

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**A magyar szürke szarvasmarhafajta fenotípusos és
genotípusos vizsgálata**

PhD értekezés

Dr. Maróti-Agóts Ákos

2010

Témavezető:

.....
Prof. Dr. Zöldág László
Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar
Állattenyésztési takarmányozási és laborállat-tudományi Intézet

Készült 8 példányban. Ez a ____ . sz. példány.

.....
Dr. Maróti-Agóts Ákos

Tartalomjegyzék

1.	Összefoglalás	6
2.	Bevezetés	7
3.	A Magyar szürke szarvasmarha küllemi leírása, és összehasonlítása más podóliai fajtákkal VATEM méretek alapján	8
3.1.	Bevezetés és célkitűzés	8
3.2.	Irodalmi áttekintés	9
3.2.1	A testméretfelvétel jelentősége és gyakorlata	9
3.2.2	A magyar szürke szarvasmarha testméreteire vonatkozó irodalmi adatok	14
3.3.	Anyag és módszer	15
3.3.1	A vizsgált szarvasmarha állományok	15
3.3.1.1	A hortobágyi gulya (egykor Hortobágyi Állami Gazdaság)	15
3.3.1.2	Tiszaigari gulya (egykor Középtiszai Állami Gazdaság)	16
3.3.1.3	Bugacpusztaházai gulya (egykor Városföldi Állami Gazdaság)	16
3.3.1.4	Szomor Dezső apaji magyar szürke gulyája	17
3.3.1.5	A Fertő-Hanság Nemzeti Park gulyája	17
3.3.1.6	Torre Mancinai maremman gulya	17
3.3.1.7	A Bandirmai török szürke szarvasmarha gulya	18
3.3.2	Módszer	19
3.3.2.1	A módszer bemutatása	19
3.3.2.1.1	A módszer részletes leírása	19
3.3.2.1.1.1	Terepszakasz	19
3.3.2.1.1.2	A felvétel helyszíne	20
3.3.2.1.1.3	A videófelvétel elkészítése	23
3.3.2.1.1.4	A mozgóképfelvétel folyamata	25
3.3.2.1.2	Feldolgozási szakasz	26
3.3.2.1.2.1	A videófilm avi fájl konverziója	26
3.3.2.1.2.2	Az állóképek elkészítése	26
3.3.2.1.2.3	Az egyedről készült kép szoftveres méretezése	27
3.3.2.1.2.4	A testméretek kiválasztásának szempontjai	28
3.3.2.1.3	A szoftver kimeneti adatainak értékelése	29
3.3.2.2	A módszer hibáinak vizsgálata	30
3.3.2.2.1	Perspektivikus torzulás	30
3.3.2.2.2	Technológiai hiba	32
3.3.2.2.3	Metodikai hiba	33
3.3.2.2.4	A mérési hibák vizsgálatának eredménye	34
3.3.2.3	A VATEM és a klasszikus testméretek összefüggése	35
3.4.	Eredmények	36
3.4.1	Teljes állományra vonatkozó eredmények	36
3.4.2	Az állományok összehasonlításának eredményei	40
3.4.3	A magyar szürke, maremman és a török szürke szarvasmarhafajták összehasonlítása	43
3.4.4	Korábbi és a mai állomány testméreteinek összehasonlítása	48
3.5.	Összefoglalás	50

4.	A magyar szürke szarvasmarhafajta mitokondriális DNS alapú diverzitás- és fajtaeredeti vizsgálata	52
4.1.	Bevezetés és célkitűzés	52
4.2.	Irodalmi áttekintés	53
4.2.1	A magyar szürke szarvasmarha eredetével kapcsolatos elméletek.....	53
4.2.2	A mitokondrium és a mitokondriális örökítőanyag öröklésmenetének sajátosságai ..	53
4.2.3	A mitokondriális örökítőanyag felépítése.....	54
4.2.4	Mitokondriális szekvenciákból számított populációgenetikai mérőszámok	55
4.2.5	Mitokondriális szekvenciákon alapuló filogenetikai vizsgálatok	56
4.2.5.1	Mitokondriális vizsgálatok a szarvasmarha domesztikációjával kapcsolatban.....	57
4.2.5.2	Mitokondriális vizsgálatok a szarvasmarhafajták kialakulásával kapcsolatban	64
4.2.5.3	Mintavételi anomáliák az irodalomban	68
4.3.	Saját vizsgálatok, anyag és módszer	69
4.3.1	Anyag	69
4.3.2	Tehéncsaládok a magyar szürke szarvasmarha-fajtában	69
4.3.3	A minta kijelölése	70
4.3.3.1	Törzskönyvi adatok földolgozása	71
4.3.3.1.1	Nyilvántartási rendszer	71
4.3.3.1.2	A tehéncsaládok elkülönítése	73
4.3.4	Mintavétel	74
4.3.5	A minta reprezentációjára vonatkozó adatok	75
4.4.	Módszer és saját vizsgálatok	75
4.4.1	Minta előkészítés, DNS tisztítás	75
4.4.2	PCR-reakció	75
4.4.3	Szekvencia analízis.....	77
4.4.3.1	A szekvencia kiértékelése	78
4.4.4	Populációstatisztikai és genetikai analízisek.....	78
4.4.4.1	Populáción belüli elemzések	78
4.4.4.2	Filogenetikai elemzések	79
4.5.	Eredmények	80
4.5.1	Haplotípus gyakoriságok és diverzitási mérőszámok a vizsgált mintában	80
4.5.2	Összehasonlítás más fajtákkal	83
4.5.3	Összehasonlítás régészeti mintákkal	85
4.6.	Következtetések	86
4.7.	Összefoglalás.....	88
5.	A HSP 70.2 hősokkfehérje promóter régiójának vizsgálata a magyar szürke szarvasmarha-fajtában.	89
5.1.	Bevezetés.....	89
5.2.	Irodalmi áttekintés	90
5.2.1	Hőstressz, termelési tulajdonságok, élettan, adaptáció, genetika.....	90
5.2.2	Hősokkfehérjék, HSP70.2	92
5.3.	Anyag és módszer.....	93
5.3.1	Anyag	93
5.3.2	Módszer.....	94

5.3.1	Minta előkészítés, DNS tisztítás	94
5.3.2	PCR-reakció	94
5.3.3	Szekvencia analízis	95
5.3.3.1	A szekvencia kiértékelése	95
5.3.3.2	PCR-RFLP genotipizálás.....	96
5.4.	Eredmények	98
5.5.	Következtetések	99
5.6.	További vizsgálatok	100
5.7.	Összefoglalás	101
6.	Új tudományos eredmények.....	102
7.	Irodalomjegyzék	103
7.1.	Irodalomjegyzék a „Magyar szürke szarvasmarha küllemi leírása, és összehasonlítása más podóliai fajtákkal VATEM méretek alapján” című fejezethez.....	103
7.2.	Irodalomjegyzék a „Magyar szürke szarvasmarhafajta mitokondriális DNS alapú diverzitás- és fajtaeredeti vizsgálata” című fejezethez.....	105
7.3.	Irodalomjegyzék a „A HSP 70.2 hőszokkfehérje promóter régiójának vizsgálata a magyar szürke szarvasmarha-fajtában” című fejezethez.....	110
8.	Tudományos közlemények.....	115
9.	Köszönetnyilvánítás.....	118

1. Összefoglalás

Jelen doktori értekezésben a magyar szürke szarvasmarhafajtát külleme és két genetikai polimorf rendszer alapján vizsgáltam

A küllemi vizsgálathoz kapcsolódóan, első lépésben kifejlesztettem a Videokép Análízis Testméret-felvétel Módszerét (VATEM) az Állattenyésztési Tanszék munkatársainak korábbi ötletéből. A módszerhez szükséges felszerelés könnyen szállítható, és elérhető árú. A módszerhez kiértékelő szoftvert terveztem. Meghatároztam a VATEM és a klasszikus módon felvett testméretek viszonyát, regressziós egyenletekkel. A testméretek felvétele után meghatároztam a fajta és a gulyák testméretének átlagát és statisztikai mérőszámait. A gulyák összehasonlítását diszkriminancia analízissel elvégezve megmutattam a főbb eltéréseket a tenyészetek között.

Végül egy utas varianciaanalízis (ANOVA) módszerével vizsgáltuk az állományok különbözőségét. Eredményeink alapján az összes állomány között szignifikáns eltérést találtam.

A genetikai vizsgálatok első lépésében az őshonos magyar szürke szarvasmarha eredetével kapcsolatos kérdésekre kerestem választ a mitokondriális DNS hipervariábilis részét a D-hurok szekvenciáinak vizsgálatával. A minta kiválasztásakor a törzskönyvi adatok felhasználásával a tehéncsaládokat szétválasztottuk alapítók (founderek) szerint, majd az eltérő mitokondriális vonalokból véletlenszerűen vettünk mintát ($n=80$). A kapott szekvenciák értékelésével megállapítottuk a fajta diverzitási paramétereit ($Hd: 0,854$), majd a szekvenciák filogenetikai értékelését követően arra a megállapításra jutottunk, hogy mivel a fajta az európai fajtákra jellemző haplocsoport összetételét mutatja nem tekinthetjük azoktól lényegesen különbözőnek. Az európai fajtától számított genetikaitávolság összehasonlításban elenyésző és ez megerősíti a közös európai ősből történt helyi kitenyésztés teóriáját.

A HSP 70-es hősokkfehérje szintézisét a környezeti tényezők, és a felső promter szakasz egy polimorf részlete befolyásolja szarvasmarhában. Munkám harmadik részének célja az volt, hogy a magyarszürke fajtában, és a kontrollként használt norvég fajtában megállapítsam a vad (wt) allél gyakoriságát, amely 2-3x annyi mRNS szintéziséért felelős, mint a másik, mutáns (AP2) allél. Eredményeim közel fixált gyakoriságot mutattak a hazai fajtában, valószínűsíthetően az évszázados adaptációnak köszönhetően, míg a norvég fajtában a két allél gyakorisága megegyezett ($p(wt)HG = 0.859419$, $p(wt)NFR = 0,5$)

Az eltérés okaként feltételezhető a teljesen eltérő klimatikus viszonyok hatása a kitenyésztés során történt környezeti adaptáció során.

2. Bevezetés

A magyar szürke szarvasmarhafajta – 2004 óta országgyűlési határozattal (32/2004 (IV.19)) is deklaráltan – hazánk nemzeti kincse. Primigenius csoportba és a podóliai fajtakörbe tartozó robosztus, igen ellenálló hústermelő fajtánk története messzire nyúlik vissza. A török kor után született írásos emlékek Magyarországon és sok európai országban megőrkítik a magyar marhát, lábon hajtott magyar ökrök húsát ették Nürnbergtől egészen Velencéig. A fellendülést majd a vámok okozta viszonylagos visszaesést követően, az új tejtermelő fajták megjelenésével létszáma apadt, de az első majd a második világháború után sem csökkent olyan mértékben az állomány, mint az 1960-as években. Az 1966-os adatok szerint összesen Hortobágyon 200 fajtatiszta tehén és 6 bika és egyéb tenyészetekben mindösszesen még 120 tehén és hozzávetőleg 10 bika maradt az egykor milliós nagyságú állományból.

Ez az állomány, a palacknyak legszűkebb keresztmetszete, a fajta XXI. századi történetének öröksége. Ami a mai állomány küllemében és genotípusában jelen van az ebből a gulyányi túlélő állományából, származik. A fajtát azok az állattenyésztők mentették meg, akik a hivatalos utasítások ellenére összegyűjtötték és nem küldték vágóhídra, hanem rejtegették, és idővel elérték, hogy Hortobágyon szürkemarha gulyák legelhessenek.

Napjainkban a fajta ismét fordulóponthoz érkezett. Az állomány nagyság elérte azt a határt ahol az elmúlt évtizedek génmegőrző munkája mellé az árutermelést szem előtt tartó módszerek is csatlakozhatnak. Ez ma már sokkal inkább szükségszerűség, mint lehetőség, hiszen az állomány jó része piaci viszonyok között termel. Az arányaiban jóval kisebb, de továbbra is folytatódó génmegőrzési munka támogatásához fontos feladat a jelen állapot rögzítése, hogy a változások követhetők legyenek.

Munkámban a Videókép Analizálásos testméret fölvetel módszerével végzett vizsgálatok eredményeivel a jelenlegi állomány fenotípus leírását végeztem el, a mitokondriális DNS vizsgálatával a fajt eredetére vonatkozó információk mellett a palacknyak és a mai állomány mitokondriális diverzitását vizsgáltam. Az utolsó fejezetben egy a hőtoleranciával kapcsolatba hozható, a magi DNS állományt érintő polimorfizmus (HSP 70.2) vizsgálatán keresztül igyekeztem bemutatni, hogy hogyan válhat fontossá egy régen honosult fajta a klimatikus szempontból változó jövő kihívásaival kapcsolatban.

3. A Magyar szürke szarvasmarha küllemi leírása, és összehasonlítása más podóliai fajtákkal VATEM méretek alapján

3.1. Bevezetés és célkitűzés

A magyar szürke szarvasmarhafajta küllemének, testméreteinek leírására az elmúlt évszázadban két alapvetőnek tekinthető munkában került sor. Magyar (1941) és Kerékyártó (1941) közös kutatásaiban 74 két évesnél idősebb magyar szürke tehenet vizsgált több tenyészetben, 1968-ban Bodó Imre vett fel testméreteket Hortobágyon. A két időpont nagyon fontos, hiszen a II. világháború pusztítása előtt még a fajta régi "dicsőségének" maradványát mérhette a két debreceni gazdászhallgató, míg 1968-ban Bodó Imre a csaknem teljes pusztulás túlélőinek testméreteit vehette fel (*Bodó, 1968*). A testméretek összevetésekor (bővebben lásd: 1.5.7) úgy tűnik az adatok nem térnek el nagymértékben, de az azóta eltelt negyven év tenyésztői munkájának eredményeiről a testméretek vonatkozásában eddig nem voltak adataink. Ennek okaként a külterjes tartásban nevelkedett egyedek testméretfelvételének nehézségeit tekinthetjük, hiszen időigényes és veszélyes feladat szaggal, bottal a lekötés ellen küzdő teheneket megmérni.

A technológiai fejlődéssel napjainkra lehetővé vált a digitális videofelvétel készítés és a számítógépes képfeldolgozás, amelyek gyors és olcsó optometriai eljárásokat tesznek alkalmazhatóvá számos területen. Az állat helyett az állatról készült mozgókép megállítása a méréshez még egy szilaj magyar szürke gulyánál sem igazán veszélyes, ezért fejlesztettem ki az Állatorvos-tudományi Egyetem Állattenyésztési Tanszék munkatársainak ötletén alapuló Videókép Analizálásos Testméretfelvétel (VATEM) módszert a testméretek felvételére.

2000-ben kezdett vizsgálataim célja a következő volt:

- a fajta öt legnagyobb tenyészetének VATEM felvétele és a testméretek meghatározása
- a mért adatok alapján a fajta küllemének leírása, a statisztikai mérőszámok meghatározása
- a jelen állapot fényképes dokumentációjával azt a fajta történeti fordulópontot is rögzíteni kívántam ahonnan a létszám növekedésének köszönhetően az árutermelésre irányuló szelekciós munka is újraindult.

3.2. Irodalmi áttekintés

3.2.1 A testméretfelvétel jelentősége és gyakorlata

Az állattartás-állattenyésztés történetében először a lovak esetében figyeltek fel arra, hogy az alkat és a teljesítmény szorosan összefügg. Szintén a lótenyésztésben mutatkozott először az a törekvés, hogy az alkat elfogulatlan megítélésére különféle méreteket (marmagasságot, szárkörméretet stb.) állapítsanak meg. Az itt kifejlesztett mérési eszközöket alkalmazták később a többi állatfajra is, s ezek többsége mind a mai napig világszerte használatos.

