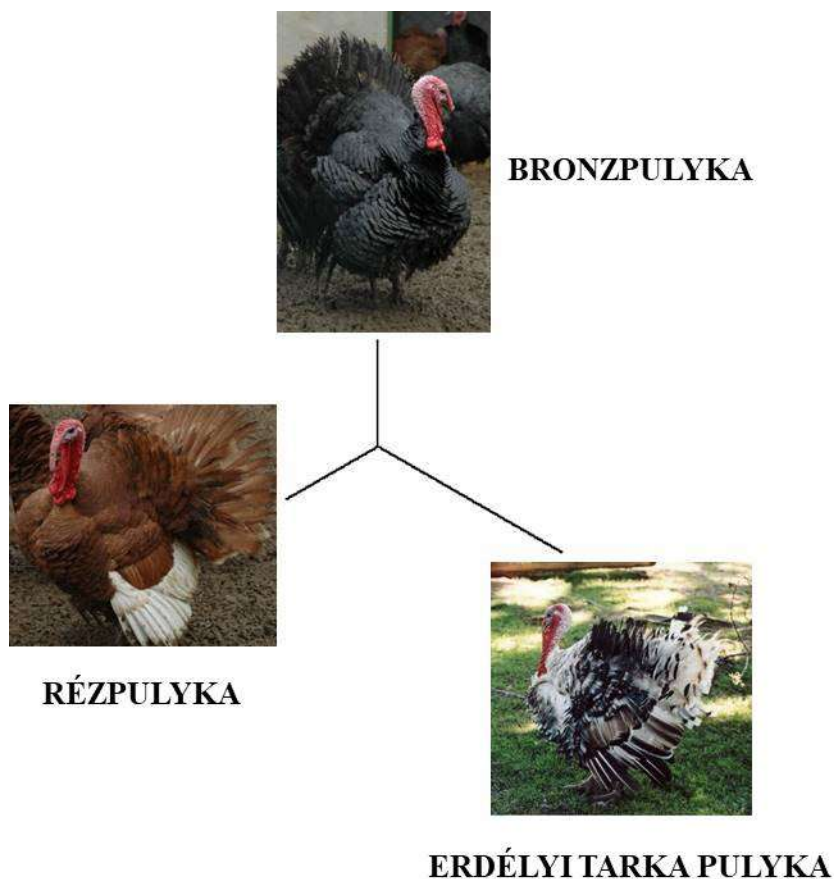
5. táblázat: Páronkénti F_{ST} értékek (átló alatt) és a Reynolds-féle genetikai távolságok (átló felett)

Populáció	ETP	RP	BP
ETP		0,17	0,17
RP	0,15		0,06
BP	0,16	0,06	

ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka

Az egyes populációk közötti genetikai távolságok szemléltetésére Neighbor-Joining dendrogramot állítottam fel. A filogenetikai fán is jól látszik, hogy az erdélyi tarka pulyka szépen elkülönül a réz- és bronzpulyka fajtáktól (8. ábra).

8. ábra: A vizsgált pulykaállományok Reynolds-féle genetikai távolságai alapján felállított Neighbor-Joining dendrogram

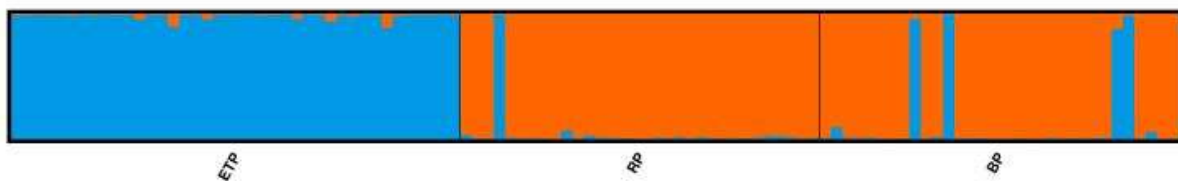


A megbízhatósága 100 %, (bootstrap = 1000, vagyis 1000 futásból 1000 alkalommal kaptam ugyanazt a filogenetikai törzsfát)

4.4. Klaszteranalízis és főkoordináta elemzés

A STRUCTURE programmal végzett klaszteranalízis során K=2 esetében a program először két csoportba sorolta az egyedeket a megadott beállítások alapján. Látható a 9. ábrán, hogy a réz- és a bronzpulyka állományoktól (narancssárga szín) szinte azonnal elkülönült az erdélyi tarka pulyka populáció az allélmintázatok alapján, egy a másik klaszterbe kerültek egyedei (kék szín). Megbízhatósága 100 %, azaz 100 futásból 100 alkalommal kaptam ezt a megoldást, tiszta strukturálódás figyelhető meg az állományok között (9. ábra).

