TDK DOLGOZAT

Kiss Daniella Panna

2021

Állatorvostudományi Egyetem

Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Tanszék

A törzskönyvi adatokból becsült és a genetikai származásellenőrzési vizsgálatok eredményeiből számított BTE értékek a kuvasz kutyafajtában

Készítette: Kiss Daniella Panna

harmadéves állatorvostan-hallgató

Témavezetők:

Dr. Bán Beáta

NÉBIH, Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság

Dr. Maróti-Agóts Ákos

ÁTE, Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Tanszék,

egyetemi docens

Budapest, 2021

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke ... 3
2. Bevezetés ... 4
3. Szakirodalmi áttekintés ... 5
3.1. A beltenyésztés kialakulása és hatásai ... 5
3.2. A beltenyésztés elkerülése ... 5
3.3. A beltenyésztés meghatározása törzskönyvi módszerrel ... 6
3.3.1. A törzskönyvi elemzések és azok eredményei ... 6
3.4. A beltenyésztés meghatározása molekuláris genetikai módszerrel ... 7
3.4.1. A vizsgálatban felhasznált STR-ek ... 7
3.4.2. Molekuláris genetikai eredmények alapján végzett statisztikai vizsgálatok ... 8
3.4.3. A használt mérőszámok ... 9
4. Célkitűzések ... 12
5. Anyag és módszer ... 13
5.1. Anyag ... 13
5.1.1. A FEDO.HU ... 13
5.1.2. A NÉBIH ÁDI Állatgenetikai Laboratóriuma ... 13
5.2. Módszer ... 13
5.2.1. Törzskönyvi számítások ... 13
5.2.2. Genetikai számítások ... 15
6. Eredmények ... 16
6.1. A FEDO.HU ... 16
6.1.1. Látogatottsági statisztikák 2021.01.01 - 2021.10.01. között ... 16
6.2. A molekuláris genetikai vizsgálatok alapján végzett statisztikai számítások eredményei ... 17
6.2.1. Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés ... 18
7. Megbeszélés és következtetések ... 19
7.1. A törzskönyvi számítások eredményeinek megbeszélése ... 19
7.2. Az STR vizsgálatok eredményeinek megbeszélése ... 19
7.3. A fajta beltenyésztettségével kapcsolatban levonható következtetések ... 20
8. Összefoglalás ... 21
9. Summary ... 23
10. Irodalomjegyzék ... 25
11. Köszönetnyilvánítás ... 28

1. Rövidítések jegyzéke

BTE = beltenyésztési együttható

BYT = Biewer yorkshire terrier

CAD = Central Asian Shepherd Dog = Közép-ázsiai juhászkutya

COR = cane corso

CSD = Caucasian Shepherd Dog = Kaukázusi juhászkutya

FB = French Bulldog = francia bulldog

FCI = Fédération Cynologique Internationale = Nemzetközi Kinológiai Szövetség

F_{IS} = fixációs index

GR = golden retriever

GS = German Shepherd = német juhászkutya

ISAG = International Society of Animal Genetics

IW = Irish Wolfhound = ír farkaskutya

LR = labrador retriever

M = Maltese = máltai selyemkutya

MAN = Mannara's Dog

MEOESZ = Magyar Ebtenyésztők Országos Egyesületeinek Szövetsége

MKFE = Magyar Kuvasz Fajtagondozó Egyesület

MSD = Maremma and Abruzzese Sheepdog = abruzzói juhászkutya

Ne = hatékony populációméret (Goleman et al., 2021)

PIC = Polymorphic Information Content

SIL = Sila's Dog

SNP = single nucleotide polymorphism

STR = short tandem repeat = mikroszatellita = lokusz

YT = Yorkshire terrier

2. Bevezetés

Az őshonos kutyafajták fajtastandardját Magyarország kutyatenyésztő szervezete, a Magyar Ebtenyésztők Országos Egyesületeinek Szövetsége (MEOESZ) és azon belül a fajtatenyésztői klub adja a Nemzetközi Kinológiai Szövetségnek (FCI). Viszont ennél is fontosabb szempont, hogy magyar kutyafajtáink jólétét, egészségét is megőrizzük!

Napjainkban a genetikai sokszínűség a növekvő beltenyésztés miatt drasztikusan lecsökkent a fajtatiszta kutyákban, aminek negatív hatásai társállataink egészségére jól megfigyelhető. Ezek az okok vezették a Magyar Kuvasz Fajtagondozó Egyesületet (MKFE) arra, hogy a MEOESZ-szel és az Állatorvostudományi Egyetem, Állattenyésztési és Genetikai tanszékével (ÁTE-ÁTLT) együttműködve a tenyésztőknek egy, a tervezett párosításokból születendő kölykök beltenyésztettségét kiszámoló, mindenki számára hozzáférhető és könnyen érthető információkat tartalmazó internetes oldalt hozzanak létre. Ehhez a rendszerhez az angliai Kennel Club Mate Select honlapja adta az inspirációt, és a Hungarikum pályázat támogatta a létrehozását. A létrejött, nyilvános FEDO.HU honlap már az indulás után is jelentős forgalmat regisztrált az érdeklődő kuvasz tenyésztők részéről. Remélhetőleg a FEDO.HU teljesen átlátható törzskönyvi információival és a párosítás tervezésében lényeges számított értékeivel szemléletváltozást hozhat a magyar kutyatenyésztésben.

A 2016-ban Nemzeti Kinccsé nyilvánított őshonos kuvasz kutyafajtánk egészségének megőrzéséhez szeretnék hozzájárulni. Munkámban együtt vizsgáltam a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságához (ÁDI) tartozó Állatgenetikai Laboratóriumának származásellenőrzési molekuláris genetikai vizsgálatainak eredményeit és a FEDO.HU törzskönyvi adatok alapján számított teljes populációra vonatkozó adatait.

1.kép: Kuvasz kölyök. forrás: https://fedo.hu/hu/index.html

3. Szakirodalmi áttekintés

A kutyafajták legtöbbje az 1900-as évek közepén jött létre, a fajtatiszta tenyésztés kezdete és a fajtastandardok meghatározása idején (Wilcox & Walkowicz, 1995; Parker et al., 2004). A fajtatiszta kutyafajták egy szigorúan szelektált alapító állománytól származnak, amelyek megfeleltek az akkor felállított standardnak. Az alapítás után a további génáramlás tiltott volt, ezzel biztosítva az adott fajta tisztaságát és küllemi homogenitását. A kívánt fenotípus fenntartása érdekében sok tenyésztő alkalmaz vonaltenyésztést és népszerű kanok gyakori használatát (Leroy, 2011) (top sire effect).

3.1. A beltenyésztés kialakulása és hatásai

Egy bizonyos küllemi tulajdonságra történő erős szelekció gyakran okozza valamely allél visszafordíthatatlan kiesését és a következményes genetikai diverzitás csökkenést, amelynek nem kívánt, káros egészségügyi hatásai lehetnek (Pedersen et al., 2015; Keijser et al., 2018; Lampi et al., 2020). Emiatt kezdte el vizsgálni a lengyel agár fajtát a tenyésztőklub a betegségek tekintetében, mint például az öröklődő szemhibák vagy a csípőízületi diszplázia (Goleman et al., 2021). A genetikai diverzitás csökkenése a hatékony populációméret csökkenésével is összefügg, amelynek okai a fajtákkal szembeni túlzott küllemi elvárások napjainkban (Lampi et al., 2020; Mellanby et al., 2013). Az 1981-ben alapított lengyel agár fajta eleve kis alapító populációja viszont főleg a származási országban található, így a genetikai diverzitás korlátozott és már ezért megjelenhetnek genetikai betegségek (Goleman et al., 2021).