Az alkat megítélése ennek ellenére hosszú ideig elsősorban szubjektív módon történt, a „jó szemű” tenyésztő az állat testalakulásából, mozgásából nagy biztonsággal következtetett (és következtet ma is) adott egyed teljesítményére.

A XVII. században a takarmánynövény-termesztés, az árutermelés elterjedésével az állattartás állattenyésztéssé rangosult. A parlagi fajtákat a kialakuló piacgerjesztő hatására kultúrfajták váltották föl. Az 1827-ben alapított shorthorn törzskönyv a bizonyítéka a küllemi bírálat és a testméret-felvétel jelentőségének. Eleinte az erő-, később a hústermeléssel összefüggő küllemi bírálat, a testméretek pontos felvétele és rögzítése alapvető követelménnyé vált. Bár az első mérőeszközök megjelenése pontosan nem behatárolható, tény, hogy bevonult az állattenyésztés eszköztárába a napjainkban is használatos mérőbot, mérőszalag, majd az ívkörző és egyéb eszközök.

A mérőeszközök előnye, hogy általában olcsók és könnyű a használatuk.

A mérések hibahatára 1-2%, melyet azonban a nem megfelelő körülmények és a szakszerűtlen használat még néhány százalékkal növelhet (*Schwark, 1983*). *Nemes (1989)* a hibahatárt húsmarhán mért nyolc méret átlagában 5,25%-nak találta, a legkisebbnek a törzshosszban (1,81%), a legnagyobbban a harmadik farszélesség esetében (16,43%). Ennek a módszernek a hátránya, hogy csak standard körülmények között (vízszintes, száraz talajon szabályosan négy lábra állított állat esetében) – használható, a mérés pedig munkaigényes, különösen nagyszámú állomány felvétele esetén. Az élénk vérmérsékletű, szilaj természetű gulyában tartott, lekötéshez, emberhez nem szokott állatok méreteinek mérőeszközökkel történő felvétele ráadásul veszélyes, illetve az ideges állatot szinte lehetetlen szabályosan felállítani, így a hiba is meglehetősen növekszik. Mindezek miatt merült fel az igény az állattenyésztésben más módszerek kidolgozására.

Lehmann (1909) sztereó fényképek felvételével és kiértékelésével kísérletezett, segítségül véve a térképészetben alkalmazott sztereó-fotogrammetriát. A sztereó fényképek se-

gítségével egy helyszínről vagy állatról azonos időben eltérő irányból (pl. egymástól egy méter távolságban lévő kamerákkal) készített felvételek bonyolult eljárással történő értékelésével pontos méretek számíthatók helyszíni méretfelvétel nélkül is. Eljárást dolgozott ki a perspektivikus torzulás kiküszöbölésére is. Módszerét a lótenyésztőknek ajánlotta.



1. ábra: Lehmann sztereofotogrammetriás eszközei és a ló testméretfelvételhez készített hátul- és előlnézeti sztereofelvételek.

Knoll és mtsai (1936) már az ugrólovak mozgását is elemezték lassító kamerával (Zeitlupe).

Ezt követően *de Boer és Nijboer (1973)*, valamint *Jankowski (1975)* kezdték kidolgozni a szarvasmarhák optikai méretfelvételét. *de Boer* a hasított állati test vágóértékének becsléséhez sztereó diapozitívokat vett igénybe, *Jankowski* pedig élő állatokról készített sztereó felvételek elemzésével következtetett azok vágóértékére. Eljárásuk alapelve – *LEHMANN*éhoz hasonlóan - a térképészetben használt sztereó-fotogrammetria, melynek segítségével elkészíthető az állat „domborzati térképe”. Az eljárás nagyon pontos méréseket tesz lehetővé, de mind a felvételek készítéséhez, mind pedig kiértékelésükhöz költséges berendezések szükségesek.

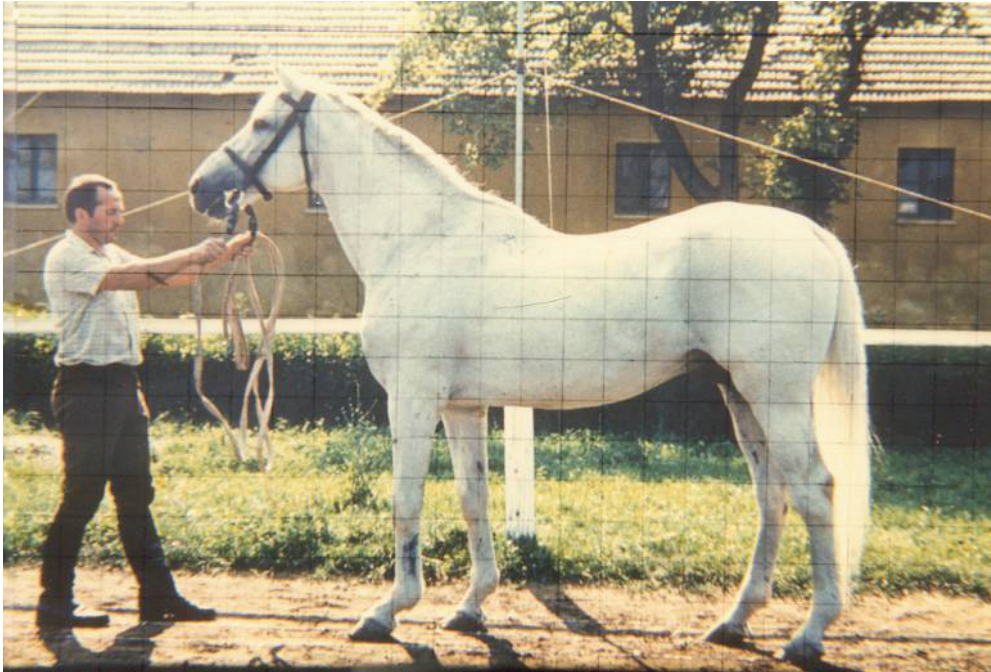
Mészáros (1977) kidolgozott egy fotometriás eljárást, amely nem sztereó felvételek készítésén alapul, tehát jóval olcsóbb. Az állatokat kezelőfolyosóba épített, vasból készült négyzetrács mögé állítva fényképezte, és az így készült papírképről olvasta le a méreteket (a méreteknek a vasrácsra vetülő transzformált hosszát). A körülményesen működtethető – az egyedeket a felvételhez a rács hidraulikus „rányomásával” rögzítő – berendezéssel és az aránylag drága képkidolgozással terhelt módszer figyelmen kívül hagyja a perspektivikus torzulásból eredő méretkülönbségeket.



2.ábra: A Mészáros féle hidraulikus rögzítő és optometriai rács

Soós (1985) az eljárást továbbfejlesztve a lovak méreteit vizsgálta. Külön fényképezte

le az állatot és annak helyén, annak képzeletbeli középsíkjába helyezve külön a vasrácsot, majd ezek képeit egymásra vetítve olvasta le a méreteket. Az állat medián síkjába eső méretek perspektivikus torzulása így elhanyagolható lett. Gondot okozott azonban a vetítívázon síkja és a diavetítő lencsetengelyének merőlegesre állítása, mert a méretet leolvasó személy eltakarja a képet.



3. ábra: Ló testméretfelvétel Soós módszerrel egymásra vetített állat és négyzetrács segítségével

A fent leírt eljárások mindegyikében az állat álló helyzetében készültek a felvételek.

A fényképfelvételekről történő méretmegállapítás a gyakorlatban könnyen alkalmazható és eredményes, de a mérés így is lassú, hiszen a film előhívása hosszú időt igényel, és csak ezután derül ki, hogy az állat a fényképezés pillanatában a méretfelvételhez megfelelő helyzetben volt-e, különben az egész műveletet meg kell ismételni.

Hazánkban *Vági és mtsai (1987)*, valamint *Bodó és mtsai (1988)* foglalkoztak először a számítógépes képfeldolgozásra épülő testméret-felvétellel. Az eljárás főbb lépései: fénykép, ill. videó felvétel készítése, a képanyag digitalizálása, a rögzített kép interaktív előfeldolgozása, végül a testméretek megállapítása és a mérési adatok tárolása.

Bodó és mtsai (1988) charolais teheneken végeztek méréseket (4. ábra) és megállapították, hogy a mérési hiba a hagyományos mérési technika alkalmazásakor mutatkozik na-

gyobbnak, valamint hogy húsmarhákon különösen a harmadik farszélesség megítélése nehézkes.



4 ábra: Méretfelvétel a Szikszói Állami Gazdaságban, sodronyháló mögött

Az optikai méretfelvétel alkalmazhatóságában *Nemes (1989)* tett jelentős előrelépést. A hagyományos mérési és fényképezési eljárásokkal szakítva videokamerát használt, s a felvevőgép előtt nyugodtan elhaladó (s eközben szabályosan és biztosan ismétlődő mozgásfázis következtében azonos testtartású) állatokról készült film egy-egy kimerevített képkockájának kiértékelésével következtetett a méretekre. E módszer előnye, hogy az állatot nem kell mozdulatlanságra és szabályos testtartásra kényszeríteni: nem észleli a testméret felvételével járó procedúrát, a védekezési reakciók következtében nem vesz fel természetellenes testtartást. Fontos újítása még a felülnézeti felvételek bevezetése, mellyel új perspektíva nyílik meg a tenyésztők számára.

Vági (1991) limousin bikákon végzett mérései alapján megállapította, hogy a képfeldolgozás módszerével a testméretek nagy pontossággal, jó ismételhetőséggel határozhatók meg. *Gaál (1994)* a technika fejlődését követve, számítógépes szoftver alkalmazásával már húsmarhákról készült digitalizált képeket dolgozott fel.

Zehender és mtsai (1996) 1988-ban kezdtek el kifejleszteni egy számítógépes rendszert, mely a következőkből állt: videokamera, ultrahangos telemeter (távolságmérésre), számítógép és egy nagyfelbontású képernyő, mely eszközöket az évek során korszerűsítet-

ték. Eljárásukban az állatnak megfelelően „pozícionálva” kellett állnia. „Etalonként” egy 20 cm-es rudat használtak, az állat fölött, annak medián síkjában elhelyezve. Az így kapott méretek eltérése a kézzel mért adatoktól 0,2-1,1% volt (*Balestra et al., 1994*).

Schwartzkopf-Genswein és munkatársai (1998) az etológia területén alkalmazták a videófelvételre épülő képfeldolgozást Hízómarhák viselkedését vizsgálták a besütés alkalmával.

Bianconi és Negretti (1999) a számítógépes képanalízist, mint a tejelő tehének lineáris küllemi bírálatának lehetséges módszerét mutatja be, hangsúlyozva, hogy a módszernek nem célja (és nem is képes) helyettesíteni a küllemi bíráló személyét, hiszen a bírálat részét képezik az állat kondíciójára és egészségi állapotára vonatkozó észrevételek is. Rámutatnak azonban, hogy ez a módszer eszköz lehet a bírálók számára, mivel gyors, egységes, pontos és objektív, valamint reálisan szemlélteti az egyedek között fennálló biológiai változékonyságot.

Tózsér és mtsai (2000) 16 húshasznú és 17 tejhasznú tehén marmagasságát és mellkasmélységét mérték meg hagyományos módszerrel, ill. videókép alapján. A képanyag felvétele áthajtó folyosóban, az állatok megállítása nélkül történt. Mindkét hasznosítási irányban a hagyományos módszerrel mért marmagasság átlagértéke szignifikánsan ($P < 0,05$) nagyobb volt a videókép-analízis átlagos eredményénél, a mellkasmélység esetében 1 cm-es különbséget tapasztaltak a két mérési módszer átlageredménye között, amely statisztikailag nem volt bizonyított ($P > 0,05$). Eredményeik alapján javasolják a videóképelemzés alkalmazását a gyakorlatban a testméretek felvételére.

Harvey és munkatársai (2003) egy, a déli féltekén honos tonhalfaj (*Thunnus maccoyii*) 47 egyedének testméreteit vették fel sztereó-videó módszerrel, két kamera szinkron használatával. Két testméretet vizsgáltak, átlagos eltérésként a manuális méréshez képest 0,16 ill. 0,51%-ot kaptak.

Bianconi és Negretti (2005) képelemzéses eljárással becsülték meg chianina fajtájú szarvasmarhák élősúlyát, vágósúlyát és a színhús-súlyát, majd eredményeiket összevetették elektronikus mérleggel mért értékekkel. A közvetett (képelemzés) és a közvetlen (elektronikus mérleg) mérések közötti különbség 0,5% (élősúly, vágósúly) ill. 0,98% (színhús), a közöttük lévő átlagos korreláció pedig 0,97 ill. 0,8 volt ($P < 0,01$).

3.2.2 A magyar szürke szarvasmarha testméreteire vonatkozó irodalmi adatok

A magyar szürke szarvasmarhára vonatkozó első testméretfelvétel eredményét Tormai Bélának a Magyar Királyi Állatorvosi tanintézet akkori igazgatójának 1877-es Szarvas-

marha és annak tenyésztése című (*Tormay, 1877*) könyvében találhatjuk. „Helyesen alakult” és „igen szép Csáky-féle marha Mezőhegyesről” marhák méreteit írja le, és hozzáteszi, hogy azért írja le hosszabban az méreteket, hogy ha „a tisztelt olvasó szintén méréseket eszközöl” saját „tehéneken vagy bikán, mely elég kezes hogy a mérés rajta teljesíthető legyen, összevehesse saját eredményeivel. A mért egyedek számát nem említi. A könyv 1901-es „A szarvasmarha és tenyésztése” címmel megjelenő harmadik bővített kiadásában (*Tormay, 1901*) – a mintanagyság említése nélkül – dunántúli, erdélyi és magyarországi „községi” tehének átlagos testméreteit is közli.

Monostori Károly a Magyar Királyi Állatorvosi Főiskola nyilvános, rendes tanárának 1906-ban megjelent „A szarvasmarhatenyésztés alapvonalai” című könyvében (*Monostori, 1906*) tesz említést a „magyar marha” 130 és 160 cm közötti marmagasságáról egyéb adatok nélkül.

Mattes 1927-ben megjelent monográfiájában 136,1 centiméteres átlagos marmagasságot említ.

Ezt követően a fajta testméreteire vonatkozó első statisztikailag alátámasztott adatokat Csukás Zoltán két tanítványa, *Magyari (1941)* és *Kerékgyártó (1941)* által készített tanulmányokban találhatjuk. *Magyari András* „A podóliai szürkemarha „alföldimagyar” fajtájának testnagysága” című és *Kerékgyártó Géza* „A podóliai szürkemarha „alföldimagyar” fajtájának testarányai” című munkája egy közösen végzett széleskörű felmérés eredményeit közli.

Ezt követően már csak *Bodó Imre* 1968-ban elkészített kandidátusi disszertációjában (*Bodó, 1968*) találhatunk testméreteket (20. táblázat).

3.3. Anyag és módszer

Vizsgálatunk során minden esetben már ellett (3 évesnél idősebb) magyar szürke szarvasmarha fajtába tartozó tehének testméreteit vettük fel.

3.3.1 A vizsgált szarvasmarha állományok

3.3.1.1 A hortobágyi gulya (egykor Hortobágyi Állami Gazdaság)

Az egykori Hortobágyi Állami Gazdaság magyar szürke teheneit és bikáit 1951–52-ben Hajdú, Szabolcs és Szatmár megye területén vásárolták. Genetikai szempontból azért meghatározó fontosságú ez a magyar szürke gulya, mert hosszú időn keresztül az ország legnagyobb állománya volt, ahonnan a tenyész bikák zöme is származott. A jogutód Horto-

bágyi Génmegőrző Kht. az ország tenyészbikával és tenyészüszővel való ellátásában továbbra is nagy jelentőséggel bír.