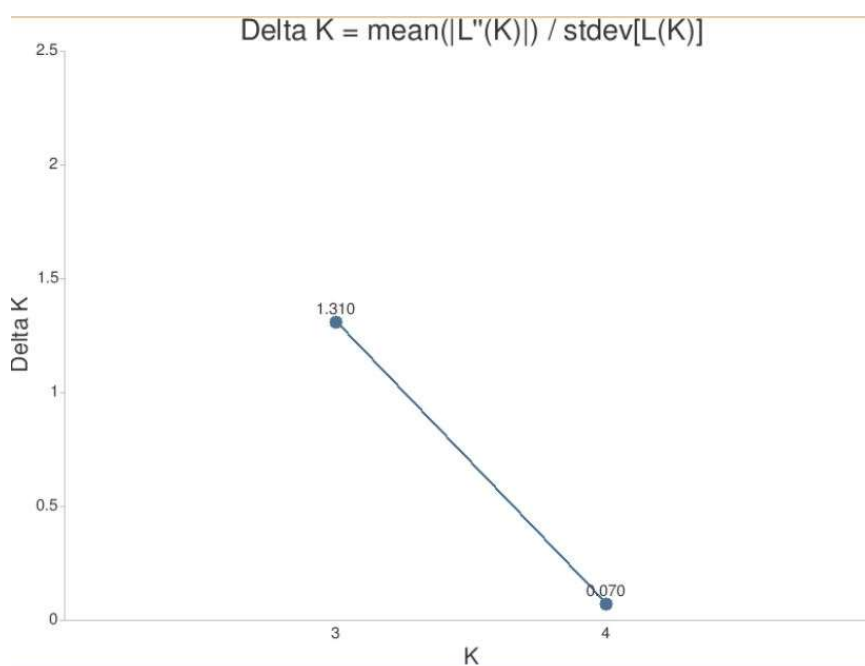
9. ábra: A klaszteranalízis eredménye K=2 esetén (100/100)



ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka

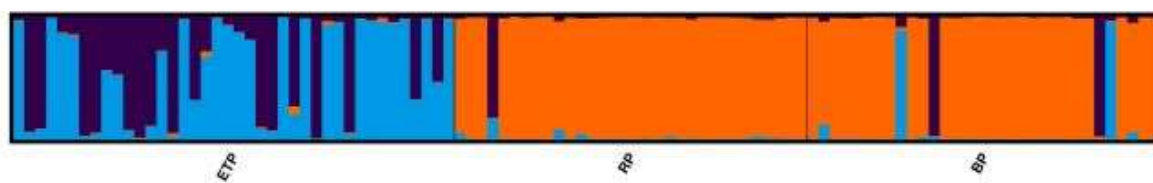
Az Evanno módszer szerinti legvalószínűbb csoportosítás a K=3, amikor is a program három csoportba sorolta az egyedeket a vizsgált állományok tekintetében (10. ábra).

10. ábra: Az Evanno módszer alapján meghatározott legvalószínűbb csoportosítás (K=3)



K=3 esetén három csoportra osztotta a program a vizsgált egyedeket, ahol továbbra is elkülönült az erdélyi tarka pulyka állomány a bronz- és rézpulyka populációtól, melyek együtt maradtak. A harmadik, lila színnel megjelent csoport leginkább az erdélyi tarka pulyka populációban volt fellelhető, vagyis a program az ETP állományon belül elkülönített egy szubpopulációt. Ez azzal magyarázható, hogy az Erdélyből gyűjtött egyedek különböző területekről származnak, és a fajta még nincs stabilizálva. Megbízhatóságát tekintve, 100 futásból 60 alkalommal kaptam ezt az eredményt (11. ábra).

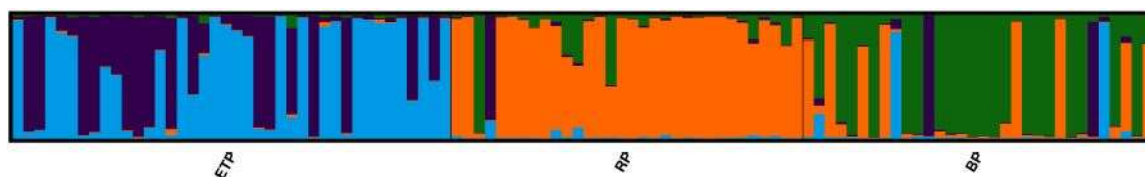
11. ábra: A klaszteranalízis eredménye K=3 esetén (100/60)



ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka

Mivel a réz- és bronzpulyka populációk között a program nem tudott különbséget tenni a legvalószínűbb csoportosítás esetén, így vizualizáltam a K=4 klasztereződést is, ahol viszont negyedik színnel (zöld) már a bronzpulyka állomány is elkülönült a többitől (12. ábra).