3.2. A beltenyésztés elkerülése

Fontos, hogy a tenyésztési szelekciót úgy végezzük, hogy közben fenntartjuk a fajta genetikai sokszínűségét. Ehhez szükség van a különböző kutyafajták genetikai diverzitásának ismeretére, illetve a felmerülő genetikai változások figyelemmel kísérésére (Radko & Podbielska, 2021). Növekvő érdeklődés figyelhető meg az őshonos fajták iránt, ezek megőrzése egyre fontosabb világszerte (Lee et al., 2014). A tátrai pásztorkutya egy ősi, lengyel kutyafajta, amelyből máig kevés a regisztrált egyed (2012-es adat alapján mindössze 383) az évente születő 50-55 alomból. Mindezek ellenére pozitív folyamatok jellemzik a tenyésztést. Ilyen a különböző kanok használata fedeztetésre, fedeztetési program felállítása külföldön is, valamint az import egyedek számára a kötelező tenyészengedély a lengyel tenyésztésben való használatukhoz. Megengedett továbbá az ismeretlen eredetű egyedek regisztrálása a nyitott törzskönyvbe, ezzel a fajtapopuláció szaporodási közösségének kiszélesítése. A hatékony populációméret növekedése az általános rokonsági fokot csökkenti az egyedek között és ez segít

a növekvő homozigozitás és a beltenyésztettség elkerülésében. A tenyésztői munka sikerességét mutatja a genetikai sokszínűség megőrzése és a homozigozitás elkerülése, amely akár letális gének megjelenését is okozhatná (Radko et al., 2017).

3.3. A beltenyésztés meghatározása törzskönyvi módszerrel

A sikeres becslésekhez elengedhetetlen a törzskönyvek megfelelő kitöltöttsége. A tenyésztésben résztvevő állatok törzskönyvi adatai információt nyújtanak egy adott populációról. Ezenkívül hasznos adatforrás a genetikai sokszínűség és a populációszerkezet vizsgálatához (Goleman et al., 2021).

3.3.1. A törzskönyvi elemzések és azok eredményei

A fajtatiszta kutyák genetikai sokszínűségének fenntartásához a tenyésztők a törzskönyvön alapuló beltenyésztési együttható (BTE) számolását használták a kezdetekben (Wright, 1922). Ezen BTE pontos meghatározásához viszont a törzskönyvekben meg kell keresni egy-egy fajta alapító egyedeit (Leroy et al., 2006; 2009). A nem túl régi fajtáknál ez még kivitelezhető, de például a golden retriever esetén több, mint 20 generáció átvizsgálását igényli (Ontiveros et al., 2019).

3.3.1.1. Alapító egyedek

Alapító egyedeknek azokat a kutyákat nevezzük, amelyeknek a törzskönyvben nincsen regisztrált őse. Goleman 2021-es cikkében 83 alapítót talált a törzskönyvek alapján a lengyel agár fajtában. Az ivararány 15 kan 51 utóddal, míg 23 szukához 92 utód tartozott. Ezek alapján az alapítók csak 45,78%-át használták fel a tenyésztésben, ebből következik, hogy sok alapító egyed (45) nem vett részt a tenyésztésben, így genetikai sokszínűségük elveszett (Goleman et al., 2021). A lengyel vadászkutya esetében 26 alapítót találtak Goleman (2019) tanulmányában, míg az észak-amerikai golden retriever populációban 16 alapítót említ Wang (2019).

3.3.1.2. Genetikai diverzitásra vonatkozó mérőszámok

A lengyel agár átlagos beltenyésztettsége (átlagos BTE) 0,1151, ami az irodalmi adatok alapján alacsonynak tekinthető, mert a tenyészpárokat a rokonpárosítások elkerülésével választották ki (Goleman et al., 2019). A francia bulldog törzskönyvi vizsgálataival 8 beltenyésztett kutyát találtak a vizsgált 33 egyedes mikropopulációban. Az egyedek BTE-ja 1,56 és 6,25% között mozgott 4,98%-os átlaggal, amit mérsékelt beltenyésztettségként értékelt Dzistiuk (2017) a tanulmányában, bár a mikropopuláció, mint a fajtaátlagot képviselő minta

erősen megkérdőjelezhető. A lengyel agarak esetében a szerző szerint alacsony volt (11,8%), viszont 872 egyedet beltenyésztettnek tituláltak az összesen vizsgált 912-ből. Továbbá a 20% feletti BTE megjelenése 23,8%-os, míg 25% felett 33 egyed volt. 8 magas BTE-jű egyednek nincs utódja (Goleman et al., 2021).

A hatékony populációméret (Ne) egy olyan létszámú állomány, amely még nem veszélyeztetett, fenntartható, hatékony és szaporodóképes (Szabó, 2004). A hatékony populációméret mellett, a genetikai szerkezet, történeti palacknyak-hatás (Leroy, 2011) vizsgálata fontos az ősi kutyafajtákban. Itt legtöbbször a kis populáción belül túlhasznált, népszerű kanok okoznak problémát (Goleman et al., 2021).

Az Ne 28,51- el egyenlő (Goleman et al., 2019), míg a 2021-es tanulmányát feldolgozó cikkben az átlagos értéke 21,76- ot mutatott (Goleman et al., 2021).

3.4. A beltenyésztés meghatározása molekuláris genetikai módszerrel

A molekuláris genetikai technikák populációgenetikai használatával lehetőség nyílik arra, hogy növeljük tudásunkat a tenyésztett állatok mellett a vadvilág populációiról is (Hewitt 1999; Schmitt 2007; Broquet & Petit 2009; Lowe & Allendorf 2010). Átfogó genetikai sokszínűséget vizsgáló kutatás már történt gazdasági haszonállatok esetében (SanCristobal et al., 2006; Hillel et al., 2003; Hanotte et al., 2002; Tapio et al., 2005; Cañón et al., 2006).

3.4.1. A vizsgálatban felhasznált STR-ek

A rövid ismétlődő motívumok vagy mikroszatelliták (STR) neve a nem kódoló, (intron) 2-6 bázispáros szakaszok ismétlődésére utal (Ruitberg et al., 2001). A genomokban sűrűn megtalálhatóak és magasan polimorfak az allélokra vonatkozóan, ezért gyakran használják a rokonsági, diagnosztikai és populációgenetikai vizsgálatokban (Edwards et al., 1991).

A genetikai sokszínűségi vizsgálatokhoz általában semleges mikroszatellita DNS markereket használnak, amelyek az egyedi azonosításhoz és származásellenőrzéshez is jól használhatóak a kutya esetében is (Koskinen & Bredbacka, 2000; DeNise et al., 2004; Irion et al., 2005; Asch et al., 2009; Radko & Słota, 2009; Dimitrijevic et al., 2013).

Elsőként egy 10 mikroszatellitából álló kit volt elérhető a kereskedelemben, amely nem mindig volt hatékony a szülők azonosításában, valószínűleg a különböző tulajdonságokra végzett erős rokontenyésztés és a szigorú szelekció miatt, amely következményesen csökkent genetikai változatossághoz vezetett.

A limitált genetikai változatosság már néhány STR esetében csökkent allélszámot okozott, ami megnehezítette az általánosan alkalmazható markereket tartalmazó panel kiválasztását. Emiatt az International Society of Animal Genetics (ISAG) ajánlásával (Dodd et al., 2001; Radko & Słota, 2009) egy 18 polimorf STR-ből álló panel használata terjedt el ezekre a vizsgálatokra, amelyet a Canine Genotypes 1.1 kit (Thermo Fisher Scientific) egyben tartalmaz és a kereskedelemben elérhető (Radko et al., 2017).

21 db STR (AHTk211, CXX279, REN169O18, INU055, REN54P11, INRA21, AHT137, REN169D01, AHTh260, AhTk253, INU005, INU030, FH2848, AHT121, FH2054, REN162C04, AHTh171, REN247M23, REN105L03, AHTh130, REN64E19) segítségével állították fel a lengyel vadászkutya (Goleman et al., 2019); tátrai juhászkutya (Radko et al, 2017); német juhászkutya (GS), máltai selyemkutya (M), ír farkaskutya (IW), Biewer yorkshire terrier (BYT), yorkshire terrier (YT), golden retriever (GR), labrador retriever (LR), francia bulldog (FB) lengyel populációi (Radko & Podbielska, 2021) és lengyel agár (Goleman et al., 2021) genetikai profilját. Bigi (2018) az itt felsorolt 21-ből 18 STR-t használt (a REN105L03, AHTh130, REN64E19 lokuszokat nem) a Sila's dog (SIL), abruzzói juhászkutya (MSD), Mannara's dog (MAN), cane corso (COR), közép-ázsiai juhászkutya (CAD) és a kaukázusi juhászkutya (CSD) esetében.