Ebben az állományban az egyértelmű tenyész cél az állomány saját genetikai sokféleségének megőrzése. A tenyésztési, ill. párosítási terv ennek megfelelően – a génállomány beszűkülésének elkerülése érdekében – előírja, hogy minden eredeti hortobágyi vonalból (B, C, M, T, V) kell bikát használni. Ugyanezen cél érdekében a teheneket is három gulyába sorolva tartják:

I. gulya (az „aranygulya”). Teheneit ún. uradalmi típusba tartozó súlyos küllemi hibától mentes, szép fehér szarvú tehenekből kell összeválogatni, és ennek megfelelő üszőkkel pótolni.

II. gulya (a „gyémántgulya”). A genetikai sokféleség megjelenítését szolgálja. Ebben a gulyában minden küllemi alakulás, ami a fajtajellegnek megfelel és minden egyéb tényező (pl. vércsoport) megtalálható. Cél, hogy a gulya kellően heterogén képet mutasson, természetesen a fajtajelleg megtartásával. A bikák beosztása és az utánpótlásra szánt üszők kiválogatása is eszerint történik.

III. gulya (a „cifragulya”). Az előző két anyaggulya tartalékát képezi. Utánpótlása a másik két gulyából származik. Azok az üszők kerülnek ide, amelyek a kiválogatás alkalmával évjárattársaiknál kevésbé feleltek meg az I. és II. gulya követelményeinek.

A gulyák kívánatos létszáma 200 tehen. Ezt csökkenti a mindenkori selejtezés, és hozzájönnek az – előző évben fedeztetett és a fedeztetésre beosztott – előhasi üszők. A három anyaggulyán kívül növendék- (szűz-) és bikagulya is van.

Méréseinket az I. és az II. gulya tehenein végeztük 2001-ben. Az állatok életkora különböző, hiszen a gulyába sorolás feltételi között az életkor nem szerepel.

3.3.1.2 Tiszaigari gulya (egykor Középtiszai Állami Gazdaság)

Az ötvenes években vásárolt, valamint a későbbi évek során megszűnt állami gazdaságokból (Mezőnagymihály, Hosszúhát) idekerült állatokból alakult. 1962 óta, akárcsak a hortobágyi, fajtatizta törzstenyészet. A kilencvenes években az állomány egy része a Hortobágyi Kht. tulajdonába került. Jelenleg a Tiszaigari Mezőgazdasági Kft. a működtető.

Felvételeinket 2002-ben készítettük különböző életkorú tehenekről.

3.3.1.3 Bugacpusztaházai gulya (egykor Városföldi Állami Gazdaság)

A Kiskunsági Nemzeti Park tulajdonában lévő bugacpusztaházai gulyát részben

Ohatról, részben a környékről vásárolt tehennel alapították. 1962-ben az Állami Gazdaságok Országos Központja elrendelte megszüntetését, de a gazdaság a bugaci idegenforgalomra való hivatkozásával megmentette. A Kiskunsági Nemzeti Park tulajdona az apaj-szunyogmajori bikanevelő telep is, ahonnan sok értékes bika kerül ki.

Felvételeinket 2004-ben készítettük különböző életkorú tehenekről.

3.3.1.4 Szomor Dezső apaji magyar szürke gulyája

A tenyészetet Szomor Dezső kertészmérnök alapította hortobágyi, majd városföldi üszők megvásárlásával. Az állomány a saját tenyésztésű egyedek beállításából szaporodott, ami kiegészült a Csengeléről, valamint Tiszaigarról vásároltakkal is. A tehénlétszám már 1994-ben meghaladta az 500-at. Az alapítón kívül ma egy – több tenyésztőből álló – társaság birtokolja a gulyát, és a Kiskunsági Nemzeti Park területét bérlő. A tartásmód a lehető legridegebb, amelyet még kár nélkül elszerved a fajta. A tulajdonos tervbe vette a legalkalmasabb nőivarú egyedek törzsállományként való kezelését; fajtatisztán elsősorban a jó borjúnevelési tulajdonságok fejlesztését tűzte ki tenyészcélul. Felvételeinket 2001-ben készítettük különböző életkorú tehenekről.

3.3.1.5 A Fertő-Hanság Nemzeti Park gulyája

A gulya 1992-ben alakult meg a szalkszentmártoni egykori OTÁF telep és az egykori Városföldi Állami Gazdaság immár nemzeti parki teheneinek áthelyezése révén Sarródon a fertőd-hansági hagyományoknak megfelelően. Ezen a területen is volt valamikor magyar szürke állomány, amellyel egyrészt a mocsaras legelőterületek jó hasznosítását lehetett megoldani, másrészt pedig az Eszterházy hercegek uradalmának ökörszükségletét lehetett kielégíteni. Ennek megfelelően az eredeti tenyészcél az igázásra is alkalmas típus kialakítása, rögzítése volt. Ma már a gazdaságos hústermelés is szempont az állományban. Felvételeinket 2006-ben készítettük különböző életkorú tehenekről.

3.3.1.6 Torre Mancinai maremman gulya

Az olaszországi Torre Mancina helység közelében tartott, az olasz állam fenntartásában lévő maremman gulya az olasz törzsállomány két legfontosabb gulyájának egyike. A minősített tenyészállatok jelentős része innen kerül ki. A fajta átlagához viszonyítva elit állománynak minősül. 2004 májusában 30 nőivarú egyeddet rögzítettünk VATEM (Videokép

Analizálásos Testméret felvétel) módszerrel, hogy meghatározzuk testméreteiket.

3.3.1.7 A Bandirmai török szürke szarvasmarha gulya

Az török szürke szarvasmarhafajta (török nevén: Boz Irk, Plevne) a podóliai fajtakör talán legkeletibb számontartott tagja. A Törökország ázsiai területein honos fajta története nem tisztázott, valószínűsíthető az ázsiai eredetet, amit a mitokondriális örökítőanyag vizsgálata is megerősít. Génmegőrzési programjának keretében a török állam az anatóliai Bandirma város közelében lévő központban gyűjtötte össze a fajtajelleget leginkább mutató egyedeket. Wellmann professzor 1932-ben, törökországi tanulmányútjáról készített beszámolójában, az anatóliai szürke fajtáról (5. ábra) a mai küllemnek megfelelő leírást adott. 2005 nyarán, a rodostói egyetemmel együttműködve Videókép Analizálásos Testméretfelvétel Módszerrel (VATEM) felmértük a fajta nukleusztenyészetének számító Bandirmai állomány (Marmara Livestock Research Institute) 110 egyedének testméreteit. Az állomány testméretekre vonatkozó statisztikai értékeit kétévesnél idősebb tehének reprezentatívnak tekinthető csoportjának (n=36) testméretei alapján határoztuk meg.

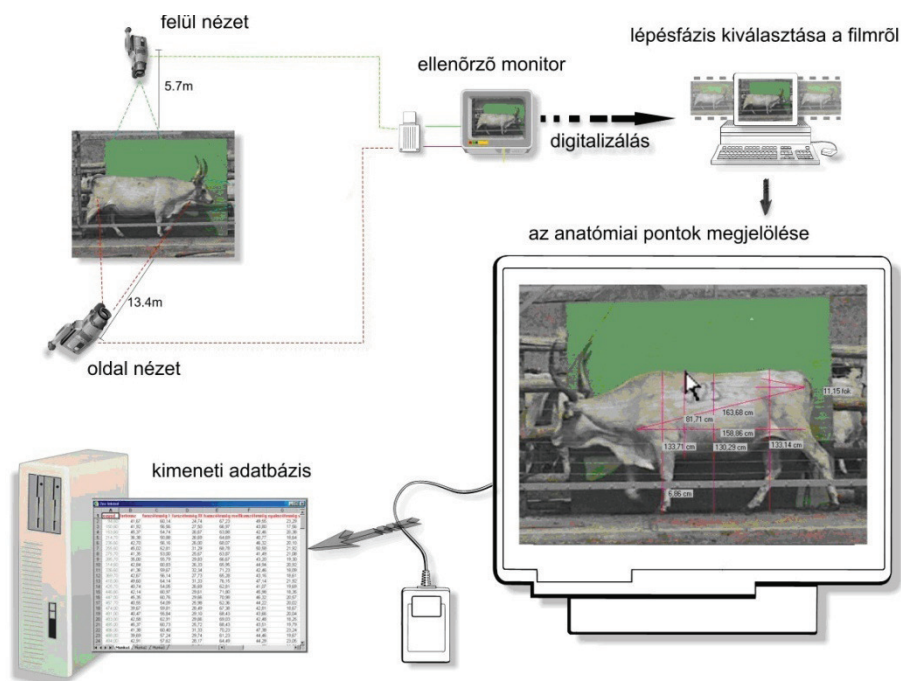


5 kép: Wellman Oszkár fényképe a török szürke marhák bandirma-i gulyájáról 1932 (forrás: családi fotoalbum, a család szívességéből)

3.3.2 Módszer

3.3.2.1 A módszer bemutatása

A módszer alapja az állatokról videokamerával készített mozgókép, melyet a lépés egy meghatározott pillanatában kimerevítve, standard testhelyzetű képhez jutunk (6. ábra).



6. ábra: A módszer folyamatábrája

A megfelelő anatómiai pontokat a képeken kijelölve kapjuk meg a kiválasztott testméreteket cm-ben. Az e célra kifejlesztett szoftver ugyanis a helyszínen rögzített etalon képéhez viszonyítja a kijelölt pontok közötti távolságokat (6. ábra). A szoftver „kimeneti adatbázisának” adatai alkalmasak a statisztikai feldolgozásra.

3.3.2.1.1 A módszer részletes leírása

A videókép-elemzéses testméret-felvételi módszert, terep- és feldolgozási szakaszra osztható. A terepszakasz a videofelvétel elkészítése és annak részfeladatai, a feldolgozási szakasz pedig az elkészített filmfelvételek szoftveres feldolgozása, és a testméretek meghatározása.

3.3.2.1.1.1 Terepszakasz

A terepszakasz sikeres lebonyolításához a felvételi hely és a kameraállások kialakítá-

sa, a kamerák beállítása, az állatok felhajtásának módja, valamint a felvétel elkészítésének módja kíván figyelmet.

3.3.2.1.1.2 A felvétel helyszíne

Felvételi helyként egy olyan folyosó szakasza szolgálhat, amely körülbelül test szélességű, és lehetővé teszi az állatok egyenkénti „eresztését”. Ez rákényszeríti az állatot, hogy a mozgóképfelvétel alatt megközelítően a folyosó tengelyében haladjon. Tapasztalataim szerint e célra az állattartó telepek oltó-kezelő folyosói megfelelőek.



7. ábra : A kezelő folyosó toldása kötéllel, Apaj- Szunyogpuszta felvételi hely

Amennyiben nem volt oldalsó rálátás a kezelő folyosóra gyakran a folyosó végét hosszabbítottam meg 11mm-es körszövött, perlon magos, statikus (nem nyúló) kötéllel nagyjából 4 méter hosszúságban, de a helyben fellelhető anyagokból rögtönzött toldás is gyakran megfelelőnek bizonyult (8. ábra).

Az állatok, melyek túlnyomórészt ismerték a villanypásztort, nem próbálták elszakítani a köteleket. A Törökország ázsiai felében található Balikesir bivalygulyájának rögzítésekor, mivel semmilyen karám nem volt, a felvételi helyet két teherautó közé kifeszített kötelek segítségével alakítottam ki (9. ábra).



8. ábra: A kezelő folyosó toldása karám elemekkel, Torre Mancina felvételi hely



9. ábra: Balikesir bivaly felvételi hely - az etalon felvétele

A felvételi helyen oldalnézetből semmi nem fedheti zavaróan az elhaladó állatot.

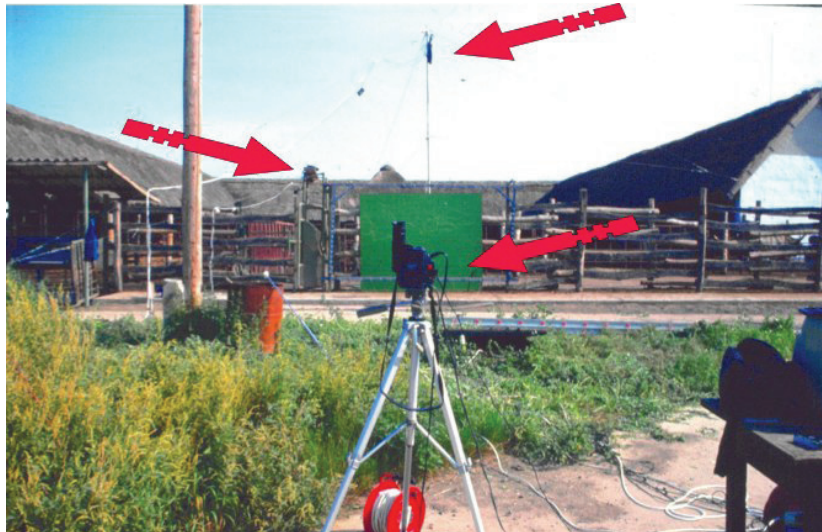
A felvételi helynek legalább egy testhossz, és még egy lépés hosszúságúnak kell lenni (amely alatt az elhaladó szarvasmarha lépésének összes fázisa lezajlik), hiszen lépésigazi-

tás hiányában a ciklus megfelelő pillanata, azaz a standard testhelyzet a megfigyelhető szakasz bármely részére tevődhet. Ez a hosszúság tapasztalataim szerint mind az oldalsó, mind a felső kameraállásból 4 méter.

A felvételek értékelhetősége érdekében fontos, hogy az állatok ne torlódjanak, hanem egyesével, szabadon haladjanak el a kamerák előtt. A kapu előtt feltartott, megállított állat füljelzőszámának leolvasásával az azonosítás is egyszerű.

Az egyedi azonosítás történhet az elhaladás sorrendjének feljegyzésével is, de kényelmes és biztos módszer a kamera látóterében elhaladó állat azonosítójának „bekiabálása” is, melyet a kamerák mikrofonjai rögzítenek. Kívánatos, hogy a felvételi hely aljzata szilárd (beton, deszka) legyen, hogy az állatok ne tudják kijárni. Ellenkező esetben a méretfelvételhez szükséges pontok kijelölésekor a talaj szintjére helyezendő pontok helye a képernyőn bizonytalanává válik. Az ilyen felületről a ráhordott trágya vagy sár időnként letolható, így az állat esetleges megcsúszása nem okoz a méretfelvétel szempontjából értékelhetetlen testhelyzetet (netán sérülést).

Az oldalnézeti felvételek feldolgozását megkönnyíti, pontosabbá teszi az állat színétől eltérő, pl. zöld színű háttér alkalmazása, amely előtt az állat körvonala jól látszik, érdeklődését pedig – a felvétel szakaszára érve – felkelti a nagy, színes felület, s az esetleg túl gyorsan érkező állat is lelassít, felveszi a filmezéshez megfelelő, „lépegető” sebességet.



10. ábra: Hortobágy-kecskési felvételi hely 2000-ben (a piros nyilak felülről lefelé a felső, szembőlnézeti és az oldalsó kamerát jelölik)

A filmezés szempontjából a legjobb megvilágítás a természetes fény. Borult időben,

szűrőületben azonban mesterséges megvilágítás is alkalmazható. A közvetlen, erős napsütés sok esetben nehezíti a felvételek feldolgozását, mert az anatómiai pontok megtalálása az erős visszavert fény miatt túlexponált képen nehéz. Az előlről vagy hátulról, azaz a mozgás síkjában vagy még inkább a síkra a kamera felőli térfélről érkező ún. sűrűfény a legmegfelelőbb a feldolgozás szempontjából.