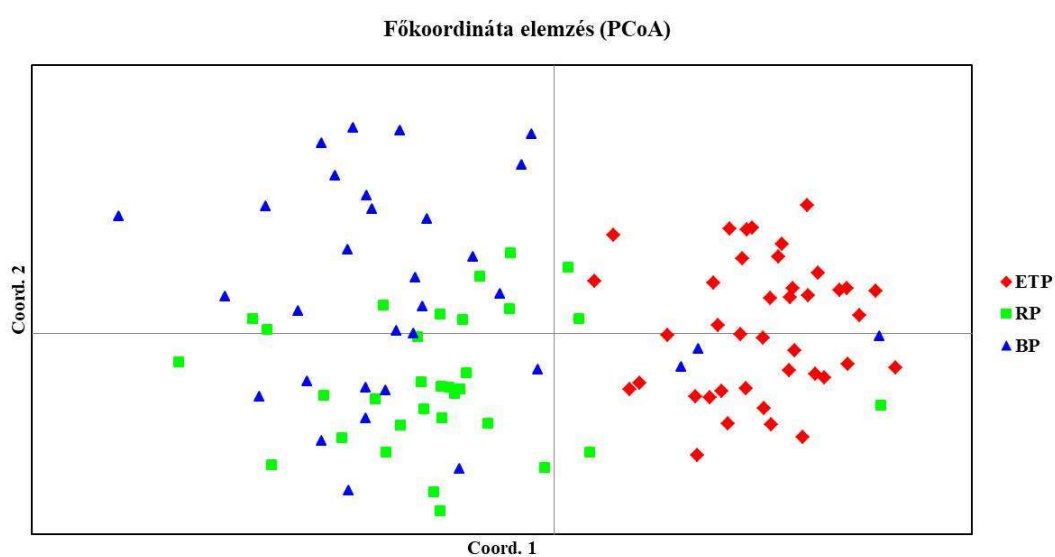
12. ábra: A klaszteranalízis eredménye K=4 esetén (100/91)



ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka

A főkoordináta elemzés megerősítette a klaszteranalízis eredményét. A 13. ábrán látható, hogy az erdélyi tarka pulyka egyedei genetikai távolságok alapján szépen elkülönülnek a réz- és bronzpulyka állományok egyedeitől, néhány kivételtől eltekintve. Inkább a réz- és bronzpulyka egyedek vannak némileg átfedésben, mint ahogy a klaszteranalízisnél is megfigyelhető. Ennek oka lehet, hogy hosszú évek óta egyazon helyen, tenyésztési módszerrel és tartási körülményekkel tartják fent ezeket a zárt populációkat génmegőrzési céllal.

13. ábra: A vizsgált pulykaállományok főkoordináta elemzése



ETP = erdélyi tarka pulyka (piros), RP = rézpulyka (zöld), BP = bronzpulyka (kék)

5. Következtetések és javaslatok

Munkám során két őshonos magyar pulykafajta, a réz- és a bronzpulyka, valamint az erdélyi tarka pulyka genetikai differenciáját vizsgáltam meg 13 mikroszatellit marker alapján.

A szakirodalomból kiválasztott markerek kellő polimorfizmust mutattak, tökéletesen alkalmasnak és elégnek bizonyultak a három pulykapopuláció genetikai összehasonlításához.

Az alap diverzitásmutatók meghatározásával felmértem a vizsgált állományok genetikai diverzitását, mely nemcsak génmegőrzési szempontból lehet hasznos, de eredményeim későbbi tanulmányokban is felhasználhatóak. Az erdélyi tarka pulyka egyedi alléljainak magas aránya is már arra enged következtetni, hogy nemcsak fenotípusosan, de a molekuláris genetikai szintjén is különbözik a másik két pulykafajtától.

Ezt a feltételezést a további populációgenetikai elemzések is megerősítették, így a páronkénti F_{ST} és a Reynolds-féle genetikai távolság eredményei, valamint az alapján felállított filogenetikai fa, mely jól szemlélteti az erdélyi tarka pulyka különbözőségét a másik két pulykafajtától.

STRUCTURE analízissel a réz- és bronzpulyka populációt allélmintázataik alapján nem lehetett elkülöníteni egymástól a legvalószínűbb csoportosítás esetén, csak amikor négy klaszterre osztotta a program az egyedeket. Ez valószínűleg abból adódik, hogy hosszú évek óta ugyanazon a helyen, azonos tartási körülmények mellett és egyazon tenyésztési módszerrel (családtenyésztés), génmegőrzési céllal tartják fent ezeket az állományokat. Az erdélyi tarka pulyka azonban már az első csoportosításnál elvált a másik két populációtól, melyet a főkoordináta elemzést is alátámasztott.