Az amelogenin markerrel történt az ivar meghatározása az AMELY és AMELX lokusszal a SIL, MSD, MAN, COR, CAD, CSD összehasonlításhoz Bigi (2018); a lengyel agár Radko (2021) esetében; valamint az észak-amerikai golden retrievereknél Ontiveros (2019) tanulmányában. A kínai labrador retriever populációnál azonban Wang (2019) a ZFXY lokusszal határozta meg a vizsgált egyedek nemét.

3.4.2. Molekuláris genetikai eredmények alapján végzett statisztikai vizsgálatok

Az egyes cikkek széles körben használtak különböző szoftvereket, amelyek a statisztikai vizsgálatok elvégzésében jelentettek segítséget: Alrequin v.3.5 (Bigi et al., 2018; Dimitrijevic et al., 2020; Wang et al., 2019), GenAlEx 6.5 (Ontiveros et al., 2019; Dimitrijevic et al., 2020).

3.4.3. A használt mérőszámok

3.4.3.1. Összes megfigyelt allél, átlagos allélszám, minimum és maximum allélszám, fajtákra jellemző allélok

Az allélok gyakoriságának vizsgálata a magasan polimorf lokuszokon lehetővé teszi a populáció szerkezetének vizsgálatát és változásainak detektálását (pl. tenyésztői szelekció következtében). A genetikai diverzitás vizsgálata és követése a megfelelő fedező partner kiválasztásában és a köztük lévő rokonság fokának meghatározásában is segítséget nyújt (Dodd et al., 2001; Radko & Słota, 2009).

Összesen 185 db allélt detektáltak Bigi (2018) és Radko (2021) összehasonlító tanulmányai, ahol az összes STR polimorf lett az összes vizsgált fajtában (Bigi et al., 2018). Ezen polimorfizmusok alapján már egyértelműen megállapítható a vizsgált kutyafajták közötti különbség. 100 db allélt találtak a tátrai juhászkutyánál a Radko (2017), 25 darabot a francia bulldog Dzitsiuk (2017) és 117 allélt a lengyel agár (Goleman, 2021) esetében. Az allélszámok a beltenyésztés következtében csökkennek, így a francia bulldog kiemelkedően beltenyésztettnek mutatkozott.

3.4.3.2. PIC

A Polymorphic Information Content (PIC) a genetikai kapcsoltságok felderítésében használatos mérőszám (Guo & Elston, 1999). A legtöbb fajtában 0,5 feletti, az ilyen markerek informatívnak (polimorfnak) számítanak, 0,25 és 0,5 között részben informatív, 0,25 alatt nem annyira informatív (Radko & Podbielska, 2021; Botstein et al., 1980).

Legalacsonyabb értéke 0,2792 a CXX279-es lokuszon a lengyel vadászkutyában Goleman (2019) esetében; a Radko (2017) összehasonlító tanulmányban 0,233, a sharplaninai juhászkutyánál 0,483, amit Dimitrijevic (2020) állapított meg és 0,4117 a kínai labrador retriever populációban (Wang et al., 2019).

Legmagasabb értéke 0,7522 az AHTh171-es lokuszon, amelyre tehát a legnagyobb mértékű polimorfizmus is jellemző a lengyel vadászkutyában Goleman (2019) tanulmányában. a Radko (2017) összehasonlításában a legpolimorfabb allél 0,8-as, a sharplaninai juhászkutyában 0,812 Dimitrijevic (2020) szerint és 0,8520-as értékű a kínai labrador retriever populációban (Wang et al., 2019).

3.4.3.3. A megfigyelt és a várt heterozigozitás

Az adott populációs mintában megfigyelt allélszámból számolt heterozigóták aránya adja a várt heterozigozitást (He), míg ebben a populációs mintában az adott lokuszon ténylegesen megfigyelt heterozigóták aránya a megfigyelt heterozigozitással (Ho) egyenlő. Józsa (2008) tanulmányában az általa vizsgált magyar tarka populációban az átlagos várt heterozigozitás (He) minden esetben meghaladta az átlagos megfigyeltet (Ho), amit beltenyésztettségként értékelt.

Általánosságban a két érték egymáshoz közel lett megfigyelve (Ho=0,6050 és He=0,6142) (Goleman et al., 2019). Egyenlő Ho és He értékeket figyeltek meg a Bigi (2018) tanulmányában 0,72. A He a legpolimorfabb allélon 0,8, míg a legkevésbé polimorfan 0,281 (Radko & Podbielska, 2021). A francia bulldog mikropopuláció Ho értéke 0,376, amely mutatja a heterozigozitás csökkenését. A beltenyésztettség következménye az alacsonyabb He érték, ami 0,422-vel egyenlő (Dzitsiuk et al., 2017).

3.4.3.4. Beltenyésztettségi koefficiens (BTE) avagy fixációs index (F_{IS})

A beltenyésztettség fokát adja meg a beltenyésztettségi együttható (BTE), az ideális populációhoz képest a fixációs index segítségével jellemezhetjük. Jelzésére általában f (F, pontosabban F_{IS}). Az f értéke alapján, ha f=0 nincs beltenyésztés, azaz ideális a populáció, míg f=1 esetben minden egyed homozigóta.

f értelmezhető úgy, hogy a beltenyésztés aránya a populációban, ha H a heterozigozitás,

$$f = \frac{2pq - H}{2pq} = 1 - \frac{H}{2pq}$$

(f=beltenyésztési együttható, p és q=allélgyakoriságok, H=heterozigozitás)

A heterozigozitás kifejezhető az f együttható segítségével

$$H = 2pq(1 - f) = 2pq - 2pqf$$

(H=heterozigozitás, f= beltenyésztési együttható, p és q=allélgyakoriságok)

A fixációs index, ami egyben a beltenyésztési együttható is, annak a valószínűségét fejezi ki, hogy egy lokusz két allélja azonos közös őstől származik. A valószínűségi és populációkon alapuló értelmezési mód egymással ekvivalens, a fixációs index becslésére alternatív megközelítést jelenthetnek (Pénzes, 2011).

A BTE kiszámítható az egyes egyedekre és az egész populációra is. Értéke elméletileg 0 és 1 között mozog. A markerekből kiszámított F_{IS} értéket – amelyik negatív is lehet – több szerző is BTE-nek (COI-nak) hivatkozza (Goleman, 2019).

10%-os BTE határt választottak a beltenyésztettség meghatározásához Ontiveros (2019) tanulmányában, mert korábbiakban jelentettek már 10%-nál magasabb BTE értéknél csökkenő reprodukciós sikert és alomszámot, valamint várható életkort. 12,5%-os BTE jellemző féltestvérek, vagy nagyszülő-unoka pároztatásánál. 25% feletti a szülő-utód párosítás és/vagy teljes rokon tenyésztésnél. A statisztikailag szignifikáns esetekben a 0 feletti érték beltenyésztettség lehetőségére utal, valamint egy magasabb homozigozitás jelenlétére a tenyésztésben résztvevő állatok esetében is (Leroy et al., 2015). A negatív értékek a heterozigóta túlsúly jelenétére utalnak a populáció esetében, amely a kedvelt heterozigóták szelekciójából eredményezhet (Goleman et al., 2021).

Negatív átlagos beltenyésztettségi együttható értéket (-0,012) kaptak Goleman (2019) tanulmányában, amely alacsony beltenyésztettségi szintet sejtet a lengyel vadászkutya fajtában. Továbbá az egyedek több, mint felében tapasztaltak negatív értéket a heterozigóta túlsúly miatt. A hét pozitív BTE-jű egyed viszont a homozigozitás, beltenyésztés növekedését támogatja.

A Radko (2021) népszerű lengyel fajtákat vizsgáló cikkében a BTE értéke –0,049 (GR) és 0,053 (YT) között változott, amely alapján a beltenyésztettség hiányát állapították meg ezekben a fajtákban.