3.3.2.1.1.3 A videófelvétel elkészítése

Kameraállások

A méréshez felhasznált felvételeket oldalról és felülről készítettem.

Oldalnézet: a kamerát a szorítófolyosó középvonalától számítva 12 méter távolságra állítottam föl, a folyosó szintjéhez képest 130 cm magasságban. A beállításhoz geodéziai szintezőt használtam. (E távolság esetén mind a perspektivikus torzítás, mind a periférikus torzulás elhanyagolható)

Felülnézet: a kamerát filmtechnikai reflektorállványra rögzítettem 5 méter magasságban. Az állványnak az állatoktól védetten kell helyet találni, hiszen a karámban torlódó, forgó tehének könnyen felboríthatják, tönkretelhetnék a berendezést. A biztonságos elhelyezés sokszor csak az oldalsó felvételi hely térfelén volt megoldható, ezért a felvételi hely tengelyében elcsúsztatva, az oldalnézeti felvétenél időben kissé később rögzítve kaptam az adott egyedről felülnézeti képet. A balikesir-i felvételezésnél a felső kameraállást jobb híján, egy teherautó platóján helyeztem el.

A kardántengelyeken függő felső kamera az egyensúlyozásnak megfelelően felveszi a tökéletesen függőleges helyzetet, de a folyosó tengelyéhez viszonyított elcsavarodása nem lehetséges. A pontos beállítást az ellenőrző képernyővel végeztem.

Fontos megemlíteni, hogy két alkalommal (Hortobágy 2000, Apaj 2001) szemből is készítettem felvételeket. Ekkor a folyosó tengelyében az állatok hátának síkjába állított kamerát használtam, a lehető legtávolabbról, erős fedezékben, hiszen az állatok a folyosóról elszabadulva könnyen kárt tehetnek benne.



11. kép: Felső kameraállások: bal oldalon drótkötelekkel feszített hortobágyi, jobb oldalon reflektor állványba illesztett gémen függő bandirmai felvételi helyen

Megoldandó feladat a szemből történő felvételnél, az állatnak kalibrálási pont helyére érkezési pillanatának felismerése, amire egy állatra vetülő, erős fénycsóva, esetleg távolságmérő berendezés lenne használható.

Videotechnika

A felvételekhez a vizsgálatok kezdetekor Hi8-as analóg, majd ezt követően Digital8-as és miniDV rendszerű kamerákat használtam

A használt kamerák főbb technológiai jellemzői a következők voltak:

- 24 kép/mp
- leggyorsabb zársebesség 1/1000 mp
- felbontás: 576×720 pixel, interlaced, PAL videorendszer
- digitális jelrögzítés
- kimeneti jel formátuma „RAW-avi” a gyártó kódolási eljárásával (Panasonic, Sony dv formátum)

A Hi8-as analóg rendszerrel készített felvételek és a digitális technikával felvett filmek között az egyetlen fő minőségi különbség a színátmenetekenél a kontúrok élességében volt felfedezhető, azaz a digitális rendszerrel nem tapasztaltuk a szomszédos színek 2-3 pixelnyi tónusos átmeneti fázisait, hanem fokozatok nélkül éles határral különültek el a körvonalak.

A színkezelés a kamerákban automatikus fehéregyensúly-beállítást tesz lehetővé.

A felvételi helyen a kamerák képét a kompozit kimenetéről kapott jel felhasználásával kontroll monitoron folyamatosan figyelhettem. Ezeken a kamera felvételi adatait is megjeleníthettem, így a készenléti és a felvételi visszajelzést (STANDBY és REC) megkaptam.

A felvételek egyidejű indítását és irányítását – a kábeles távirányítást lehetővé tevő LANC-csatlakozón – az általam tervezett és készített szinkron-kapcsolótáblával valósítottam meg. Amennyiben a vezetékes távirányító rendszer üzemeltetésére nem volt mód, a kamerák eredeti infravörös távirányítóját használtam, amely egy árnyékoló papír hengerrel kiegészítve a déli verőfényben is hatékonyan működött.

A kamerák képkivágását (zoomolását) a kamerákat a kívánt pozícióban rögzítve a kontrollmonitorok képe alapján állítottam be úgy, hogy a szükséges hosszban rögzítse a folyosó képét (ez tapasztalatok alapján magyar szürke szarvasmarha fajtánál, a földön mérve 4,3 m).

3.3.2.1.1.4 A mozgóképfelvétel folyamata

A kamerák végleges beállítása után következett az etalonnak számító méterrudak felvétele. Az oldalsó és a felülnézet esetében is egy vízszintes és egy függőleges beállítást kellett elvégezni. Oldalnézetben a folyosó középvonalában (ahol az állat testének medián síkja várható), felülnézetben 130 cm magasságban (ahol a legtöbb állat külső csípőszögletének magassága várható). Az etalonok minden egyes rész-felvétel elején rögzítésre kerültek azért, hogy a képkivágás (zoom) esetleges változása okozta hibát megelőzzük. Minden rész-felvétel saját etalonnal rendelkezik..

Ezt követte az állatok eresztése. A torlódás elkerülése végett 10–15 másodpercenként engedték a teheneket. Torlódás esetén az állatok egymás mellé kerülve fontos testrészeket takarhatnának el egymásból, illetve nem tudnának standard testhelyzetet fölvenni. Az ennél ritkább eresztés ugyanakkor (a gulyaöszön következtében) azt eredményezhetné, hogy az állat nem látván az előtte haladó társát, pánikba esne. A rohanás közben fölbomlana a lépéssorrend, megváltozna a lépés hossza és a standard testtartás is, a felvétel pedig értékelhetetlenné válna.

Az állatok azonosítását az eresztés előtt leolvasott fülszámok „bekiabálásával” oldottuk meg.

Ezzel a módszerrel óránként megközelítőleg kétszáz egyedről tudtam felvételt készíteni.

Fontos megjegyezni, hogy legtöbbször a segítség, a gulyások munkáján múlik a felvétel sikeressége.

3.3.2.1.2 Feldolgozási szakasz

3.3.2.1.2.1 A videófilm avi fájl konverziója

A felvételeket a szalagról „firewire” (IEEE 1394) kapcsolaton töltöttem le személyi számítógépre, ahol tömörítetlen DV (digital video) formátumban készítettem belőlük avi fájlokat. A Hi8-as felvételeknél a digitalizálást a Digital8-as kamerával végeztem, mert a Hi8-as analóg felvételeket Digital8-as rendszerű kamerával le lehet játszani és a kamera ebben az esetben is digitális jelet továbbít a számítógép felé. A fájlméretek 12-16 gigabájt között mozogtak a felvétel hosszúságától függően, tömörítési eljárásokat nem használtam, mert napjainkban már ekkora fájlokat is biztonságosan képes kezelni egy megfelelő kiépítésű személyi számítógép. A filmeket archiváláshoz DVD lemezekre írtam 4,7 gigabájtos részekre darabolva.

3.3.2.1.2.2 Az állóképek elkészítése

A kész filmfájlokról a VirtualDub 1.6.4. (<http://www.virtualdub.org/>) programmal választottam ki a kívánt testhelyzetű állóképet. Ezt hasonlóan a videofájllhoz, tömörítés nélküli BMP formátumban mentettem.

A PAL-rendszerű videojel félképek sorozatából áll, ezért az elkészült képek még zavaró csíkozást tartalmaztak, ezt az Adobe cég Photoshop 7.0 programjának DEINTERLACE-filterével szűrtem ki.

A képek paraméterei a következők:

- Windows BitMaP-formátum
- 720x576 -24b színmélység
- fájlméret: 1,29 MB
- fájlnev: az ENAR-jelzéssel vagy más azonosítóval (olasz és török felvételek) megegyező

A képfájlok elkészítésekor nagy figyelmet fordítottam a konverziós torzulások következményeinek elkerülésére. A pixelek NTSC és PAL rendszerű képeknél nem négyzet hanem téglalap alakúak. A digitális feldolgozás során a konverziókból adódó torzításokat nyomon követve a kismértékű eltérés amely a négyzet alakú digitális pixelekre való áttérés eredményezett a megfelelő megjelenítési beállításokkal (Adobe Photoshop CS: Nézet me-

nü-Pixel méretarány korrekciója-PAL beállítás) korigálható volt, továbbá az etalonról készült képeket is érintette így a méretezés során az eltérések egymást szükségszerűen kioltották.

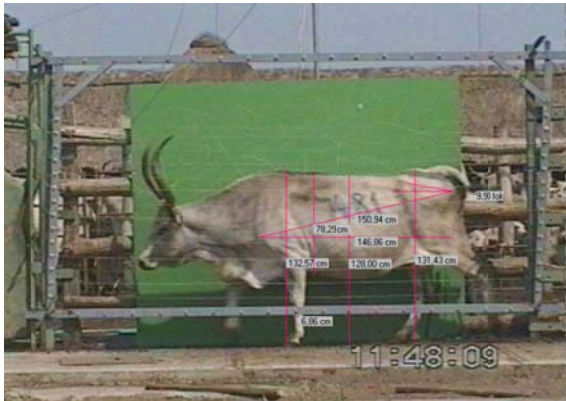
A standard testhelyzet kiválasztásának indoklása

Nyugodt körülmények között a szarvasmarha félporoszkálva jár. Erre a jármódra jellemző egy olyan pillanatnyi állapot (fázis), amikor az állat testsúlyát három végtag viseli (háromláb-alátámasztás). Ezt választottuk szabvány (standard) testhelyzetnek, mégpedig abban a pillanatban, amikor az oldalsó kamera felé eső mellső láb metacarpusának tengelye a függőlegest éppen eléri (átlépés a csülökizületben). Ekkor az ellentétes mellső láb a levegőben függ, az előrelendítés mozzanatában. A két hátsó végtag a talajon helyeződik, az azonos oldali hátsó láb hátrafelé (alátámasztás szakasza), az ellenoldali hátsó láb előre felé tekint (súlyeltolás szakasza).

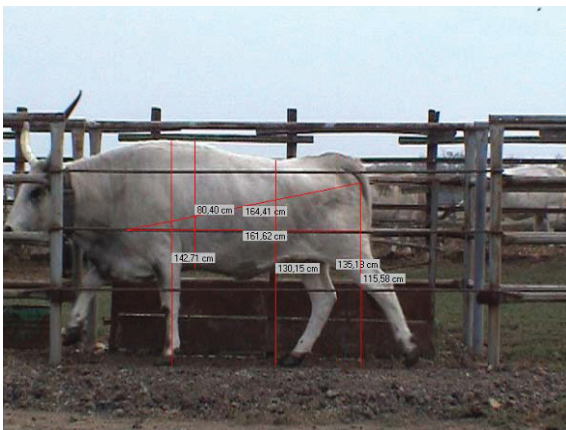
A mozgásnak ebben a pillanatában több testméret anatómiai pontja nem esik egybe a hagyományos méretfelvételnél jellemző statikus állapottal (kivétel a marmagasság és a törzs hosszanti méretei), így az értékek is eltérőek lesznek. Mégis, mivel ez a pillanat a mozgóképen a legkönnyebben felismerhető (standardizálható), a módszeren belül az egyes egyedek jól összehasonlíthatók lesznek.

3.3.2.1.2.3 Az egyedről készült kép szoftveres méretezése

Harmadik lépésként az általam tervezett struktúrájú MS VisualBasic programozási nyelven szakértő által elkészített VATEM 1.0 szoftverrel megjelöltük a tehének anatómiai pontjait a képeken. (A program felhasználói kézikönyve a tervezett VAMP 2.0 szoftverhez angolul fog elkészülni, ezt követően szabadon letölthető lesz.) A program mindig kijelzi a következő felhelyezendő pont nevét, egészen a kép teljes feldolgozásáig. Ezután a felvett egyméteres etalonok alapján megállapított képpont/m (pixel/m) arányt felhasználva kiszámítja és a méretvonalakat behúzva azokra centiméterben kiírja a konkrét testméretet (12.,13.,14., 15. ábra).



12. és 13 ábra: A hortobágyi 481-es tehén méretei az oldal- és felülnézeti képen



14. és 15. kép: a tiszai 319-es fűszámú tehén oldal és felülnézeti méretezett képe

3.3.2.1.2.4 A testméretek kiválasztásának szempontjai

Az anatómiai pontok kiválasztásában alapvető szempont volt, hogy minden egyedén jól felismerhetők legyenek, lehetőleg ne függjenek az állat kondíciójától és a hagyományos testméretek meg lehessen segítségükkel állapítani. Ezért a különböző testméretekhez a következő pontokat vettem föl (1. és 2. táblázat).

1. táblázat: Testméretek anatómiai meghatározása (oldalnézet)

	1. pont	2. pont
marmagasság	testkontúron, a mar legmagasabb pontja	az 1. pont függőleges vetülete az aljzatra
hátközépmagasság	a hát vonalának legmélyebb, esetleg leg- kiemelkedőbb pontja	az 1. pont függőleges vetülete az aljzatra
farbúbmagasság	a far legmagasabb pontja	az 1. pont függőleges vetülete az aljzatra
mellkasmélység	a szegycsont kontúrján található bemélyedés	az 1. pontból húzott függőleges és a hátkontúr metszéspontja
ferde törzshossz	vállbúb	ülőgumó
törzshossz	vállbúb	az ülőgumó függőleges vetülete a vállbúbból húzott vízszintesre

2. táblázat: Testméretek anatómiai meghatározása (felülnézet)

	1. pont	2. pont
far I-szélesség	baloldali külső csípő-szöglet	jobboldali külső csípő-szöglet
far III-szélesség	baloldali ülőgumó	jobboldali ülőgumó
mellkasszélesség (dongásság)	a könyök búb mögött található homorulat (testkontúr) legközelebb eső pontja a gerincvonalhoz (baloldal)	ugyanaz a másik oldalon
vállszélesség	a lapocka izmai által meghatározott kontúr gerincvonalától legtávolabb eső pontja	ugyanaz a másik oldalon
hasszélesség	a bordaív és a testkontúr metszéspontja (baloldal)	ugyanaz a másik oldalon
farhossz	a far I- és far III-szélesség által meghatározott egyenesek távolsága a gerincvonalban	

3.3.2.1.3 A szoftver kimeneti adatainak értékelése

A szoftver kimeneti txt-fájlformátumú adatbázisa a kiválasztott és megjelölt méretek összes adatát (az 1. pont neve és x-y koordinátája; a 2. pont neve és x-y koordinátája, valamint az etalon alapján számított méret cm ben 2 tizedesre kerekítve) tartalmazza CSV formátumban (szövegfájlba mentett, vesszővel elválasztott mezők, soremeléssel elválasztott rekordok: CSV Comma Separated Value) amely alkalmas a leggyakrabban használt statisztikai programokban (R, Statistica, SPSS, MS Excel) történő feldolgozásra. Ezt az adatbázist az Excel programmal alakítottam át a további feldolgozás igényeinek megfelelően.