Összességében kijelenthetjük, hogy az összes általam elvégzett vizsgálat szerint az erdélyi tarka pulyka valószínűsíthetően önálló fajta, de legalábbis nem a két őshonos magyar pulykafajta (réz- és bronzpulyka) keveredéséből származik. További vizsgálatok elvégzése javasolt, melyben szerepel a fekete pulyka molekuláris genetikai vizsgálata is, amivel még pontosabb képet kaphatunk az erdélyi tarka pulyka miben létééről. Ugyanakkor mindenképpen megfontolandó az állomány önálló fajtaként való elismertetése folyamatának elindítása, melyhez munkám erős lábakon álló genetikai alátámasztást, nagy segítséget nyújthat.

6. Összefoglalás

A biodiverzitás drasztikus csökkenése világméretű probléma. Ma még génbankokban elérhetőek olyan ritka genotípusok, melyek nagy variabilitással rendelkeznek, és felhasználhatóak az intenzív tenyésztésben is. A Kárpát-medencében maradtak fent olyan állatállományok, melyek molekuláris genetikai módszerekkel bizonyíthatóan őshonos magyar fajtának tekinthetők. A „Székely génygyűrű” egy olyan program, melynek célja ezen régi fajták, tájfajták megmentése.

Munkám során az erdélyi tarka pulyka állomány molekuláris genetikai vizsgálatát végeztem el a célból, hogy információkat nyerjek annak genetikai hátteréről, mely későbbi kutatásokban és a génmegőrzésben is felhasználható. A vizsgálat során összehasonlításba helyeztem az Erdélyből származó tarka pulyka populációt az őshonos magyar réz- és bronzpulyka fajtákkal, mely során arra kerestem a választ, hogy az állományok milyen mértékben térnek el egymástól a genetika szintjén.

Az általam választott mikroszatellit markerekből sikeresen állítottam fel szetteket, így egyszerre több markerrel tudtam elvégezni a genotipizálást. A markerek alkalmasak és elegendőek voltak a három pulykapopuláció genetikai vizsgálatához.

A viszonylag magas heterozigotizációs és alacsony beltényesztettségi értékek arra utalnak, hogy az állományok nem térnek el szignifikánsan a Hardy-Weinberg egyensúly állapotától, vagyis tenyésztésük megfelelőnek mondható, genetikai állapotuk kielégítő.

Az állományok közötti genetikai diverzitás felmérése során azt tapasztaltam, hogy az erdélyi tarka pulyka minden elemzés során egyértelműen elkülönült az őshonos magyar réz- és bronzpulyka fajtáktól. Nemcsak a populációk páronkénti összevetése alkalmával, de a klaszteranalízis alapján is, mely előzetes információ nélkül csoportosítja az egyedeket allélmintázataik alapján, és a főkoordináta elemzés is ezt a tényt erősítette meg.

Munkámban egyértelmű bizonyítást nyert, hogy az erdélyi tarka pulyka nem a két őshonos magyar pulykafajta keveredéséből származik, genetikailag azoktól jól elkülönülő állománynak tekinthető. Érdemes lenne fontolóra venni annak kérelmezését, hogy a réz- és bronzpulyka mellett az erdélyi tarka pulyka is helyet kaphasson az őshonos magyar háziállatok között.

7. Köszönetnyilvánítás

Szakedolgozatom elkészítésében való támogatásáért köszönettel tartozom elsősorban külső témavezetőmnek, Dr. Pálincás-Bodzsár Nórának, aki szakmai tudásával, tapasztalatával és magyarázataival lehetővé tette a téma átfogó megértését és leírását.

Köszönöm belső témavezetőmnek, Balázs Réka PhD hallgatónak a labormunka elvégzésében és magyarázatában nyújtott segítségéért.

Szeretnék köszönetet mondani a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézet (NBGK-HGI), azon belül a Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési osztály munkatársainak, akik lehetővé tették a kísérlet elvégzését, a téma leírását, valamint betekintést engedtek az ott zajló projektekbe, különösképpen Dr. Liptói Krisztinának, Dr. Sztán Nikolettának és Dr. Buda Kittinek.

Köszönöm a férjemnek a támogatást, nemcsak a diplomadolgozat elkészítése közbeni türelméért, kitartásáért és erősítéséért, hanem hálás vagyok a tanulmányaim kezdetétől a végéig tartó folyamatos biztatásáért is.