A várt heterozigozitás indikátorai segítségével kiszámították Dzitsiuk (2017) tanulmányában is, a francia bulldog esetében, átlagos értéke 0,268, amely jól jelzi a magas beltenyésztettséget!

3.4.3.5. Hardy-Weinberg egyensúly (HWE)

A Hardy-Weinberg törvény szerint az egyedi allélok gyakorisága ugyanazon gén esetében változatlan marad ideális populációkban, így a genetikai egyensúly megőrzött és a várt heterozigozitás közel marad a megfigyelt értékhez (Dzitsiuk et al., 2017).

Nagyon szignifikáns eltérést tapasztaltak INRA21, míg szignifikánsat az AHT137 és AHTh130 lokuszoknál (Goleman et al., 2019). A Hardy-Weinbergtől való eltérés statisztikailag nem szignifikáns 95%-os szinten (Dimitrijevic et al., 2020). A kiszámolt valószínűségi értékek alapján 5 STR esetében kisebb, mint p=0,05, azaz nem szignifikáns eltérés volt HWE-től (Wang et al, 2019). A HWE-től a vizsgált, polimorf 9 lokuszból 5 tért el (Kusza et al., 2019).

4. Célkitűzések

Dolgozatom célja az volt, hogy az MKFE törzskönyvében szereplő kuvaszok beltenyésztettségi állapotát meghatározzam törzskönyvi számításokkal (FEDO.HU) és molekuláris genetikai módszerek alapján.

A két módszerrel kapott eredményt összevetettem és értelmeztem ezt az így, két irányból kiszámított, elméletileg megegyező mérőszámot.

2.kép: Kuvasz szuka kölykével forrás: https://fedo.hu/hu/index.html

5. Anyag és módszer

5.1. Anyag

5.1.1. A FEDO.HU

Az MKFE online beltenyésztettségi kalkulátora, a FEDO.HU a megfelelő működéséhez jelenleg 7713 kuvasz fajtájú egyed származási adatait tárolja.

5.1.2. A NÉBIH ÁDI Állatgenetikai Laboratóriuma

Dolgozatomban a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság Állatgenetikai laborjában az MKFE által törzskönyvezett kutyák 2018-tól végzett származásellenőrzési STR vizsgálatainak eredményeit használtam.

A NÉBIH egy 768 egyedet tartalmazó adatbázist hozott létre, amelyben a kutyák törzskönyvi neve, fajtája, neme, chipszáma, törzskönyvi száma, születési dátuma, az általuk adott minta típusa és laborszáma, valamint az anyja és apja törzskönyvi neve szerepel. Ebben az adatbázisban található az ISAG által ajánlott 21 db canine-STR panel a következő lokuszokkal: AHTk211, CXX279, REN169O18, INU055, REN5P11, AHTh130, INRA21, AHT137, REN169D01, AHTh260, AHTk253, INU005, INU030, FH2848, REN105L03, AHT121, FH2054, REN162C04, AHTh171, REN247M23, REN64E19, valamint az amelogenin marker a nem meghatározásához.

5.2. Módszer

5.2.1. Törzskönyvi számítások

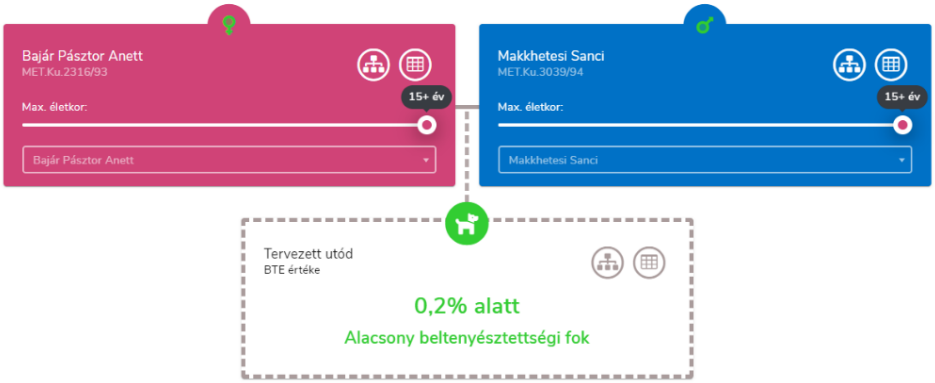
A Magyar Kuvasz Fajtagondozó Egyesület részben a MEOESZ törzskönyvi adatbázisából kapott korábbi és friss adatokat, részben a saját maguk által vezetett táblázatokat bocsátotta a FEDO.HU rendelkezésére. Nehézséget okozott viszont, hogy a két adatbázis között nem mindig volt egyszerű megtalálni a kapcsolatot, mert sokszor nem találtak azonosítót, a nevek írásmódja különbözött, előfordultak elütések, így a kapott táblázatokon adattisztítást kellett végezni. A FEDO.HU-ban szereplő, tisztított adatbázis alapján végeztük számításainkat.

A honlapon jelenleg körülbelül 2000 élő kuvasz (pontatlan adatszolgáltatások) adatai találhatóak. A FEDO.HU rendszer az őseikkel együtt összesen több, mint 7700 kutya rokonsági

kapcsolatait tárolja, mert minél pontosabban szeretnénk meghatározni a populációs beltenyésztési mérőszámokat, annál régebbre kell visszanyúlni a törzskönyvben.

A hivatalos származási lapon 4 generációt látunk (2 szülő, 4 nagyszülő, 8 dédszülő, 16 ükszülő), azaz 30 ős adatait kell ismernünk. Az ükszülőknek már 32 szülőjük van, a szépszülőknek 64, minden újabb generációnál tehát megkétszereződik a szülők száma összességében.

A honlapon egy-egy tetszőlegesen kiválasztott szuka és kan képzeletbeli párosítását végezhetjük el. A FEDO.HU rendszer az adatbázisban megtalálható családfákat veti össze egymással. A C++ nyelven íródott program vizsgálja, hogy az ősök között találhatóak-e ismétlődő egyedek és közöttük milyen rokonsági kapcsolatok vannak.



3.kép: Képernyőfelvétel a FEDO.HU BTE kalkulátoráról

Ezek a kapcsolatok egy gráfot alkotnak, ahol az ágak kétfelé ágaznak, viszont össze is nőhetnek (például mert egy egyednek az anyja és az apja is rokonok voltak). A gráf csomópontjain a kutyák és őseik állnak és az összekötő éleket járjuk végig, mint egy térképen a különböző útvonalakat. A rokonpárosításokat tartalmazó útvonalak kiválogatásával, valamint az ezekre futtatott számítás alapján megkapjuk végül a BTE értékét.

A szakirodalomban öt generációig javasolt az ősök vizsgálata, a FEDO.HU hét generációt vizsgál. Bár az adatbázisban találhatóak akár 10-15 generációra is visszanyúló rokonsági kapcsolatok, egy terebélyesebb családfánál a számítás hatványozottan növekvő időigénye a felhasználó számára is érezhetővé válhatna, emiatt döntöttek a tervezők a korlátozás mellett, hisz a távoli közös ősök egyre csökkenő hatással vannak az együtthatóra. Viszont látható, hogy

már ennyi adat figyelembevételével is pontos és elegendő mélységű információnk van a hazai kuvasz populáció beltenyésztettségéről.

5.2.2. Genetikai számítások

A Genetic Analyses in Excel (GenAlEx) 6.5 egy Microsoft Excel makró, amely populációgenetikai vizsgálatokra használható. Többféle genetikai markerrel is tud dolgozni, így az általunk preferált STR mellett single nucleotid polymorphism (SNP), illetve felerősített fragmentumhossz polimorfizmusokkal is. Az eredmények összesítésének szemléltetéséhez grafikonok készítése is lehetséges a makrón keresztül az Excelben.

Dolgozatomban a gyakoriság vizsgálatokat alkalmaztam, azon belül is az F-statisztikák, heterozigozitás és HWE eltérések számításával. A teljes populációra vizsgálva megállapítottam továbbá az allélok számát, valamint ezek gyakoriságát az egyes lokuszokon, illetve ezt szemléltettem is (Peakall & Smouse 2006, 2012).