3.3.2.2 A módszer hibáinak vizsgálata

A módszer alkalmazása során előforduló hiba forrásai a következők:

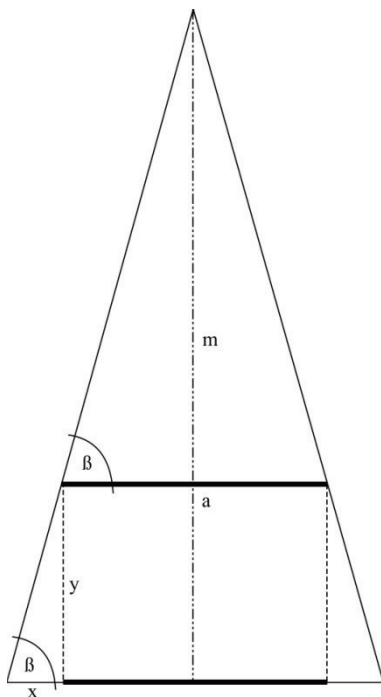
- perspektivikus torzulás
- technológiai hiba
- metodikai hiba

3.3.2.2.1 Perspektivikus torzulás

A perspektivikus torzulás azon fizikai törvényszerűségből adódik, miszerint a kamerától távolabb eső dolgok a valóságoshoz képest egyre kisebbnek látszódnak.

A felülnézeti kamera 4,7 méteres távolsága esetén jelentősen csökkenhet a mérés pontossága. Az etalonnak számító méterrudat mindig 130 cm-es magasságban mutattam föl a kamerának, és mivel a szoftver ez alapján adja meg a méreteket, az ettől eltérő magasságban található testméretek eltérő mértékben különböznek a valóságtól. Az eltérést a következő geometriai számításokkal kapjuk meg:

Vizsgáljuk meg, hogy egy 1 méteres rúd méretei miként változnak, ha a kamerától egységnyi távolsággal eltoljuk:



$$\begin{aligned} m &= 340 \text{ cm} \\ y &= 1 \text{ cm} \\ a &= 100 \text{ cm} \\ x &=? \\ x &= \frac{y}{\operatorname{tg} \beta} \\ \operatorname{tg} \beta &= \frac{m}{0,5a} \end{aligned}$$



$$\underline{x = 0,147 \text{ cm}}, \text{ vagyis } 1 \text{ cm-el eltol} \\ \text{t egy méteres rúd } 0,294 \text{ cm-el} \\ \text{látszik rövidebbnek.}$$

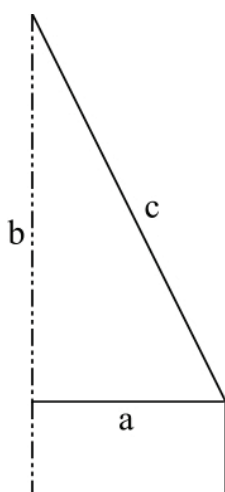
16.ábra: A perspektivikus torzítást szemléltető számítás

A 16. ábrán található számításból látszik, hogy a változás egyenesen arányos a kamerától mért távolsággal. Tehát a mérni kívánt szakasz és az etalon kamerától való távolságának különbségével szorozzuk az előbbiekben egységnyi változásra kiszámított értéket.

Ha a szakaszt 120 cm magasságban jelöltük ki (és a szoftver a 130 cm magasan felvett etalonnak megfelelően adja meg a méretet), akkor $(130-120) \times 0,294$ cm-t kell a kapott értékhez hozzáadni.

A mért szakasz talajtól való távolságát az oldalnézeti kép alapján meg tudjuk adni. Mivel ezek a testméretek nem az optikai tengelyben helyezkednek el, a pontos távolságuk meghatározásához az optikai tengelytől mért távolságra is szükség van, amit a felülnézeti képen kapunk meg. Ezen méretek ismeretében Pitagorasz-tétellel számíthatjuk a távolságot, majd ezt figyelembe véve a torzulás mértékét. (16. ábra)

Vegyük példának azt az esetet, amikor a far l-szélessége a szoftver 65 cm-t ad meg. Az oldalképről leolvasott méret szerint az állat külső csípőszöglete 135 cm magasan van, a felülnézeti képen pedig a méretet jelző szakasz az optikai tengelytől 40 cm távolságban található. A korrekció számításmenete a 17. ábrán található.



$$a = 40 \text{ cm}$$

$$b = 470 - 135 = 335 \text{ cm}$$

$$c = ?$$

$$a^2 + b^2 = c^2$$

$c = 337$ cm, tehát az etalon távolságához képest (340 cm) 3 cm-rel közelebb van, így a korrigált érték: $65 - 3 \times 0,294 = 64,1$ cm

17. ábra: A perspektívikus torzítás számítása konkrét példán

Ilyen módon a farszélességi méreteket meg lehet határozni, hiszen itt anatómiai képletekhez kötött a pontok kijelölése (külső csípőszöglet, farbúb), melyek az oldalnézetben könnyen felismerhetők, és aljzattól való távolságukat a szoftverrel számítani tudjuk.

A mellkasszélesség és a vállszélesség pontjai azonban felülnézetben a kontúron vannak elhelyezve (NEMES, 1989). Ezeket oldalnézetből nem lehet meghatározni.

A mellkasszélesség esetében a probléma könnyebben megoldható, ha a mellkas ha-

rántmetszetét ellipszisnek tekintjük (HORN 1973).



Méretarányos rajzot készítve (18. ábra) belátható, hogy a kamera által „látott” szélesség és a valódi mellkasszélesség (vagyis az ellipszis kisebb átmérője) közötti különbség elhanyagolható.

Tehát a kontúrpoint helye (magassága) a mellkasmélység felével egyezik meg. Ennek az aljzattól mért távolsága: $\text{marmagasság} - \text{mellkasmélység} / 2$.

18. ábra: A mellkasszélesség és a kontúrpoint viszonya

A vállszélességet tekintve nem tudtuk olyan szabályos mértani alakzattal modellezni, mint az előző esetben. Itt a hiba csökkentése érdekében mindig a marmagasság - 15 cm értékkel számoltam. Ezáltal ugyan a valósághoz képest nagyobb az eltérés, a standardizálásnak köszönhetően az egyedek közötti összehasonlíthatóság megmarad.

Oldalnézet esetén, ha a kamerát 12 méter távolságba állítottuk, az egységnyi távolságváltozásra eső korrekciós érték 0,084 cm. Ezt alapul véve, a felülnézetnél leírtakkal megegyezően korrigáljuk a szoftver által számított méreteket. Megjegyezendő azonban, hogy a szűk folyosónak köszönhetően itt kisebb korrekció elegendő.

A szükséges korrekciókat a feldolgozáshoz használt MS-EXCEL táblázatba illesztett egyenlet automatikusan elvégzi, a kimeneti számolótáblán már a korrigált adatokat értékeltem.

3.3.2.2.2 Technológiai hiba

A módszer technológiai pontatlanságának kiszámítását az egyméteres etalonok önmagukkal való visszamérésével, vagyis a különböző szögben felvett, skálázott méterrudak beméretezése alapján végeztem.

3. táblázat: A technológiai hiba mértéke I. Visszamérések oldalnézetből.

Az etalon szöge a visszamérésnél	Mért eredmény (cm)
vízszintes	100,00
22°	99,96
46,5°	100,08
88°	99,93
függőleges	100,00

4. táblázat: A technológiai hiba mértéke II. Visszamérések felülnézetből (az etalon 130 cm magasságban)

Az etalon szöge a visszamérésnél a folyosó tengelyéhez viszonyítva	Mért eredmény (cm)
párhuzamos	99,96
22°	100,00
46,5°	100,00
merőleges	100,08

Az eredmények tükrében megállapítottam, hogy a technológiai hiba – köszönhetően a korszerű technikának – mind a filmfelvétel (periférikus torzulás szempontjából korigált lencsésű kamera, pontos képalkotási mechanizmus, precíziós CCD, nagy felbontás, rövid expozíciós idő) mind a további feldolgozás során (tömörítetlen filmformátum, tömörítetlen képformátum) – elhanyagolható.

3.3.2.2.3 Metodikai hiba

A videoképanalízises méretfelvétel három lehetséges metodikai hibáját vizsgáltam:

1. a felvételi helyen ismételten áthajtott és felvett egyedek ismételt beméretezése egy kezelő által (5. táblázat)
2. azonos kép egy kezelő általi ismételt beméretezése (6. táblázat)
3. azonos kép két kezelő által felhelyezett anatómiai pontjaiból számított testméretek eltérése (7. táblázat)

5. táblázat: A metodikai hiba mértéke I. Két kép (azonos állat) – egy kezelő

testméret	átlagos mérési hiba százalékban
ferde törzshossz	1,16 %
marmagasság	0,09 %
mellkasmélység	0,15 %
farbúbmagasság	0,12 %
dongásság	0,17 %
farszélesség I	0,64 %
farszélesség III	1,43 %

6. táblázat: A metodikai hiba mértéke II. Egy kép – egy kezelő

testméret	átlagos mérési hiba százalékban
ferde törzshossz	1,32 %
marmagasság	0,10 %
mellkasmélység	0,19 %
farbúbmagasság	0,12 %
dongásság	0,34 %
farszélesség I	0,57 %
farszélesség III	1,58 %

7. táblázat: A metodikai hiba mértéke III. Egy kép – két kezelő

testméret	átlagos mérési hiba százalékban
ferde törzshossz	0,34 %
marmagasság	0,01 %
mellkasmélység	0,03 %
farbúbmagasság	0,03 %
dongásság	0,01 %
farszélesség I	0,01 %
farszélesség III	0,67%

Eredményeim alapján a megfelelően kicsi metodikai hiba minden esetben biztosítja a szükséges mérési pontosságot.

3.3.2.2.4 A mérési hibák vizsgálatának eredménye

A hibák hatását összegezve – a perspektivikus torzítást korrigálva – a videoképanalizálásos módszerrel elegendő pontossággal meg lehet határozni a valóságos méreteket, azon méretek esetén is, melyeknél a metódus pontatlanabbnak bizonyult, de így is pontosabb a hagyományos módszernél (NEMES, 1989) (8. táblázat).

8. táblázat: A hagyományos módszer pontossága (NEMES, 1989)

testméret	átlagos mérési hiba százalékban
törzshossz	1,81%
marmagasság	2,84%
mellkasmélység	3,22%
dongásság	3,20%
farszélesség I	5,90%
farszélesség III	16,43%

A VATEM módszerrel megmért egyedek a standard körülmények miatt egymással összehasonlíthatók.

3.3.2.3 A VATEM és a klasszikus testméretek összefüggése

Nemes (1989) minden videós testmérethez külön korrekciós állandót rendel a hagyományos méretek kiszámításához. Bianconi és Negretti (1999), valamint Tózsér (2000) regressziós egyenletekkel határozza meg az összefüggést a hagyományos és a videós-számítógépes módszerrel mért adatok között.

A hagyományos méretekkel való összevetetőség érdekében megvizsgáltam az eltérő módszerrel mért adatok összefüggését. Tíz magyar szürke tehenet mértem meg hagyományos eszközökkel és videókép analízis technikával. A viszonylag kis elemszámú mintán végzett regresszióanalízis eredményeként kapott regressziós egyenletek és a korrelációs együtthatók az összefüggések változó mértékű szorosságát jelzik (9. táblázat).

9. táblázat: A hagyományos és a VATEM módszerrel nyert testméretek között számított regressziós analízis eredménye (n=10)

testméretek párosítva hagyományos(y) – VATEM(x)(1)	regressziós egyenlet(2) $y=a +bx$	korrelációs együttható(3)
marmagasság(4)	$y= 8,63+ 0,916x$	0,85
ferde törzshossz(5)	$y=-25,11+ 1,166x$	0,96
mellkasmélység(6)	$y=14,21+ 0,744x$	0,81
hátközépmagasság(7)	$y=21,30+ 0,848x$	0,615
farbúbmagasság(8)	$y=67,02+ 0,462x$	0,505
far I.(9)	$y=-14,99+ 1,168x$	0,547

A fentiek alapján a hagyományos és a VATEM testméretek összehasonlításakor szükséges a regressziós egyenletek használata.

3.4. Eredmények

Az adatok feldolgozása során, elsőként az összes egyedet együtt vizsgálva, megállapítottam a testméretek statisztikai jellemzőit. Ezek a mérőszámok – amelyeket korábban Magyar (1941) és Bodó (1968) is vizsgált –, fenotípusosan jellemzik a magyar szürke szarvasmarha állomány tenyésztési szempontból legfontosabb részét.

Vizsgálatomban összesen 1101 egyedet mértem meg. A statisztikai feldolgozás során néhány egyed méreteit nem vettem figyelembe az állományszintű vizsgálatok során szükséges kiugróérték vizsgálat eredménye alapján, így végül oldal és felülnézeti méreteket tekintve is 1090 szürke marha méreteit használtam fel. A statisztikai számítások, és a grafikonok elkészítéséhez a SPSS 12.0 programot használtam.

3.4.1 Teljes állományra vonatkozó eredmények

A teljes állományra vonatkozó statisztikai eredményeket tekintve az alábbi táblázatban foglaltam össze a fajtára vonatkozó átlagos testméreteket.

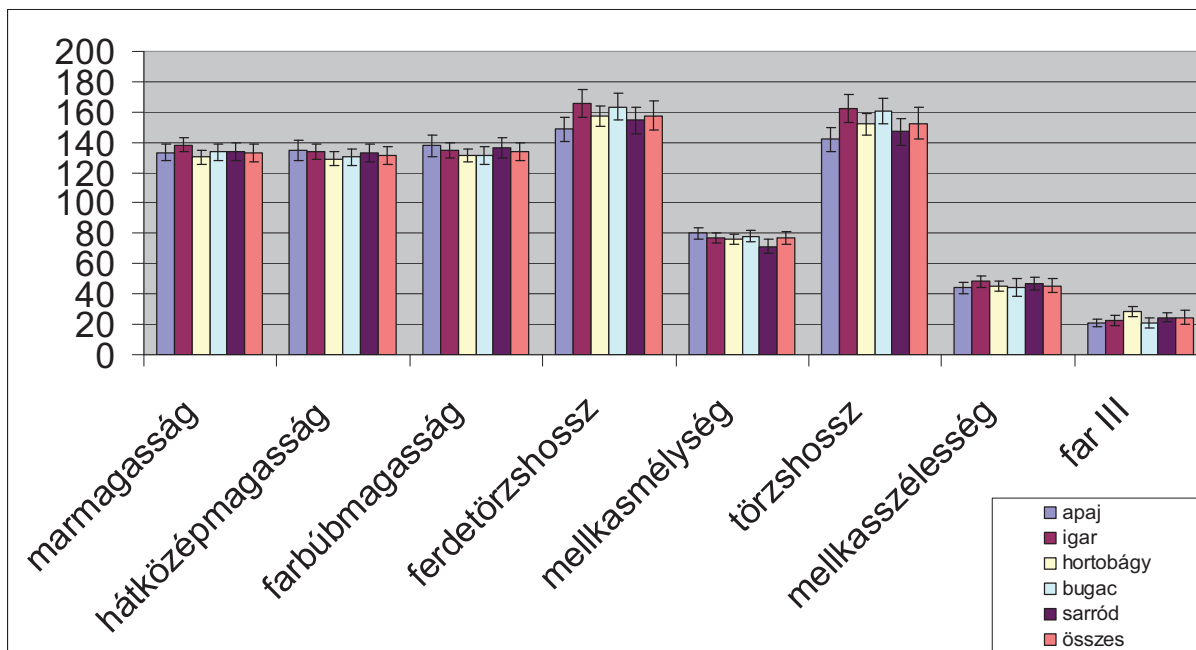
10. táblázat: A teljes vizsgált magyar szürke szarvasmarha állomány VATEM testméretinek statisztikai jellemzői

	n	minimum	maximum	átlag	szórás	variancia
marmagasság	1090	113,37	149,15	133,1132	5,71590	32,671
hátközépmagasság	1090	113,86	151,53	131,5363	5,76441	33,228
farbúbmagasság	1090	113,37	158,90	133,7853	6,08560	37,034
ferdetörzshossz	1090	125,11	184,47	157,6403	9,81315	96,298
mellkasmélység	1090	52,40	90,19	76,9442	4,35385	18,956
törzshossz	1090	115,85	180,90	152,7029	10,70416	114,579
mellkasszélesség	1090	32,38	64,71	45,5261	4,35125	18,933
far III	1090	10,53	39,31	24,3338	4,59437	21,108