8. Irodalomjegyzék

- Allais S., Hennequet-Antier C., Berri C., Salles L., Demeure O., Le Bihan-Duval E. (2019): Mapping of QTL for chicken body weight, carcass composition, and meat quality traits in a slow-growing line. Poultry Science, 98 (5): 1960-1967, ISSN 0032-5791. <https://doi.org/10.3382/ps/pey549>
- Ari E. (2012): Molekuláris filogenetikai elemzések egy diszkrét matematikai módszer, a Boole analízis segítségével. [Phd értekezés] ELTE, Biológiai Doktori Iskola p:57 URL: https://teo.elte.hu/minosites/ertekezes2012/ari_e.pdf
- Aslam M. L. (2012): Genetic control and variation in turkey: molecular insights in selection. PhD thesis, DOI:[10.18174/222257](https://doi.org/10.18174/222257)
- Audubon, J. J. (1830): Wild turkey URL:<https://www.audubon.org/birds-of-america/wild-turkey>
- Bakos K., Veres Gy., Korom E., Pinke O., Kovács B., Varga L. (2008): 52 új pulyka mikroszatellit izolálása és térképezése. Animal welfare etológia és tartástechnológia, 1786-8440 4 (2) pp. 409-415
- Beuzen, N. D., Stear, M. J., Chang, K. C. (2000): Molecular markers and their use in animal breeding. The Veterinary Journal 160: 42-52.
- Blacket, M., Robin, C., Good, R. T., Lee, S. F., & Miller, A. D. (2012): Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments—an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. Molecular Ecology Resources, 12(3): 456-463.
- Bodzsar, N., Eding, H., Revay, T., Hidas, A., & Weigend, S. (2009): Genetic diversity of Hungarian indigenous chicken breeds based on microsatellite markers. Animal Genetics, 40 (4): 516-523. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01876.x>
- Bodzsár N. (2012): Őshonos magyar tyúkfajományok genetikai diverzitásának vizsgálata különböző molekuláris genetikai markerek segítségével [Phd értekezés] SZIE Állattenyésztés Tudományok Doktori Iskola URL: https://archive2020.szie.hu/file/tti/archivum/Bodzsar_Nora_disszertaci.pdf
- Bogenfürst F., Horn P., Sütő Z., Gaál K., Kovács G. (2011): Baromfitenyésztés
- Botstein, B., White, R. L., Skoknick, M., Davis, R. W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 32 (3): 314-331.
- Bökönyi S. & Jánosy D. (1958): Adatok a pulyka Kolumbusz előtti Európai előfordulásához. Aquila, A Madártani Intézet (Növényvédelmi Kutató Intézet Madártani Osztálya) Évkönyve, LXV. évf. Tom 65. Vol. 65. 265–269. p. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Bruford M. W. & Wayne R. K. (1993): Microsatellites and their application to population genetic studies. Current Opinion in Genetics and Development, 3 (6): 939-943.
- Buchanan F. C., Adams L. J., Littlejohn R. P., Maddox J. F., Crawford A. M. (1994): Determination of Evolutionary Relationships among Sheep Breeds Using Microsatellites, Genomics, vol.22, issue.2, pp.397-403, DOI : [10.1006/geno.1994.1401](https://doi.org/10.1006/geno.1994.1401)
- Burke W. H. & Dennison P. T. (1980): Prolactin and luteinizing hormone levels in female turkeys (*Meleagris gallopavo*) during a photoinduced reproductive cycle and broodiness. General Comparative Endocrinology, 41 (1): 92–100.
- Goudet J. (2001): FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>