Az adatokat a Microsoft Office Excelbe (2021) történő bevitelük során kodomináns jellegük révén két oszlopba kellett írni az egyes lokuszokhoz tartozó allélhosszakat bázispárban kifejezve. A templát menüpont segítségével lehetett megformálni az adattáblázatot, ehhez a lokuszok, minták és régiók számát, valamint a populációméretet kell megadni. A tényleges elkészítéshez a paraméterek megfelelő beállítása volt szükséges. A kodomináns mintához tartozó gyakoriságok kifejezésén belül egy alap populáció vizsgálatot kívántam végezni. A Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés vizsgálatához a Chi-négyzet próbát használta a GenAlEx.

6. Eredmények

6.1. A FEDO.HU

A FEDO.HU a 2011.10.01-én, vagy az azután született egyedek adatai alapján számítja ki az élő állomány BTE-jét, amely 5,36%-kal egyenlő. Az alapítók száma 517, azaz ennyi egyed esetében nem ismert egyik szülő sem. Az alapítók közül 232 esetben találtunk rögzített születési dátumokat, melyek alapján a legkorábbi 1987.08.04-én, míg az utolsó 2000.09.29-én született. Az adatbázisban található legmagasabb beltenyésztettségi érték 25%, jellemzően még a múlt században született egyedek között. Azonban megfigyelhető, hogy még a közelmúltban is született olyan egyed, amelynél a BTE érték 20% körüli.

Az oldalon havonta átlagosan több száz lekérdezés történik, így remélhetőleg a jövőben egyre ritkábban fordulnak elő magas BTE-jű párosítások és a kuvasz állomány beltenyésztettsége is csökkeni fog.

6.1.1. Látogatottsági statisztikák 2021.01.01 - 2021.10.01. között

Az online elérhető FEDO.HU esetében egy honlapot értünk, így az elérése is ezen keresztül lehetséges egyelőre kizárólagosan. Ebben az időszakban összesen 239 látogatója volt a honlapnak, mely számnak 38,1%-a mobiltelefonon keresztül érte el, ez 91 látogató. A legnagyobb részük (59,4%), azaz 142 felhasználó esetében számítógépes elérést értékeltek, illetve 6 látogató (2,5%) tabletről érte el.

A 228 felhasználóból 181 jelentkezett be Magyarországról (79,39%). Németországból jelentkeztek be 40-en (17,54%). Harmadik helyen állt Csehország 3 felhasználóval (1,32%). Negyedik helyen állt Hollandia 2 bejelentkezéssel (0,88%) 1-1 bejelentkezést detektáltak Ausztriából, Brazíliából, Finnországból, Nigériából, Romániából és Togo-ból, ezek 0,44%-kal egyenlőek.

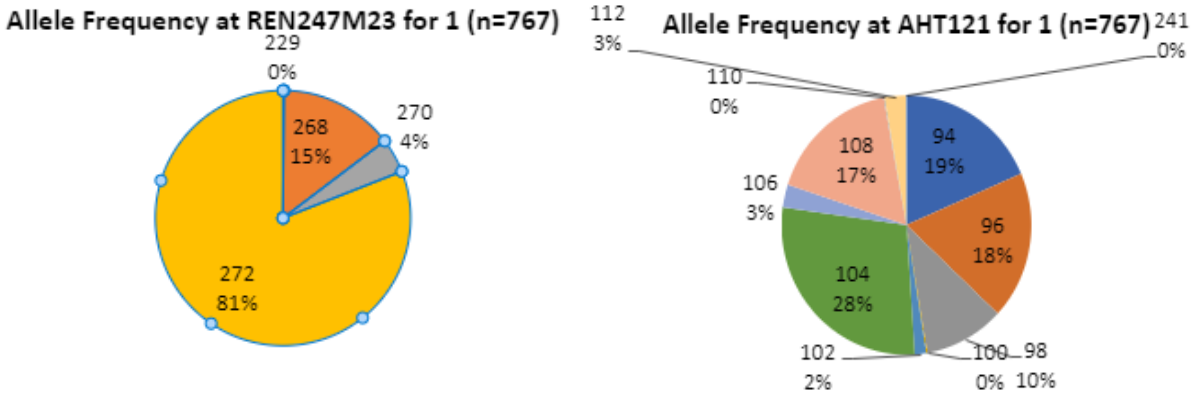
A tevékenység átlagos időtartama 10 perc 57 másodperc, amely tevékenységben átlagosan majdnem 60 perces óriási kiugrás figyelhető meg a június közepi időszakban.

A legtöbb megtekintés (1,6 ezer) a BTE kalkulátor fülhöz köthető, ezt követi a fedeztetés online (1,1 ezer) és a „Rólunk” általános rész (322).

6.2. A molekuláris genetikai vizsgálatok alapján végzett statisztikai számítások eredményei

Az összes megfigyelt allélszám 142. Az egyes lokuszokon található allélszám (Na) átlaga: 6,76 +/- 0,41, a hatékony allélok (Ne) esetében az átlag: 3,14 +/- 0,21. A populáció átlagos várt heterozigozitása (He) 0,65 +/- 0,03, míg az átlagos megfigyelt heterozigozitása (Ho) 0,65 +/- 0,03. A vizsgált 21 lokuszra vonatkozó ezen eredményeket az 1.táblázat tartalmazza.

A REN247M23 több mérőszámban, így a rá jellemző összes allélszám (Na=4), a hatékony allélszám (Ne=1,47), a várt (Ho=0,32) és a megfigyelt (He=0,33) heterozigozitás esetében is a legkisebb értékeket mutatta. Az Na=4 az AHTk211 lokuszra is jellemző volt, viszont más mérőszámban nem volt az alsó határon. Az AHT121 lokusz szintén több esetben, így a rajta lévő összes allélszám (Na=11), a hatékony allélszám (Ne=5,28), a várt (He=0,81) és a megfigyelt (Ho=0.82) heterozigozitás mérőszámokban egyaránt a legmagasabb értékeket mutatta a vizsgált lokuszok között. A legfixáltabb (REN247M23) és a legpolimorfabb (AHT121) lokusz allélgyakoriságait az 1.ábra tartalmazza.



1.ábra: A legfixáltabb (REN247M23) és a legpolimorfabb (AHT121) lokusz

A fixációs index legkisebb értékét az AHTk211 lokuszon figyeltük meg (-0,079). Hét STR mutatott pozitív értéket, melyek közül az egyik (REN5P11) lokuszon 0,00 értéket kaptunk, a legmagasabb a 0,07-es érték az INU030 lokuszon lett megfigyelve. Az F átlagos értéke: -0,07 +/- 0,08. Az összes vizsgált lokusz F értékeit az 1. táblázat tartalmazza.

6.2.1. Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés

A 21 STR-ből 11 esetben nem találtunk szignifikáns eltérést. Alacsony szignifikanciát (p<0,01) 4 lokusz esetében (CXX279, REN169O18, INRA21, AHT137), míg magas szignifikanciát (p<0,001) 6 lokusz (REN162C04, FH2054, AHT121, AHTh260, AHTh130, REN5P11) esetében találtunk. Az összes vizsgált lokusz szignifikanciáját az 1. táblázat tartalmazza.