11. táblázat: A vizsgált magyar szürke szarvasmarha állomány átlagos testméretei gu-lyánként, és összesítve (cm) a szórás és a szélsőértékek feltüntetésével.

		n	átlag	szórás	minimum	maximum
marmagasság	Apaj	213	133,30	5,60	116,02	149,15
	Tiszaigar	178	138,49	4,72	124,12	148,24
	Hortobágy	394	130,20	4,45	118,29	142,29
	Bugac	192	133,49	5,05	119,34	146,00
	Sarród	113	133,80	5,82	113,37	148,45
	teljes állomány	1090	133,11	5,72	113,37	149,15
hátközépmagasság	Apaj	213	134,57	6,58	117,18	151,53
	Tiszaigar	178	133,93	4,67	121,61	147,74
	Hortobágy	394	129,04	4,56	115,43	141,71
	Bugac	192	130,28	5,21	116,00	146,00
	Sarród	113	132,89	5,86	113,86	147,21
	teljes állomány	1090	131,54	5,76	113,86	151,53
farbúbmagasság	Apaj	213	137,96	7,03	116,57	158,90
	Tiszaigar	178	134,70	4,74	121,61	146,23
	Hortobágy	394	131,58	4,13	120,00	142,86
	Bugac	192	131,24	5,89	114,67	148,00
	Sarród	113	136,50	6,46	113,37	154,04
	teljes állomány	1090	133,79	6,09	113,37	158,90
ferdetörzshossz	Apaj	213	148,59	7,81	125,11	168,53
	Tiszaigar	178	165,50	9,09	128,58	184,47
	Hortobágy	394	157,09	6,87	136,52	183,66
	Bugac	192	163,23	8,77	141,31	183,08
	Sarród	113	154,77	8,75	130,01	178,63
	teljes állomány	1090	157,64	9,81	125,11	184,47
mellkasmélység	Apaj	213	79,94	3,71	69,94	90,19
	Tiszaigar	178	77,11	3,31	66,33	87,94
	Hortobágy	394	76,30	3,51	52,40	85,14
	Bugac	192	78,00	3,72	69,40	88,00
	Sarród	113	71,48	4,83	56,93	85,10
	teljes állomány	1090	76,94	4,35	52,40	90,19
törzshossz	Apaj	213	142,16	8,01	115,85	162,20
	Tiszaigar	178	162,08	9,14	125,95	180,54
	Hortobágy	394	151,96	6,92	132,00	178,86
	Bugac	192	160,52	8,60	137,50	180,90
	Sarród	113	147,12	8,78	124,29	172,11
	teljes állomány	1090	152,70	10,70	115,85	180,90
mellkasszélesség	Apaj	213	44,14	3,65	34,83	53,85
	Tiszaigar	178	48,29	3,75	39,31	59,17
	Hortobágy	394	45,13	3,25	37,79	54,04
	Bugac	192	44,40	5,95	32,38	64,71
	Sarród	113	47,07	4,30	33,12	55,93
	teljes állomány	1090	45,53	4,35	32,38	64,71
far III	Apaj	213	20,88	2,48	11,11	28,61
	Tiszaigar	178	22,83	3,44	10,53	34,92
	Hortobágy	394	28,54	3,34	20,74	39,31
	Bugac	192	20,80	3,14	11,98	29,40
	Sarród	113	24,56	2,97	19,07	31,84

		n	átlag	szórás	minimum	maximum
marmagasság	Apaj	213	133,30	5,60	116,02	149,15
	Tiszaigar	178	138,49	4,72	124,12	148,24
	Hortobágy	394	130,20	4,45	118,29	142,29
	Bugac	192	133,49	5,05	119,34	146,00
	Sarród	113	133,80	5,82	113,37	148,45
	teljes állomány	1090	133,11	5,72	113,37	149,15
hátközépmagasság	Apaj	213	134,57	6,58	117,18	151,53
	Tiszaigar	178	133,93	4,67	121,61	147,74
	Hortobágy	394	129,04	4,56	115,43	141,71
	Bugac	192	130,28	5,21	116,00	146,00
	Sarród	113	132,89	5,86	113,86	147,21
	teljes állomány	1090	131,54	5,76	113,86	151,53
farbúbmagasság	Apaj	213	137,96	7,03	116,57	158,90
	Tiszaigar	178	134,70	4,74	121,61	146,23
	Hortobágy	394	131,58	4,13	120,00	142,86
	Bugac	192	131,24	5,89	114,67	148,00
	Sarród	113	136,50	6,46	113,37	154,04
	teljes állomány	1090	133,79	6,09	113,37	158,90
ferdetörzshossz	Apaj	213	148,59	7,81	125,11	168,53
	Tiszaigar	178	165,50	9,09	128,58	184,47
	Hortobágy	394	157,09	6,87	136,52	183,66
	Bugac	192	163,23	8,77	141,31	183,08
	Sarród	113	154,77	8,75	130,01	178,63
	teljes állomány	1090	157,64	9,81	125,11	184,47
mellkasmélység	Apaj	213	79,94	3,71	69,94	90,19
	Tiszaigar	178	77,11	3,31	66,33	87,94
	Hortobágy	394	76,30	3,51	52,40	85,14
	Bugac	192	78,00	3,72	69,40	88,00
	Sarród	113	71,48	4,83	56,93	85,10
	teljes állomány	1090	76,94	4,35	52,40	90,19
törzshossz	Apaj	213	142,16	8,01	115,85	162,20
	Tiszaigar	178	162,08	9,14	125,95	180,54
	Hortobágy	394	151,96	6,92	132,00	178,86
	Bugac	192	160,52	8,60	137,50	180,90
	Sarród	113	147,12	8,78	124,29	172,11
	teljes állomány	1090	152,70	10,70	115,85	180,90
mellkasszélesség	Apaj	213	44,14	3,65	34,83	53,85
	Tiszaigar	178	48,29	3,75	39,31	59,17
	Hortobágy	394	45,13	3,25	37,79	54,04
	Bugac	192	44,40	5,95	32,38	64,71
	Sarród	113	47,07	4,30	33,12	55,93
	teljes állomány	1090	45,53	4,35	32,38	64,71
far III	Apaj	213	20,88	2,48	11,11	28,61
	Tiszaigar	178	22,83	3,44	10,53	34,92
	Hortobágy	394	28,54	3,34	20,74	39,31
	Bugac	192	20,80	3,14	11,98	29,40
	Sarród	113	24,56	2,97	19,07	31,84
	teljes állomány	1090	24,33	4,59	10,53	39,31



18. ábra: A vizsgált magyar szürke szarvasmarha állomány átlagos testméretei gulyánként, és összesítve a szórás feltüntetésével.

Az eredmények alapján feltűnő, hogy a tiszai és bugaci gulyák átlagos testméreteiben felülmúlják a többi állományt, ebben a két tenyészetben a tenyésztői munka kevésbé volt tekintettel a génmegőrzésre, így a szelekció hatásának lassú érvényesülése is okozhatta a nagyobb testméreteket. Sarród vegyes képet mutatva jelzi hogy az állomány még nem teljesen „beállt” azaz viszonylag nagy szórásokat számítottunk.

A legnagyobb statisztikai szórást az apaji gulyában találjuk, ezt a kiegyensúlyozatlan takarmányozás és a gulya teljesen vegyes eredete magyarázza. Érdekes megfigyelni, hogy a marmagasság ugyanitt relatíve alacsony majd a hátközép és a farbúbmagasságok a legmagasabbak, ez 2001-es felvételen tapasztalható „túlnőttesség” szintén kapcsolatba hozható a takarmányozás problémáival.

A hortobágyi gulyák minden testméretet tekintve átlagosnak mondhatóak, a szórások magas szintje mellett ez a génmegőrzési munka sikerességét tükrözi.

3.4.2 Az állományok összehasonlításának eredményei

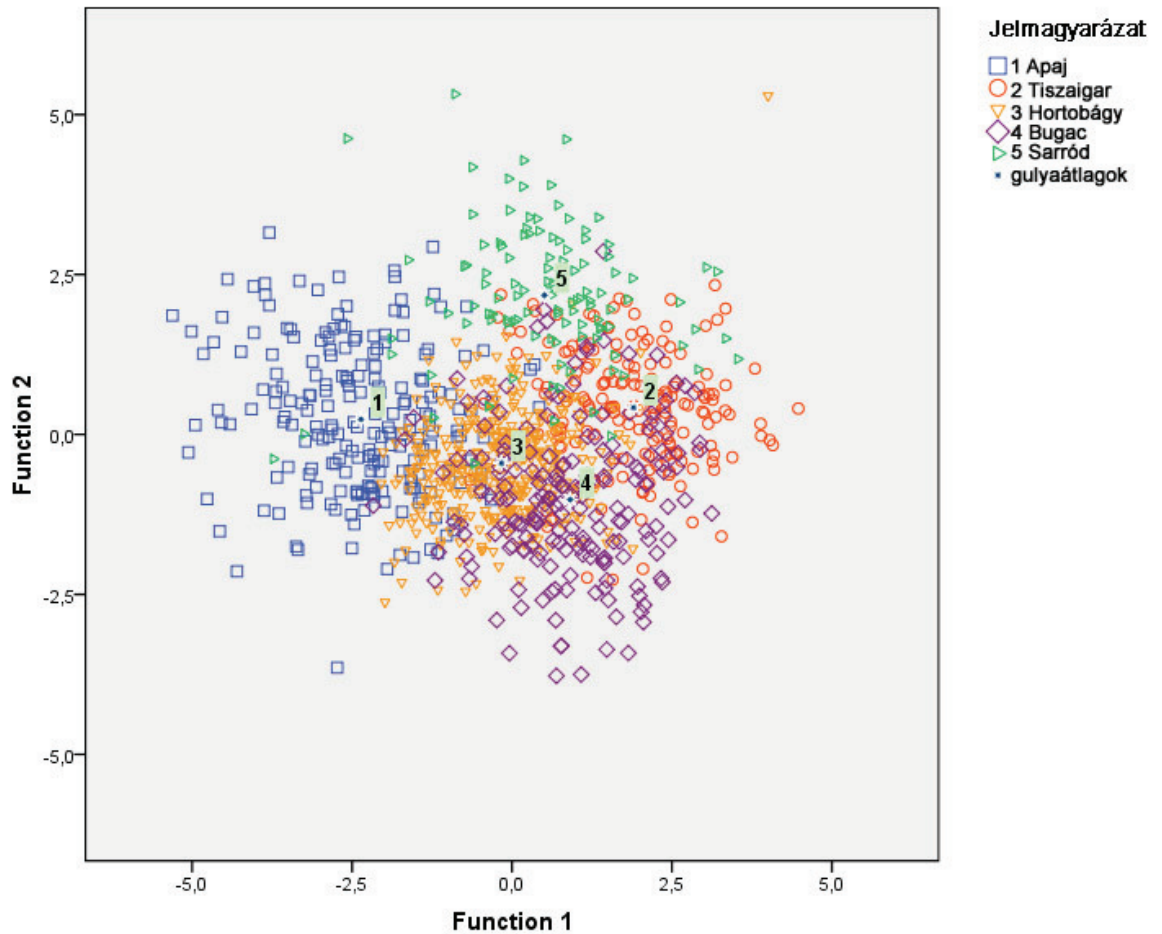
Következő lépésben az állományok testméret alapján való megkülönböztetőségét vizsgáltam. A diszkriminancia-analízist a minták inhomogenitása miatt választottam, mivel ez a módszer nem érzékeny a minták szórásának inhomogenitására. A szórások inhomogenitását a Levene teszt eredményei mutatják (12. táblázat), amelyek minden testméret esetében számottevő eltérést mutatnak a különböző gulyákban mért eredmények szórásának mértékével kapcsolatban.

12. táblázat: Az adatsorok varianciáinak homogenitás-ellenőrzéséhez szükséges Levene-teszt eredménye

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
marmagasság	4,753	4	1085	,001
hátközépmagasság	12,433	4	1085	,000
farbúbmagasság	15,000	4	1085	,000
ferdetörzshossz	6,649	4	1085	,000
mellkasmélység	6,616	4	1085	,000
törzshossz	5,897	4	1085	,000
mellkasszélesség	9,211	4	1085	,000
far III	5,975	4	1085	,000

A diszkriminancia analízishez nem használtam föl a ferdetörzshossz és a far III méretet, mert az előbbi igen erős korrelációban van a törzshossz és a mellkasmélység méretekkel, míg az utóbbi a lehetséges mérési hiba viszonylagosan magas értéke miatt, nem szerepelt az összehasonlításban.

A diszkriminancia analízissel a csoportok (gulyák) egymástól való elválaszthatóságát vizsgáljuk a testméretekéből képzett diszkrimináló függvények segítségével. A módszer alkalmazásánál a lépcsőzetes becslést alkalmaztuk, ahol a változók egymás után kerülnek be az elemzésbe attól függően, hogy mennyire képesek a csoportokat egymástól elkülöníteni.



19. ábra: A gulyákon belüli és a teljes mintára vonatkozó korreláció a két legerősebb diszkrimináló függvény alapján

A fenti ábrán (19. ábra) jól látható, hogy az összes egyed átlagát jelképező origóhoz a legközelebb helyezkedik el a hortobágyi gulya átlaga (centroidja) (3-assal jelölve) természetesen az átlag kialakításában a legnagyobb elemszámmal vesz részt ezért arra a legnagyobb hatással van. De szembeűnő az apaji és a sarródi gulya markáns megkülönböztet-
hetősége.

13. táblázat: A diszkriminancia függvények standardizált együtthatói

testméret	egyenlet			
	1	2	3	4
marmagasság	,886	,742	,929	-,353
farbúbmagasság	-,749	,484	-,327	-,094
mellkasmélység	-,839	-,927	,494	,321
törzshossz	,813	-,523	-,253	-,092
mellkasszélesség	,235	,289	,037	,934

A 13. táblázatban foglaltam össze a testméretek súlyozását a diszkriminancia függvények felépítésében. Az első lépésben használt 1-es függvényben a marmagasság és a mellkasmélység valamint a farbübmagasság esik legnagyobb súllyal latba, ezt követően a 2. függvényben a farbübmagasság helyett a törzshossz válik meghatározóvá, a harmadik függvényben a marmagasság, a negyedikben a mellkasszélesség szerepel nagy súllyal.

14. táblázat: Az első négy diszkrimináló függvények által megmagyarázott heterogenitás mértékei

diszkriminancia függvény	sajátérték	variancia%	kumulatív%	Kanonikus korreláció
1	1,870 ^a	63,9	63,9	,807
2	,791 ^a	27,0	90,9	,665
3	,248 ^a	8,5	99,3	,446
4	,020 ^a	,7	100,0	,139

Megfigyelhető, hogy az elkülönüléstulnyomó része az első függvény alapján (63,9%) történt – azaz az első függvényben nagy súllyal szereplő marmagasság, mellkasmélység és törzshossz alapján, tehát az állat legfontosabb méretei alapján jó eséllyel fel lehet ismeri a gulyába tartozást –, majd a második és a harmadik függvény segítségével már 99,3% ban sikerül az elkülönítés. Az analízisban a négy legerősebb függvényt használtuk fel.