- Crawford A. M., Buchanan F. C., Starbrick P. A (1991): The use of dinucleotide repeats or microsatellites as genetic markers in domestic animals. New Zealand Society of Animal Production p:79-83
- Crawford R. D. (1990): Poultry genetic resources: evolution, diversity and conservation Poultry Breeding and Genetics, 43-60. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, the Netherlands
- Csánky D. (1883): Mátyás udvara. Századok. XVII. Magyar Történelmi Társulat Közlönye
- Csukás Z. (1955): Baromfitenyésztés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Debreceni Egyetem, Agrárkutatóintézet és Tangazdaság (2023): Bronzpulyka
 Letöltés dátuma: 2024.02.10. <https://akit.unideb.hu/sites/default/files/2023-03/Bronzpulyka.pdf>
- Dranchak, P. K., Chaves, L. D., Rowe, J. A., Reed, K. M. (2003): Turkey Microsatellite Loci from an embryonic cDNA library. Poultry Science, 82 (4): 526-31. doi: 10.1093/ps/82.4.526.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology, 14 (8): 2611-2620.
- Goudet J. (2001): FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- Felsenstein J. (1993): PHYLIP (Phylogeny Inference Package), version 3.5c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle, USA
- Hartl D. L. & Clark A. G. (1989): Principles of population genetics. *2nd edition*, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Hu Z-L., Park C. A., Reecy J. M. (2019): Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. Nucleic Acids Research, 47 (D1): D701–D710. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1084>
- Kopelman N. M., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N. A., Mayrose I. (2015): Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. Molecular Ecology Resources, 15 (5):1179-91. doi: 10.1111/1755-0998.12387.
- Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete (2009): A rézpulyka tenyésztési programja. 5-6 http://www.mgegodollo.hu/WEBSET_DOWNLOADS/526/A%20r%C3%A9zpulyka_%C3%BAj%20teny%C3%A9szt%C3%A9si%20program_MGE_2009.pdf
- Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete (2009): Tenyésztési program - A bronzpulyka http://www.mge-hu.com/WEBSET_DOWNLOADS/526/A%20bronzpulyka_%C3%BAj%20teny%C3%A9szt%C3%A9si%20program_MGE_2009.pdf
- Magyar Mezőgazdaság (2022. december): Erdélyből érkezik a régi-új magyar pulykafajta.
 Letöltés dátuma: 2024.07.12 <https://magyarmezogazdasag.hu/2022/12/31/erdelybol-erkezik-regi-uj-magyar-pulykafajta/>
- Miller, S. A., Dykes, D. D. & Polesky, H. F. (1988): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research, 16 (3): 1215.
- Moreira, G. C. M., Salvian, M., Boschiero, C., Cesar A. E. M., Reecy J. M., Godoy T. F., Ledur M. C., Garrick D., Mourão G. B., Coutinho L. L. (2019): Genome-wide association scan for QTL and their positional candidate genes associated with internal organ traits in chickens. BMC Genomics 20, 669. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6040-3>

- Múlt Kor Történelmi Magazin (2013): A pulyka kultúrtörténete az aztékoktól a hálaadásig. Letöltés dátuma: 2024.03.28.
https://multkor.hu/20131128_a_pulyka_kulturtortenete_az_aztekoktol_a_halaadasig?fbrcMR=desktop
- O'Brien S. J. (1991): Mammalian genome mapping: lessons and prospects. *Current Opinion in Genetics and Development*, 1 (1): 105-111.
- Orbán É. (2015): Bronzpulyka. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 9. szám. Letöltés dátuma: 2024.02.06.
https://adt.arcanum.com/hu/view/MagyarAllatorvosokLapja_2015/?pg=547&layout=s
- Palinkas-Bodzsar, N., Sztan, N., Molnar, T. & Hidas, A. (2020): Gene conservation of six Hungarian local chicken breeds maintained in small populations over time. *PLoS ONE* 15 (9): e0238849.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238849>
- Pálinkás-Bodzsár N., Sztán N., Edviné M. E., Hidas A. (2021): Molekuláris genetikai vizsgálatok őshonos magyar baromfi fajtákban a génmegőrzés tekintetében. *Állattenyésztés és takarmányozás*, 70 (3): 175-184.
- Park S. D. E. (2001): Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection (PhD thesis) University of Dublin
- Peakall R & Smouse P. E. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Peakall R. & Smouse P. E. (2012) GenAlEx 65: genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*; 28: 2537-2539.
<http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/19/2537>
- Perini F., Cendron F., Rovelli G., Castellini C., Cassandro M., Lasagna E. (2021): Emerging genetic tools to investigate molecular pathways related to heat stress in chickens: A review. *Animals* 11, no. 1: 46.
<https://doi.org/10.3390/ani11010046>
- Petneházy Ö. (2011): Különböző genotípusú pulykák kardiovaszkuláris rendszerének összehasonlító vizsgálata *in vivo* és *in vitro* módszerekkel [PhD értekezés] Kaposvár: Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet. URL: http://phd.ke.hu/fajlok/1327999822-petnehazy_phd_tezisfuzet.pdf
- Pritchard J. K., Stephens M. & Donnelly P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-59.
- Dalloul R. A., Zimin A. V., Settlege R. E., Kim S., Reed K. M. (2014): Next-generation sequencing strategies for characterizing the turkey genome. *Poultry Science*, 93 (2): 479-84. doi: 10.3382/ps.2013-03560. PMID: 24570472.
- Raymond M. & Rousset F. (1995): GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86: 248-249. <http://genepop.curtin.edu.au>
- Reed K. M., Chaves L.D., Rowe J. A. (2002): Twelve new turkey microsatellite loci. *Poultry Science*, 81: 1789-1791. PMID [12512567](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12512567/) DOI: [10.1093/ps/81.12.1789](https://doi.org/10.1093/ps/81.12.1789)
- Rohrer G. A., Alexander L. J., Keele J. W. (1994): A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics*, 136 (1): 231-45.
- Sütő Z. & Mihók S. (2006:) A pulyka eredete, háziasítása és kultúrtörténete. In: Mihók Sándor (szerk.) *Gazdasági állataink – Fajtatan. Tyúk, gyöngytyúk, pulyka, kacs, pészmaréce, lúd. Mezőgazda Kiadó, Budapest*
- Szalay I. (2015): Régi magyar baromfifajták a XXI. században. *Mezőgazda Kiadó, Gödöllő* p 19; p 45; p 103-108