1.táblázat: A vizsgált 21 lokusz mérőszámai

Locus	N	Na	Ne	Ho	He	F	Signif
AHTk211	752	5,000	2,251	0,600	0,556	-0,079	ns
CXX279	768	6,000	2,836	0,664	0,647	-0,026	**
REN169O18	768	6,000	4,487	0,759	0,777	0,023	**
INU055	767	6,000	4,026	0,756	0,752	-0,006	ns
REN5P11	767	8,000	3,817	0,738	0,738	0,000	***
AHTh130	764	10,000	1,850	0,473	0,459	-0,029	***
INRA21	767	6,000	3,509	0,763	0,715	-0,067	**
AHT137	768	7,000	3,373	0,704	0,704	-0,001	**
REN169D01	767	7,000	2,799	0,623	0,643	0,030	ns
REN169D01	764	7,000	3,930	0,723	0,746	0,031	***
AHTk253	765	4,000	2,639	0,625	0,621	-0,006	ns
INU005	765	7,000	3,294	0,675	0,696	0,031	ns
INU030	767	8,000	2,861	0,605	0,650	0,070	ns
FH2848	761	6,000	3,969	0,733	0,748	0,020	ns
REN105L03	759	5,000	2,770	0,663	0,639	-0,037	ns
AHT121	767	11,000	5,278	0,823	0,811	-0,015	***
FH2054	764	5,000	2,022	0,513	0,505	-0,015	***
REN162C04	767	7,000	2,316	0,559	0,568	0,016	***
AHTh171	767	10,000	3,924	0,757	0,745	-0,017	ns
REN247M23	767	4,000	1,474	0,330	0,321	-0,026	ns
REN64E19	762	7,000	2,554	0,636	0,608	-0,046	ns

N=egyedszám, Na=allélszám, Ne=hatékony allélszám, Ho=megfigyelt heterozigozitás, He=várt heterozigozitás, F=fixációs index,

ns=nem szignifikáns eltérés HWE-től, **=p<0,01, ***=p<0,01

7. Megbeszélés és következtetések

7.1. A törzskönyvi számítások eredményeinek megbeszélése

A FEDO.HU rendszer nagyon fontos eredménye az, hogy az eddig szétszórtan fellelhető törzskönyv töredékeket összegyűjtötte egy elektronikus törzskönyvi adatbázisba. Ezen adatbázis adattisztítása szintén lényeges lépése volt a rendszer építésének.

A BTE kiszámításának gráfos megvalósítása olyan számítási mód, amelyik sokkal megbízhatóbb és programozási szempontból átláthatóbb hátteret biztosít a rendszernek.

Az átlagos BTE jelenlegi 5,36%-os mértéke az átlagos irodalmi adatok alapján egyértelműen kis beltenyésztési együtthatónak tekinthető (Goleman, 2019, 2021).

A FEDO.HU rendszer létrehozásának szükségességét igazolja az élő állományban fellelt 20% körüli BTE-jű egyedek jelenléte. Az oldal a tenyészszezonon kívüli indulásakor mért (a FEDO.HU 2021 júniusában indult) magas látogatottsága alapján hatékony eszközévé válhat a tenyésztői szemléletváltozásnak.

7.2. Az STR vizsgálatok eredményeinek megbeszélése

A kuvasz fajta STR vizsgálataiban megfigyelt 142 allél a más, alacsony beltenyésztettségű helyi fajtához hasonlítható (Bigi, 2018; Radko, 2021; Radko, 2017; Dzitsiuk, 2017; Goleman, 2021). Az átlagos 6,76-os lokusz szám is azt mutatja, hogy a kuvasz fajta genetikai diverzitása megőrzött.

A várt és a megfigyelt heterozigozitás értékei egybeesnek a kuvasz fajtában, az STR vizsgálatok alapján nem találtunk beltenyésztettséget. Az egybeeső értékek arra is utalnak, hogy a törzskönyvi és molekuláris genetikai számítások alapján mindkét módszer megbízható eredményeket szolgáltat.

A F_{IS} érték átlaga -0,07 +/- 0,08 egyértelműen alátámasztja a fajta stabil, beltenyésztés nélküli populációgenetikai állapotát, habár a 0,08-as szórás esetleg minimálisan pozitív tartományba is billentheti az értéket. Ezt az értéket tekinthetjük a törzskönyvi adatok alapján számolt BTE értékkel azonosnak.

A Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérést jelző adatok alapján a 21 allélból 11, tehát a túlnyomó többsége (52,38%) egyensúlyban van és csak 6 lokusz (28,57%) esetében található az egyensúlytól való jelentős eltérés.

7.3. A fajta beltenyésztettségével kapcsolatban levonható következtetések

Az MKFE az alapszabályában (MKFE, 2019) meghatározott célkitűzésének eleget tesz. Az Egyesület vezetősége által létrehozott FEDO.HU, a lehetséges párosításokból születendő kölykök beltenyésztettségét kiszámító rendszer ezt a kedvező helyzetet segít fenntartani őshonos kutyafajtánkban.

Továbbá a nyilvánosan elérhető törzskönyvi adatbázis információk olyan szemléletváltozást hozhatnak a kutyatenyésztésben, amely a jövőben sokkal könnyebbé teheti a kutyafajták egészségmegőrzését.

A NÉBIH ÁDI biztosította genetikai származásellenőrzési vizsgálatok olyan biztos hátteret adnak ennek a tenyésztői munkának, amelyek biztosítják a megkérdőjelezhetetlen tenyésztői bizalmat.

4.kép: Fekvő kuvasz. forrás: https://fedo.hu/hu/index.html

8. Összefoglalás

Őshonos kutyafajtánk, a kuvasz a magyar pásztorkutyák legősibb típusához tartozik. Legkorábbi írásos említése a XV. századból maradt ránk. Napjainkban a fajtatiszta kutyatenyésztés komoly állatjóléti és állategészségügyi problémákkal szembesül a beltenyésztés miatt növekedő homozigozitás okozta genetikai betegségek miatt. A 150 éves fajtatiszta kutyatenyésztés úgy tűnik, hogy most ért el ahhoz a ponthoz, amikor a folyamatosan fogyatkozó genetikai diverzitás már nem képes ellensúlyozni a beltenyésztés káros hatásait.

Ez standard adó országként az őshonos kutyafajtáink esetében fokozottan a hazai fajtaklubok felelőssége. Ezt felismerve a Magyar Kuvasz Fajtagondozó Egyesület és az Állattenyésztési és Genetikai tanszék együttműködésével a MEOESZ és Hungarikum pályázat segítségével létrehozták a fedeztetés online, azaz FEDO.HU rendszert. Ezzel a szabadon hozzáférhető, törzskönyvi adatokra alapozott internetes rendszerrel a tenyésztők kiszámolhatják a tervezett párosításokból születendő kölykök BTE értékeit, amit a teljes élő állomány aktuális átlagos BTE értékével együtt mutat meg a FEDO.

A FEDO rendszer számította, az állományra vonatkozó pontos BTE értékek felvetették azt a kérdést, hogy a NÉBIH származásellenőrzési laborjában az őshonos fajtáknak végzett származásellenörzési STR vizsgálatok eredménye hogyan viszonyul a számított eredményekhez.

Dolgozatomban a törzskönyvi adatok alapján számított és a molekuláris genetikai mikroszatellita genotipizálási vizsgálatokkal megfigyelt beltenyésztésre vonatkozó mérőszámokat hasonlítottam össze.

A FEDO rendszer BTE számítási algoritmusa a 7. generációig veszi tekintetbe a rokonsági kapcsolatokat, tekintettel a számítási idő optimalizálására. Összesen 7713 kuvasz törzskönyvi adatát dolgoztuk fel az első bejegyzés 1987-ből található. 517 alapítóegyedet, találtunk, ennek ismeretével lehetséges az egyes vonalak összehasonlítása, mellyel a genetikai diverzitás, illetve a homozigozitás jelenléte is detektálható.

A molekuláris vizsgálatokhoz 768 egyed STR vizsgálati eredményeit használtuk. A genetikai soksínűséget az STR vizsgálatok eredményeiből a PIC in STR vizsgálatok alapján a H_O, H_E és a F_{IS} értékeket határoztuk meg.

Eredményeink alapján a laborvizsgálatok eredményiből, hasonlóan a törzskönyvi adatokból számított mérőszámok alacsony beltenyésztettségre utalnak.

Őshonos fajtánk genetikai sokszínűségét meg kell őriznünk, azaz a fedeztetéseket nem csak a rövidtávon remélt küllemi tulajdonságok alapján, de kutyáink jövőbeni egészségére is tekintettel kell terveznünk! Erre úgy tűnik a FEDO.HU első használati statisztikái alapján, hogy a kuvasz tenyésztők nyitottak!