15. táblázat: A diszkriminancia függvények hatása a csoportátlagokra

gulya	diszkriminancia függvény			
	1	2	3	4
Apaj	-2,363	,237	,503	-,020
Tiszaigar	1,899	,421	,699	,139
Hortobágy	-,167	-,447	-,475	,107
Bugac	,905	-1,019	,106	-,238
Sarród	,507	2,179	-,572	-,150

A 15-es táblázat a csoportok konkrét szétválasztásának menetét jellemzi azzal, hogy a csoportátlagok (centroidok) értékeit adja meg a diszkriminancia függvények számított értéke alapján. Az apaji és a tiszaigari gulyát az első függvénnyel, míg a bugaci és a sarródi gulyát a második függvénnyel – azaz a törzshossz testméret felhasználásával – tudjuk megkülönböztetni. A különbségek a diszkriminancia függvényekre vonatkozó Wilk's lambda értékek χ^2 - e alapján szignifikánsnak tekinthető $p=0,001$ szint mellett.

16. táblázat: A diszkriminancia függvények alapján végzett besorolás sikeressége

		Becsült csoportba sorolás					
		1 gulya	2 gulya	3 gulya	4 gulya	5 gulya	összesen
eredeti n	Apaj	173	1	24	3	12	213
	Tiszaigar	0	137	8	17	16	178
	Hortobágy	16	17	308	38	15	394
	Bugac	5	20	40	123	4	192
	Sarród	5	11	5	0	92	113
%	1	81,2	0,5	11,3	1,4	5,6	100,0
	2	0,0	77,0	4,5	9,6	9,0	100,0
	3	4,1	4,3	78,2	9,6	3,8	100,0
	4	2,6	10,4	20,8	64,1	2,1	100,0
	5	4,4	9,7	4,4	0,0	81,4	100,0

a 76,4% az egyedeknek az eredeti gulyába sorolódott

3.4.3 A magyar szürke, maremman és a török szürke szarvasmarhafajták összehasonlítása

Az összehasonlítást felmért állományok átlagos testméreteinek összevetésével kezdem el, hogy objektív képet alkothassunk a három podóliai fajta testalakulásáról. Az nagyban eltérő elemszámok figyelembevételével, az összehasonlítás eredményei a következő táblázatban (17. táblázat) található.

Az adatok összehasonlításánál egyértelműen kitűnik, hogy a testméreteit tekintve a legnagyobb a maremman fajta majd a magyar szürke és a török szürke következik. Az a vizsgálat kezdetétől látható volt, hogy a nagyon szegényes takarmányozású török szürke szarvasmarha a legkisebb a három közül.

Sokkal érdekesebb kérdés a maremman és a magyar szürke összehasonlítás, hiszen a fajták külleme „szemre” Bodó Imre szerint is annyira hasonló, hogy könnyen összetéveszthető egy maremman tehén egy jól alakult magyar szürkével, bár az igen gyakori sodró szarvalakulás és erős pigmentáltság talán elkülöníthetővé teszi őket.

17. táblázat: Csoportstatisztikák a maremman és a teljes magyar szürke és a török szürke állomány tekintetében

		marmagasság	farbúbmagasság	hátközépmagasság	mellkasmélység	ferdetőrzshossz	mellkasszélesség	törzshossz	far III
magyar szürke	átlag	133,11	133,79	131,54	76,94	157,64	45,53	152,70	24,33
	n	1090	1090	1090	1090	1090	1090	1090	1090
	szórás	5,72	6,09	5,76	4,35	9,81	4,35	10,70	4,59
török szürke	átlag	109,86	114,34	110,71	59,71	119,44	31,76	115,67	16,57
	n	30	30	30	30	30	30	30	30
	szórás	7,18	8,53	6,99	4,71	13,14	5,91	12,95	3,76
maremman	átlag	141,14	139,82	135,42	81,22	169,77	50,11	167,48	31,29
	n	26	26	26	26	26	26	26	26
	szórás	4,25	3,59	3,27	5,14	10,12	3,92	10,65	2,44

A következőkben a három fajta elkülöníthetőségét, felismerhetőségét, hasonlóan a szürkemarha gulyák összehasonlításához lépcsőzetes diszkriminancia-analízissel vizsgáltam.

18. táblázat: Az eltérő testméretekre súlya az első két diszkriminancia függvény és három fajta esetében

	diszkriminancia függvény	
	1	2
marmagasság	,135	-1,177
hátközépmagasság	-,117	2,351
farbúbmagasság	,314	-1,252
mellkasmélység	,426	,192
törzshossz	,365	-,059
mellkasszélesség	,457	,020

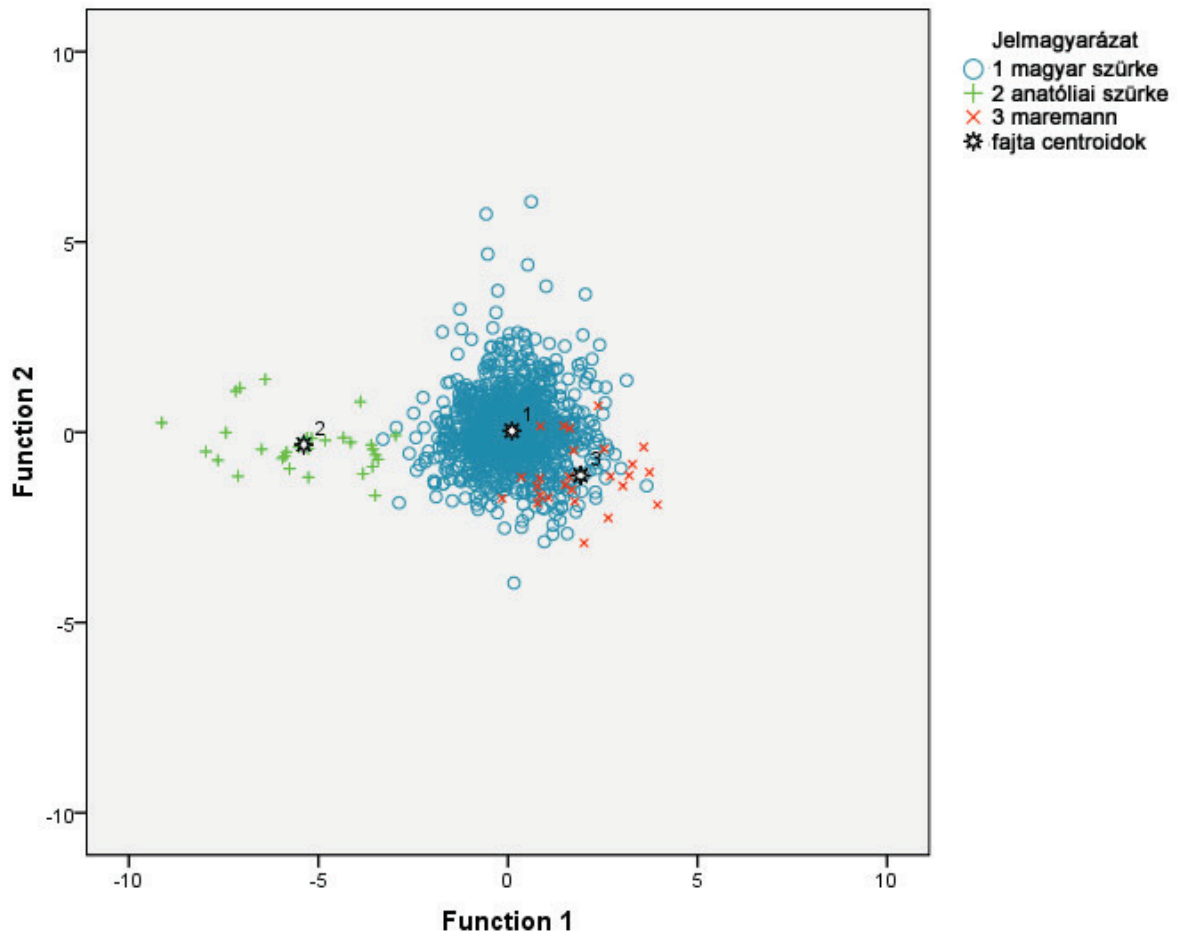
A fajták felismerése a magyar szürke és a maremman esetében túlnyomórészt sikeres volt, míg a török szürke fajtát 65%-ban magyar szürkének sorolta a két diszkriminancia függvény.

19. táblázat: A diszkriminancia függvények alapján történő osztályba sorolás eredménye fajtánként és diszkriminancia függvényenként

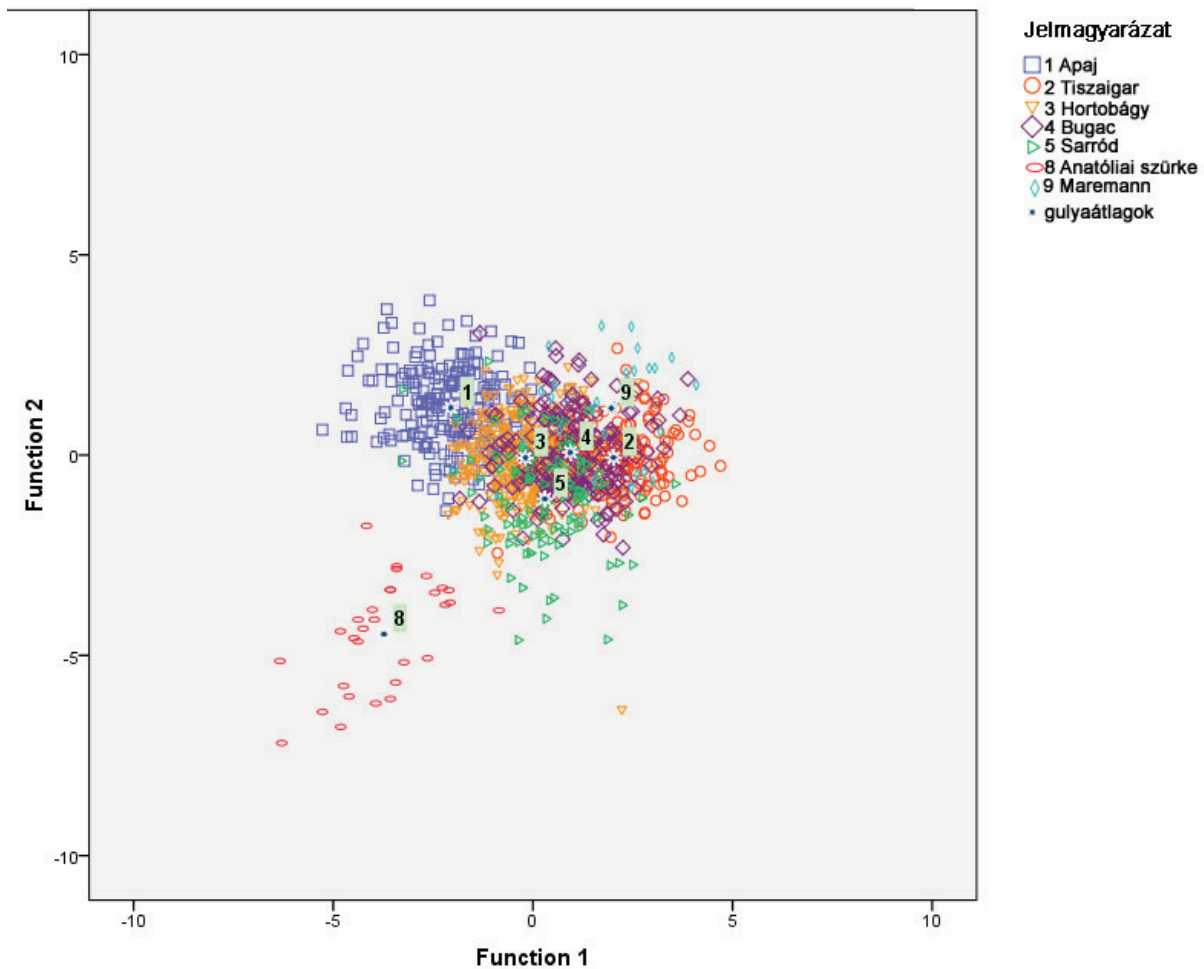
fajta		Osztálybasorolás a diszkriminancia függvény alapján			
		1	2	3	összesen
Eredeti faj- ta	magyar szürke	1085	1	4	1090
	maremman	1	29	0	30
	török szürke	17	0	9	26
%	magyar szürke	99,5	,1	,4	100,0
	maremman	3,3	96,7	,0	100,0
	török szürke	65,4	,0	34,6	100,0

a. 98,0% az egyedeknek az eredeti fajtához sorolódott

20. ábra: Diszkriminancia függvényekkel szétválasztott fajták



A magyar szürke és a maremman fajták elkülönítése a fenti két táblázat alapján a második diszkriminancia függvénnyel lehetséges. A függvény felépítését vizsgálva a marmagasság, hátközép és farbúbmagasság szerepel súlyozottan. Ez a három testméret a felső vonalat határozza meg. Ez az eredmény alátámasztja Bodó Imre véleményét, amennyiben szerinte a felső vonal a magyar szürkében korrektebb, míg a maremmanban sokszor találunk puha felső vonalat.



21. ábra: Az első és második kanonikus változó segítségével szétválasztott csoportok, gulya és fajta centroidokkal

A 21-es ábra alapján, az ábrán 8-as gulyaátlaggal, centroidtal jelzett török szürke marha a magyar szürke és maremman egyedek felhőjétől az átlón negatív irányban elcsúszva, jól elkülönülten találhatóak. Ez kisebb testméretek mellett hasonló testarányokra utalhat, ennek vizsgálatára a geometriai morfometria felhasználásával kerülhet sor.

A 9-es gulyaátlaggal, centroiddal jelzett maremman a bugaci és a tizzaigari centroidokhoz esik a legközelebb és a szóródott testméreteket jelölő maremman egyedek nem kizárólag az említett de a hortobágyi és a sarródi pluszvariánsokkal is keverednek. Ez az elhelyezkedés ismét egyértelműen jelzi a maremman és a magyarszürke fajták küllemének nagyfokú hasonlóságát.

3.4.4 Korábbi és a mai állomány testméreteinek összehasonlítása

A VATEM méretek és a klasszikusa testméretek összehasonlításánál az ezt a kérdést tárgyaló fejezetben leírt korrelációs egyenleteket használtuk a VATEM méretek átalakítására. Az összefoglaló táblázatban (20. táblázat) csak a fontosabb és az irodalmi adatokban is fellelhető testméretek vannak feltüntetve a források megjelölésével.

20. táblázat: Az irodalomban előforduló egykori és a mai testméretek összehasonlítása

	marmagasság	hátközép	farbúb	faroktő	törzshossz	mellkasm
Tormay 1877						
helyesen alakult nagyobb teheneknél	151					
Csáky féle Mezőhegyes	156					
Monostori 1906	130-160					
TORMAY 1901						
legkisebb tehén	127	124	128	125	153	
legnagyobb tehén	155	152	156	154	165	
legszebb tehén	139	137	138	138	187	
dunántúli tehének átlaga	130	128	132	130	151	
erdélyi jobb gulyatehének átlaga	135	132	138	136	159	
erdélyi községi tehének átlaga	133	130	135	132	156	
magyarországi községi tehének átlaga	133	130	134	133	159	
mezőhegyesi tehének átlaga	141	139	141	140	186	
Kerékgyártó - Magyar 1941						
mezőhegyesi	137,87	138,49	142,32		165,16	72,90
tiszántúli népies	132,74	128,53	130,5		151,09	71,21
Kívánatos értékek Wellman szerint	135					
BODÓ 1968						
átlag	138,7					
válogatott tehének	134,2				157,3	70
Standard 1953						
MNOSZ6802-53	136				161	72
Konvertált VATEM* 2001-2007						
Hortobágy	130,7	135,4				79,9
Bugac	135,4	134,8				77,1
Tiszaigar	127,8	130,7				76,3
Apaj	130,9	131,7				77,9
Sarród	131,1	133,9				71,4
összes	130,5	132,8				76,9

* VATEM testméretből regressziós egyenlettel számított klasszikus testméret (lásd 9. táblázat)

A fenti adatok tükrében arra a megállapításra juthatunk, hogy a magyar szürke szarvasmarhafajta az elmúlt másfél évszázadban főbb testméreteit tekintve nem sokat változott.