- Szalay I. (2017): A Székely gényűrű - Haszonállat-fajtavédelem a Kárpát-medencében. Mezőgazda Kiadó, Gödöllő: 81-84.
- Szalay I. & Kovácsné Gál K. (2008): A baromfi géntartalékok és az alternatív baromfitenyésztés helyzete és jövője in: Állattenyésztés és Takarmányozás, 57 (5):
http://www.mezogazdasagikonyvtar.hu/assets/tiszteletpeldany/ALLATT/Allattenyesztes-takarmanyozas_2008-5.pdf
- Wright S. (1978): Evolution and the Genetics of Populations. University of Chicago Press, Chicago.1. 12-15.
- Zhou H. J. & Lamont S. J. (1999): Genetic characterization of biodiversity in highly inbred chicken lines by microsatellite markers. *Animal Genetics*, 30 (4): 256–264.

9. Táblázatok és ábrák jegyzéke

1. táblázat: A tanulmányban résztvevő pulyka állományok vizsgálata céljából felállított és optimalizált mikroszatellit marker szettek.....	22. oldal
2. táblázat: A vizsgálatra használt mikroszatellit markerek polimorfizmus információ tartalma.....	28. oldal
3. táblázat: Alap diverzitásmutatók értékei a vizsgált pulykaállományokban.....	29. oldal
4. táblázat: A vizsgált állományok genetikai differenciáltsága a Wright-féle fixációs indexek alapján.....	30. oldal
5. táblázat: Páronkénti F_{ST} értékek (átló alatt) és a Reynolds-féle genetikai távolságok (átló felett).....	30. oldal
1. ábra: Vadpulyka.....	9. oldal
2. ábra: Bronzpulyka kakas.....	11. oldal
3. ábra: Rézpulyka kakas.....	13. oldal
4. ábra: Erdélyi tarka pulyka kakas.....	14. oldal
5. ábra: DNS izolálás pulyka vérből.....	21. oldal
6. ábra: Agaróz gélelektroforézis.....	23. oldal
7. ábra: Fragment analízis.....	24. oldal
8. ábra: A vizsgált pulykaállományok Reynolds-féle genetikai távolságai alapján felállított Neighbor-Joining dendrogram.....	31. oldal
9. ábra: A klaszteranalízis eredménye $K=2$ esetén.....	32. oldal
10. ábra: Az Evanno módszer alapján meghatározott legvalószínűbb csoportosítás ($K=3$).....	32. oldal
11. ábra: A klaszteranalízis eredménye $K=3$ esetén.....	33. oldal
12. ábra: A klaszteranalízis eredménye $K=4$ esetén.....	33. oldal
13. ábra: A vizsgált pulykaállományok főkoordináta elemzése.....	34. oldal

10. Mellékletek

1. A detektált allélméret (bp) és gyakoriságuk (%) az egyes vizsgált pulykapopulációkban

Mikroszatellit lókusz	Allélméret (bp)	ETP	RP	BP	Mikroszatellit lókusz	Allélméret (bp)	ETP	RP	BP
MNT122	128	5,13			MNT11	298	55,00	43,55	42,19
	130	91,03	35,48	48,44		300	38,75	35,48	23,44
	153	3,85	40,32	43,75		306	6,25		32,81
	155		24,19	7,81		308		20,97	1,56
MNT108	205	12,50	48,39	32,81	MNT114	162	27,50	17,19	9,38
	223	82,50	51,61	67,19		164	10,00	29,69	37,50
	225	5,00				166	62,50	53,13	53,13
MNT100	163	95,00	90,32	71,88	MNT144	187		37,50	21,88
	171	5,00	9,68	26,56		192	17,50		
	187			1,56		196	1,25		
MNT17	187	21,25	9,68	34,38		201	8,75	25,00	21,88
	189	2,50		4,69		203	57,50	37,50	56,25
	193	1,25				205	15,00		
	197	3,75			MNT9	161		27,42	
	199	71,25	53,23	42,19		167	1,25		3,23
	201		35,48	18,75		171	23,75	69,35	87,10
	205		1,61			175	1,25		
MNT112	233	20,00	12,90	3,13		183	16,25		1,61
	235	13,75	17,74	29,69		185	23,75		3,23
	255	60,00	64,52	43,75		187	33,75	3,23	4,84
	257		3,23	9,38	MNT116	157	18,75		4,69
	259	6,25	1,61	14,06		167	3,75		1,56
MNT20	202	2,50		1,56		174	15,00	18,33	45,31
	204	1,25			MNT13	178	62,50	81,67	48,44
	214	96,25	100,00	98,44		221	48,75	25,00	17,19
MNT142	240	2,50	8,06	26,56		229	3,75		1,56
	242	77,50	51,61	43,75		233	5,00		1,56
	244	18,75		3,13		241	40,00	25,00	9,38
	246		40,32	25,00		243	2,50	41,67	57,81
	248	1,25		1,56		245		8,33	12,50