9. Summary

Our native dog breed, the Kuvasz, belongs to the oldest type of Hungarian shepherd dogs. The earliest written mention of the XV. century left for us.

Nowadays, purebred dog breeding faces serious animal welfare and health problems due to genetic diseases caused by increasing homozygosity due to inbreeding. 150-year-old purebred dog breeding seems to have now reached the point where ever-declining genetic diversity can no longer offset the detrimental effects of inbreeding.

As a standard owner country, in the case of our native dog breeds, the responsibility of domestic breed clubs is increased. Recognizing this, in cooperation with the Hungarian Kuvasz Breeding Association and the Department of Animal Breeding and Genetics of University of Veterinary Medicine, Budapest, the online coefficient of inbreeding (COI) calculator, the FEDO.HU, was created with the help of the MEOESZ and Hungarikum tenders.

With this freely available internet tool based on pedigree data, breeders can calculate the COI values of puppies to be born from planned matings, which is shown by FEDO together with the current average COI value of the entire living dog breed population.

The FEDO system calculated the exact COI values for the living stock of Kuvasz breed, and this raised the question of how the results of the parentage test tests performed on native varieties in the NÉBIH parentage control laboratory relate to the calculated results.

The aim of this study to compare the measures of inbreeding calculated on the basis of pedigree data and observed with microsatellite (STR) genotyping studies.

The COI calculation algorithm of the FEDO system takes into account kinship relationships up to the 7th generation with a view to optimizing the computation time. A total of 7713 Kuvasz dog pedigree data were processed, the first entry is from 1987. 517 founders, we found it possible to compare the individual lines, with which the presence of genetic diversity and homozygosity can be detected.

The STR test results of 768 individuals were used for molecular studies. Genetic diversity was determined from HO test results based on PIC in STR tests, HE, and F_{IS} values.

Based on our results, the measures calculated from the results of laboratory tests, as well as from the pedigree data, indicate a low inbreeding in Kuvasz breed.

We need to preserve the genetic diversity of our native breed, that is, we need to plan for mating not only based on the appearance traits hoped for in the short term, but also with regard to the future health of our dogs! And based on the first usage statistics of FEDO.HU, it seems that the Kuvasz breeders are open to use the online COI calculator.

10.Irodalomjegyzék

van Asch, B., Alves, C., Gusmão, L., Pereira, V., Pereira, F. and Amorim, A. (2009), A new autosomal STR nineplex for canine identification and parentage testing. ELECTROPHORESIS, 30: 417-423. https://doi.org/10.1002/elps.200800307

Bigi, D., Marelli, S., Liotta, L., Frattini, S., Talenti, A., Pagnacco, G., Polli, M., Crepaldi, P. (2018). Investigating the population structure and genetic differentiation of livestock guard dog breeds. Animal, 12(10), 2009-2016. https://doi:10.1017/S1751731117003573

Broquet T, Petit EJ (2009) Molecular estimation of dispersal for ecology and population genetics. Annu Rev Ecol Evol Syst 40(1):193–216. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120324

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet. 1980;32(3):314-31. PMID: 6247908; PMCID: PMC1686077.

Cañón, J., García, D., García-Atance, M.A., Obexer-Ruff, G., Lenstra, J.A., Ajmone-Marsan, P., Dunner, S. and (2006), Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East. Animal Genetics, 37: 327-334. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2006.01461.x

DeNise, S., Johnston, E., Halverson, J., Marshall, K., Rosenfeld, D., McKenna, S., Sharp, T. and Edwards, J. (2004), Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American kennel club breeds using 17 canine microsatellite markers. Animal Genetics, 35: 14-17. https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2003.01074.x

Dimitrijević, Vladimir, Savić, Mila, Tarić, Elmin, Stanišić, Ljubodrag, Stanimirović, Zoran, Tabaković, Aleksandar and Aleksić, M. Jelena. "Genetic Characterization of the Yugoslavian Shepherd Dog – Sharplanina, a Livestock Guard Dog from the Western Balkans" Acta Veterinaria, vol.70, no.3, 2020, pp.329-345. https://doi.org/10.2478/acve-2020-0025

Dimitrijević, V, Stevanovic J, Savic M, Petrujkic B, Simeunovic P, Milosevic I, Stanimirovic Z. 2013. Validation of 10 microsatellite loci for their use in parentage verification and individual identification in the Yugoslavian Shepherd Dog Sharplanina. Ann Anim Sci. 13(4):715–722. https://doi.org/10.2478/aoas-2013-0047.

Dzitsiuk, V.V., Kruglyk, S.G. & Spiridonov, V.G. Features of genetic variability in microsatellite DNA loci in the French Bulldog dog breed. Cytol. Genet. 51, 291–295 (2017). https://doi.org/10.3103/S0095452717040016.

Dodd, J.N.; Morris, B.G.; Oliveira, D.A.A.; Bernoco, D. DNA testing for parentage verification and individual identification in seven breeds of dogs. Rev. Bras. Reprod. Anim. 2001, 25, 35–41.

Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. Am J Hum Genet. 1991 Oct;49(4):746-56. PMID: 1897522; PMCID: PMC1683171.

Goleman, M.; Balicki, I.; Radko, A.; Jakubczak, A.; Fornal, A. Genetic diversity of the Polish Hunting Dog population based on pedigree analyses and molecular studies. Livest. Sci. 2019, 229, 114–117. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.017

Goleman, M.; Balicki, I.; Radko, A.; Rozempolska-Rucińska, I.; Zięba, G. Pedigree and Molecular Analyses in the Assessment of Genetic Variability of the Polish Greyhound. Animals 2021, 11, 353. https://doi.org/10.3390/ani11020353

Guo X, Elston R, C: Linkage Information Content of Polymorphic Genetic Markers. Hum Hered 1999;49:112-118. https://doi.org/10.1159/000022855.

Hanotte, O., Bradley, D.G., Ochieng, J.W., Verjee, Y., Hill, E.W., and Rege, J.E., African pastoralism: genetic imprints of origins and migrations, Science, 2002, vol. 296, no. 5566, pp. 336–339. https://doi.org/10.1126/science.1069878.

Hillel, J., Groenen, M.A., Tixier-Boichard, M., Korol, A.B., David, L., Kirzhner, V.M., Burke, T., Barre-Dirie, A., Crooijmans, R.P., Elo, K., Feldman, M.W., Freidlin, P.J., Maki-Tanila, A., Oortwijn, M., Thomson, P., Vignal, A., Wimmers, K., and Weigend, S., Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools, Genet. Sel. Evol., 2003, vol. 35, no. 5, pp. 533–557.

Hewitt GM (1999) Post-glacial re-colonization of European biota. Biol J Linn Soc 68(1–2):87–112. https://doi.org/10.1111/j.1095-8312. 1999.tb01160.x

Irion, D.N., Schaffer, A.L., Grant, S. et al. Genetic variation analysis of the Bali street dog using microsatellites. BMC Genet 6, 6 (2005). https://doi.org/10.1186/1471-2156-6-6

Józsa Cs. 2008: DNS mikroszatellitek vizsgálata ló és szarvasmarha fajtákban. PhD értekezés. Keszthely, Pannon Egyetem. p.98. URL: https://konyvtar.uni-pannon.hu/doktori/2008/Jozsa_Csilla_dissertation.pdf Megtekintve: 2021.10.16.

Keijser, S.F.A., Fieten, H., Vos-Loohuis, M. et al. Heterozygosity testing and multiplex DNA panel screening as a potential tool to monitor health and inbreeding in a small, closed dog population. Canine Genet Epidemiol 5, 12 (2018). https://doi.org/10.1186/s40575-018-0068-6

Koskinen MT, Bredbacka P. 2000. Assessment of the population structure of five Finnish dog breeds with microsatellites. Anim Genet. 31:310–317.

Kusza, S., Nagy, K., Lanszki, J. et al. Moderate genetic variability and no genetic structure within the European golden jackal (Canis aureus) population in Hungary. Mamm Res 64, 63–69 (2019). https://doi.org/10.1007/s13364-018-0390-0

Lampi, S., Donner, J., Anderson, H. et al. Variation in breeding practices and geographic isolation drive subpopulation differentiation, contributing to the loss of genetic diversity within dog breed lineages. Canine Genet Epidemiol 7, 5 (2020). https://doi.org/10.1186/s40575-020-00085-9

Lee E-W, Choi S-K and Cho G-J 2014. Molecular Genetic Diversity of the Gyeongju Donggyeong dog in Korea. Journal of Veterinary Medical Science 76, 1359–1365. https://doi.org/10.1292/jvms.14-0189

Leroy, G. Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: Results from pedigree analyses. Veter. J. 2011, 189, 177–182. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.06.016

Leroy G, Phocas F, Hedan B, Verrier E, Rognon X. Inbreeding impact on litter size and survival in selected canine breeds. The Veterinary Journal. 2015; 203(1):74–8. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014. 11.008 PMID: 25475165

Leroy G, Rognon X, Varlet A, Joffrin C, Verrier E. Genetic variability in French dog breeds assessed by pedigree data. Journal of Animal Breeding and Genetics. 2006; 123(1):1–9. https://doi.org/10.1111/j. 1439-0388.2006.00565.x. PMID: 16420259

Leroy G, Verrier E, Meriaux JC, Rognon X. Genetic diversity of dog breeds: within-breed diversity comparing genealogical and molecular data. Anim Genet. Wiley Online Library; 2009; 40: 323–332. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01842.x

Lowe WH, Allendorf FW (2010) What can genetics tell us about population connectivity? Mol Ecol 19(15):3038–3051. https://doi.org/10. 1111/j.1365-294X.2010.04688.x.

Magyar Kuvasz Fajtagondozó Egyesület. Tenyésztési Program VI. Átdolgozott módosított változata. Hatályba lépés ideje: 2019 január 10. URL: https://drive.google.com/file/d/1mfjJcT_NBjCV6N-RH_ogkPdLFKe35RuM/view Megtekintve: 2021.10.17.

Mellanby, R.J.; Ogden, R.; Clements, D.N.; French, A.T.; Gow, A.G.; Powell, R.; Corcoran, B.; Schoeman, J.P.; Summers, K.M. Population structure and genetic heterogeneity in popular dog breeds in the UK. Vet. J. 2013, 196, 92–97. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.08.009

Ontiveros ES, Hughes S, Penedo MCT, Grahn RA, Stern JA. Genetic heterogeneity and diversity of North American golden retrievers using a low density STR marker panel. PLoS One. 2019 Feb 27;14(2): e0212171. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212171. PMID: 30811441; PMCID: PMC6392251.

Parker HG, Kim LV, Sutter NB, Carlson S, Lorentzen TD, Malek TB, Johnson GS, DeFrance HB, Ostrander EA, Kruglyak L: Genetic structure of the purebred domestic dog. Science 2004, 304(5674):1160-1164. https://doi.org/10.1126/science.1097406

Peakall, R. and Smouse P.E. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6, 288-295. https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28, 2537-2539.

Pedersen, N.C., Liu, H., Leonard, A. et al. A search for genetic diversity among Italian Greyhounds from Continental Europe and the USA and the effect of inbreeding on susceptibility to autoimmune disease. Canine Genet Epidemiol 2, 17 (2015). https://doi.org/10.1186/s40575-015-0030-9

Pénzes Zs., 2011: Populációgenetika. Szegedi Tudományegyetem. URL: https://expbio.bio.u-szeged.hu/evolution/popgen/book.html. Megtekintve: 2021.10.15.

Radko, A.; Podbielska, A. Microsatellite DNA Analysis of Genetic Diversity and Parentage Testing in the Popular Dog Breeds in Poland. Genes 2021, 12, 485. https://doi.org/10.3390/genes 12040485.

Radko, A.; Rubi´s, D.; Szumiec, A. Analysis of microsatellite DNA polymorphism in the Tatra Shepherd Dog. J. Appl. Anim. Res. 2017, 46, 254–256. https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1292912

Radko A, Słota E. 2009. Application of 19 microsatellite DNA markers for parentage control in Borzoi dogs. Pol J Vet Sci. 12(1):113–117.

Ruitberg CM, Reeder DJ, Butler JM (2001) STRBase: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community. Nucleic Acids Res 29:320–322. https://doi.org/10.1093/nar/29.1.320

SanCristobal, M., Chevalet, C., Haley, C.S., Joosten, R., Rattink, A.P., Harlizius, B., Groenen, M.A., Amigues, Y., Boscher, M.Y., Russell, G., Law, A., Davoli, R., Russo, V., Desautes, C., Alderson, L., Fimland, E., Bagga, M., Delgado, J.V., Vega-Pla, J.L., Martinez, A.M., Ramos, M., Glodek, P., Meyer, J.N., Gandini, G.C., Matassino, D., Plastow, G.S., Siggens, K.W., Laval, G., Archibald, A.L., Milan, D., Hammond, K., and Cardellino, R., Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers, Anim. Genet., 2006, vol. 37, no. 3, pp. 189–198

Schmitt T (2007) Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. Front Zool 4:11. https://doi.org/10.1186/1742-9994-4-1

Szabó Ferenc, Bokor Árpád, Bene Szabolcs, Polgár, J. Péter; 2004: Állatnemesítés, 3.fejezet - Rokontenyésztés (beltenyésztés). Pannon Egyetem, Kaposvári Egyetem.

Tapio, M., Tapio, I., Grislis, Z., Holm, L.E., Jeppsson, S., Kantanen, J., Miceikiene, I., Olsaker, I., Viinalass, H., and Eythorsdottir, E., Native breeds demonstrate high contributions to the molecular variation in northern European sheep, Mol. Ecol., 2005, no. 14, pp. 3951–3963. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02727.x

Wang, ML., Jin, XY., Xiong, X. et al. Polymorphism analyses of 19 STRs in Labrador Retriever population from China and its heterozygosity comparisons with other retriever breeds. Mol Biol Rep 46, 1577–1584 (2019). https://doi.org/10.1007/s11033-019-04601-4

Wilcox B, Walkowicz C: Atlas of Dog Breeds of the World. 5. In: T.F.H. Publications, Neptune City; 1995.

Wright S. Coefficients of inbreeding and relationship. The American Naturalist. 1922; 56(645):330–8. https://doi.org/10.1086/279872

11.Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőim, Dr. Bán Beáta és Dr. Maróti-Agóts Ákos áldozatos munkáját, amely nélkül nem jöhetett volna létre ez a TDK dolgozat. Külön köszönöm a belém fektetett bizalmat, hogy ezt a témát én dolgozhattam fel, valamint a türelmüket és a szakértelmüket, amellyel a magyar kutyatenyésztés, azon belül is a kuvasz fajta témakörében nagymértékben szélesíthettem a perspektívámat. Szintén ki kell emelnem a témához való lelkes hozzáállásukat, amivel a közös munka színvonalát tovább emelték. Dr. Bán Beáta esetében mindenképp meg szeretném említeni a nagylelkű adatszolgáltatását a NÉBIH ÁDI keretein belül, amely nagyszabású molekuláris genetikai eredmények nélkül nem tudtam volna a tanulmányt hitelesen elvégezni. Dr. Maróti-Agóts Ákos kimagasló hozzáállását pedig az is tükrözi számomra, hogy szabadidejét nem sajnálva, maximális odafigyeléssel, mindig és mindenben számíthattam rá.

Meg szeretném említeni továbbá az ÁTE Állattenyésztési és Genetikai Tanszék munkatársait, akik szintén minden módon könnyíteni és segíteni próbálták a munkánkat.

Végül, de semmiképp sem utolsó sorban hatalmas köszönettel tartozom Pallos Balázsnak is, a FEDO.HU programozójának. Az ő segítségének köszönhetően kaptam meg a FEDO.HU-hoz tartozó információkat, valamint minden igényünket igyekezett kielégíteni szintén idejét nem sajnálva a dolgozathoz szükséges adatokat tekintve.

A TDK dolgozat elkészítését a VEKOP-2.3.2-16-2016-00012 pályázat tette lehetővé.