ETP = erdélyi tarka pulyka, RP = rézpulyka, BP = bronzpulyka

11. Nyilatkozat

HALLGATÓI NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: **Dmitrasinovity Alexandra**

A hallgató Neptun kódja: **I2BF2F**

A dolgozat címe: **Az erdélyi tarka pulyka molekuláris genetikai vizsgálata mikroszatellit markerekkel**

A megjelenés éve: **2024**

A konzulens intézetének neve: **Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézet**

A konzulens tanszékének a neve: **Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési Osztály**

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemitulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően

- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Gödöllő, 2024.11.03.



Hallgató aláírása

KONZULENSI NYILATKOZAT

Dmitrasinovity Alexandra (hallgató Neptun azonosítója: I2BF2F) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: Gödöllő, 2024. november 04.


külső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendő.

² A megfelelő aláhúzendő.

TARTALMI KIVONAT

Az erdélyi tarka pulyka molekuláris genetikai vizsgálata mikroszatellit markerekkel

Dmitrasinovy Alexandra

Mezőgazdasági Biotechnológus, mesterképzés, levelező

Genetika és Biotechnológia Intézet/Állatbiotechnológia Tanszék

Belső témavezető: (Balázs Réka, PhD hallgató, Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ)

Külső témavezető: (Dr. Pálincás-Bodzsár Nóra, tudományos főmunkatárs, Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ)

Az agrobiodiverzitás csökkenése világméretű probléma. Ma még génbankokban elérhetőek olyan ritka, őshonos genotípusok, melyek nagy varianciájuknak köszönhetően felhasználhatóak az intenzív tenyésztésben is. A Kárpát-medencében maradtak fent olyan állatállományok, melyek molekuláris genetikai módszerekkel bizonyíthatva őshonos magyar fajtának tekinthetők, erre épült a „Székely gényűrű” génmentési program.

A munka célja az erdélyi tarka pulyka állomány molekuláris genetikai vizsgálata volt, mely összehasonlításra került az őshonos magyar réz- és bronzpulyka fajtákkal. Így nemcsak az állományok genetikai hátteréről nyertem információt, hanem arra is választ kaptam, hogy azok milyen mértékben térnek el egymástól a genetika szintjén.

Az alkalmazott mikroszatellit markerekből sikeresen állítottam fel szetteket úgy, hogy egyszerre több markerrel el lehessen végezni a genotipizálást, melyek alkalmasnak és elegendőnek bizonyultak a három pulykapopuláció genetikai vizsgálatához.

A viszonylag magas heterozigotizációs és alacsony beltenyésztettségű értékek arra utalnak, hogy az állományok nem térnek el szignifikánsan a Hardy-Weinberg egyensúly állapotától, vagyis tenyésztésük megfelelőnek mondható, genetikai állapotuk kielégítő.

Az állományok közötti genetikai diverzitás felmérése során azt tapasztaltam, hogy az erdélyi tarka pulyka minden elemzés során egyértelműen elkülönült az őshonos magyar réz- és bronzpulyka fajtáktól. Nemcsak a populációk páronkénti összevetése alkalmával, de a klaszteranalízis alapján is, mely előzetes információ nélkül csoportosítja az egyedeket allélmintázataik alapján, és a főkoordináta elemzés is ezt a tényt erősítette meg.

Munkámban egyértelmű bizonyítást nyert, hogy az erdélyi tarka pulyka nem a két őshonos magyar pulykafajta keveredéséből származik, genetikailag azoktól jól elkülönülő állománynak tekinthető. Érdemes lenne fontolóra venni annak kérelmezését, hogy a réz- és bronzpulyka mellett az erdélyi tarka pulyka is helyet kaphasson az őshonos magyar háziállatok között.