Ennek okát keresve gondolhatunk arra, hogy a fajta extenzív tartásban elérhető ideális testmérete a röghatásnak köszönhetően nem könnyen változhat. A hústermelés fokozását célzó szelekciós munka folyamatának többszöri megszakadása (fajtaváltás, világháborúk, palacknyak időszak) megakadályozhatta az árutermelő szelekcióval járó testméret növekedést.

Utoljára fölmerülhet az az elképzelés is, hogy esetleg a fajta túltenyésztettsége, „kimerülése” okozza ezt a stagnáló állapotot. Ezt a fajtatörténeti dokumentumok egyértelműen cáfolják, mivel intenzív és tervszerű beltenyésztésről sehol nem találunk adatokat.

3.5. Összefoglalás

Munkám során a magyar szürke szarvasmarhafajta küllemét vizsgáltam.

Első lépésben kifejlesztettem a Videokép Analizálásos Testméretfelvétel Módszerét az Állattenyésztési Tanszék munkatársainak korábbi ötletéből. A módszerhez szükséges felszerelés könnyen szállítható, és elérhető árú. A módszerhez kiértékelő szoftvert terveztem. A módszerrel több mint 3200 állatot mértem meg (23. táblázat).

23. táblázat: VATEM-vizsgálatba bevont állományok

tenyészet	állomány	felvétel éve	egyedszám
Hortobágy	magyar szürke tehének	2000	800
Hortobágy	magyar szürke tehének (ismétlés)	2001	850
Hortobágy	bivalytehének	2001	60
Apaj	magyar szürke tehének	2001	450
Tiszaigar	magyar szürke tehének	2003	280
Bugac	magyar szürke tehének	2004	300
Torre-Mancina, Olaszország	maremman tehének	2004	30
Bandirma, Törökország	anatóliai szürke tehének	2005	120
Bandirma, Törökország	anatóliai bivaly tehének	2005	300
Balikesir, Törökország	anatóliai bivaly tehének	2005	80
Sarród	magyar szürke tehének	2006	113
összesen			3270

Meghatároztam a VATEM és a klasszikus módon felvett testméretek viszonyát, regressziós egyenletekkel a főbb testméretekét átszámíthatóvá tettem.

A testméretek felvétele után meghatároztam a fajta és a gulyák testméretének átlagát és statisztikai mérőszámait. A gulyák összehasonlítását diszkriminancia analízissel elvégezve megmutattam a főbb eltéréseket a tenyészetek között.

A feldolgozás során, elsőként az összes egyedet együtt vizsgálva, megállapítottuk a testméretek statisztikai jellemzőit. Ezek a korábban más szerzők által is vizsgált mérőszámok fenotípusosan jellemzik a magyar szürke szarvasmarha állomány jelenleg tenyésztési szempontból legfontosabb részét.

Az állományokat külön-külön vizsgálva meghatároztuk az egyes gulyák testméretekre vonatkozó leíró statisztikai jellemzőit, s ezeket összevetve, gulyánként részleteiben vizsgáltuk az adatokat.

Végül egyutas varianciaanalízis (ANOVA) módszerével vizsgáltuk az állományok különbözőségét, azaz, hogy a testméretek tekintetében kimutatható-e szignifikáns különbség a felmért gulyák között. Eredményeink alapján az ANOVA-tesztben felhasználható testméretek közül az egyes állományokban mindegyik szignifikánsan eltérő.

Munkánk folytatásaként ajánljuk az állományok megkülönböztethetőségének vizsgálatát a testarányok alapján.

4. A magyar szürke szarvasmarhafajta mitokondriális DNS alapú diverzitás- és fajtaeredeti vizsgálata

4.1. Bevezetés és célkitűzés

A magyar szürke szarvasmarha fajtával kapcsolatos vércsoport és fehérje (enzim) vizsgálatok, mint biokémiai polimorfizmuson alapuló kutatások az 1970-es években kezdődtek (KOVÁCS et al. 1979) és a 80-as években már komplex immunogenetikai leírást közöl TAKÁCS et al. (1986). meg. A mitokondriális örökítőanyag a sejtmagi DNS-től eltérő öröklésmenete miatt az elmúlt időszak filogenetikai kutatásainak egyik leggyakrabban használt eszköze. A csak a nőivarú vonalakon, rekombináció nélkül öröklődő mitokondriális DNS generációk során át követhető nyomon. A mitokondrium DNS-ének nem kódoló szakaszainak mutációs rátája a magi DNS sokszorosa, polimorfizmusai fontos információkat hordoznak az eltérő változatok, haplotípusok leszármazási kapcsolatairól.

A magyar szürke szarvasmarha tehéncsaládjainak, azaz mitokondriális vonalainak vizsgálata több kérdésre is választ adhat. Elsősorban a fajta eredetével kapcsolatos elméletek közül segítheti a legvalószínűbb kiválasztását új, molekuláris, populációgenetikai összefüggések feltárásával. Továbbá választ adhat egy hasonlóan fontos kérdésre a genetikai diverzitás mértékének megállapítására, amely felmérhetővé teszi az 1960-as évek palacknyak hatásának genetikai következményeit.

Vizsgálataim célja a következő volt:

- a magyar szürke szarvasmarha törzskönyv alapján a tehéncsaládok számbavétele, azaz az élő és kihalt családok felrajzolása az élő állomány mitokondriális vonalakba való besorolása
- a mintavételi a mitokondriális DNS öröklésmenetéhez igazodó módszerének kidolgozása a legteljesebb reprezentáció céljával
- a minták nem kódoló mitokondriális D-hurok szekvenciáinak megállapítása
- a kapott szekvenciák besorolása haplocsoportokba
- a mtDNS diverzitás értékek megállapítása
- a lehetséges filogenetikai összefüggések feltárása, különös tekintettel a fajta eredetével kapcsolatos elméletekre

4.2. Irodalmi áttekintés

4.2.1 A magyar szürke szarvasmarha eredetével kapcsolatos elméletek

A magyar szürke szarvasmarha eredetének kérdéséhez az elmúlt évszázadban sokféle indíttatásból sokfelől közelítettek (BODÓ 1973, 1976, 1982).

Hosszú ideig általános volt az a romantikusnak is nevezhető vélemény, hogy őseink a magyar marhát már a honfoglaláskor magukkal hozták (HANKÓ 1940, 1943, 1952).

Régészeti kutatásainak csontleletei alapján, BÖKÖNYI (1961) szerint a XIV-XV. század előtt Magyarországon is a kistestű, brachyceros jellegű szarvasmarha élt, amely egész Európában elterjedt volt. Elmélete szerint valószínű, hogy a kunokkal, vagy más, későbbi bevándorlókkal került az országba, és vált a XIV.-XV. századra a legelterjedtebb, leghíresebb, legkeresettebb fajtává.

A harmadik teória JANKOVICH (1967) elgondolása, aki úgy véli, hogy a magyar szürkemarha domesztikációja az őstulokból itt a Kárpát-medencében ment végbe az Árpádházi királyok idején. Húsáért vadászták, annyira, hogy külön őstulok vadászfoglalkozás név (venator buorum) is létezik az akkori oklevelekben. Létezik azonban egy másik foglalkozás is, amely az őstulok borjainak vadászatára utal (venator bubalinorum). Jankovich szerint ez a más néven említett vadászat más módon és más célra, azaz hálóval vagy csapdával, megszelídítés, domesztikáció céljára történt.

MATOLCSY (1975) és BARTOSIEWICZ (2006) elmélete szerint egy a helyben található, már háziasított szarvasmarha intenzív és viszonylag gyorsan lezajlott tenyésztői munka eredményeként a XVII-XIX. században jött létre a fajta.

Napjainkban a hasonló, filogenetikai kérdések megválaszolása leginkább molekuláris genetikai összehasonlító vizsgálatok alapján történik, amelyekre a magyar szürke szarvasmarhafajta esetében még nem került sor.

4.2.2 A mitokondrium és a mitokondriális örökítőanyag öröklésmenetének sajátosságai

A mitokondriumok eredetével kapcsolatban napjainkban leginkább az ún. endoszimbionta elméletet fogadják el. E szerint a mitokondriumok ősi heterotróf, aerob baktériumokként az őket bekebelező sejtekbe kerülve, önállóságukat elvesztve, szimbiózist hoztak létre, s azokban független módon szaporodva váltak sejtiszervecskékké.

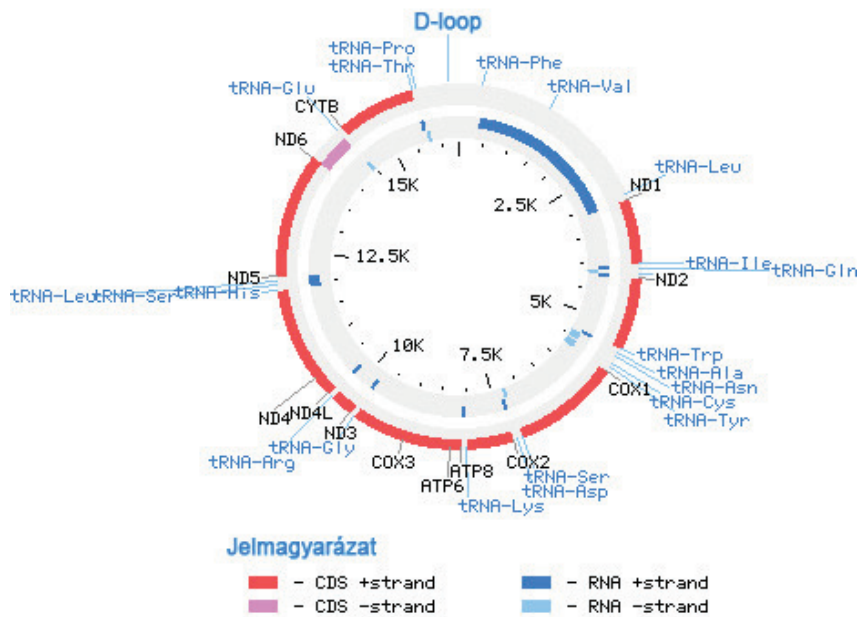
A mitokondrium rendeltetése a sejt anyagcseréjében sokrétű. Fő feladata az adozin-trifoszfát-képzés: oxidatív foszforiláció az enzimei segítségével. Ezen kívül Ca^{2+} ionokat tárol, zsírsavakat, ureát, glutaminsavat és szteroidhormonokat állít elő. A mitokondriumok a sejtek anyagcsere-állapotától függő számban vannak jelen az összes eukarióta sejtben (pl: a májsejtben 2000, a vesetubulussejtben 3000, az emlősök ondósejtében 4 db), kivéve az érett eritrocitákat és egyes parazita egysejtűeket. A *mitokondriális DNS* (mtDNS) nagy kópiaszáma és viszonylag ellenálló körkörös felépítése lehetővé teszi, hogy régészeti leletekből, degradált mintákból is sikeresen lehessen vizsgálni. A mitokondrium általában megnyúlt henger alakú, ritkán gömbszerű, kb. 500 nm átmérőjű. Belső felépítésére a kettős, külső és belső membránrendszer jellemző. A belső membránrendszer többszörösen betűrődve biztosít nagy felületet az enzimatis reakciók lejátszódásához.

A mitokondrium örökítőanyaga kettős szálú, csupasz, azaz hisztonmentes DNS-molekula, amelynek hosszúsága kis mértékben eltér a különböző fajokban (szarvasmarha 16 338, zebu 16341, ló 16670, sertés 16613, kutya 16727, macska 17009 bp). A mitokondriális DNS több másolatban is megtalálható a mitokondriumon belül. Fehérjeszintézis-riboszómáinak felépítése eltér a citoplazmatikus riboszómáéitól, együttműködése a sejt saját fehérjeszintézisével kétirányú.

A mitokondrium az emlős állatok természetes szaporodásakor kizárólag anyai ágon öröklődik, mert az embrióban csak a petesejt mitokondriumai vannak jelen. Az egyedre jellemző mitokondrium-populációt tehát a petesejtben jelen lévő mitokondriumok adják.

4.2.3 A mitokondriális örökítőanyag felépítése

A szarvasmarha (*Bos taurus*) mtDNS-ének teljes bázissorrendjét 1982-ben ANDERSON és társai [1982] közzölték (GENBANK azonosító: V00654). A szarvasmarha mitokondriális DNS-ének génjeinek sorrendje és szekvenciája kisebb faji jellegzetességeket leszámítva nem mutat lényegi eltérést az emlős állatok mitokondriális örökítőanyagához képest (22. ábra).



22. ábra: A szarvasmarha mtDNS felépítése (forrás:NCBI - GENBANK)

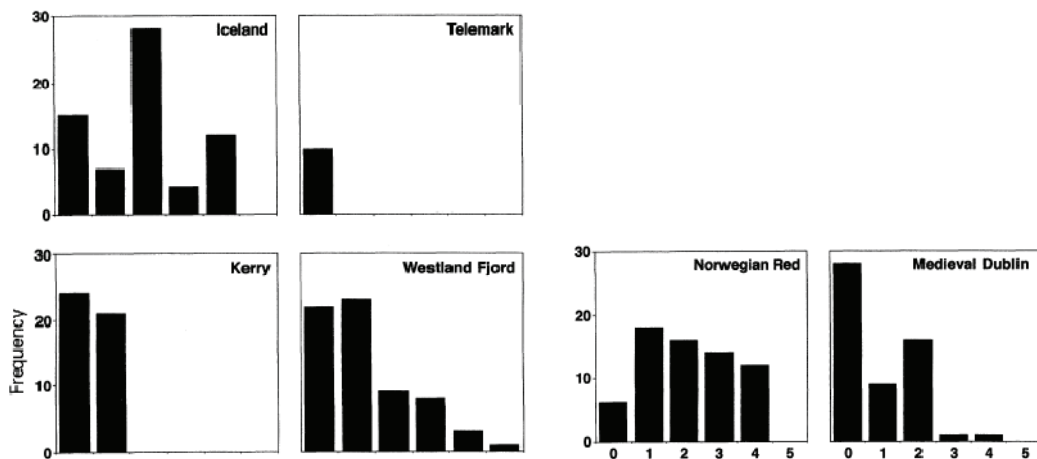
A mitokondriális genomot a cytochromB és a fenilalanin-tRNS gén kódoló szakaszai között a D-hurok (displacement loop, D-loop) köti körkörösre, a duplaszálú cirkuláris molekula igen stabil. A nem kódoló D-hurokban létrejövő mutációk esetén nincs szelekciós nyomás, ezért a hipervariábilis szakasz bázissorrendjében – összehasonlítva a kódoló régiókkal – nagyfokú polimorfizmust mutat. Mutációs rátája nagyságrendekkel nagyobb, mint a mitokondriális genomban bárhol, de pontos meghatározását nehezíti, hogy a visszamutálás lehetősége is fennáll [GIBBONS, 1998]. A D-hurok szekvenciáját a fentiek miatt számos fajban használják fajtafejlődés-történeti kutatások eszközeként [STONEKING, 2000].

4.2.4 Mitokondriális szekvenciákból számított populációgenetikai mérőszámok

A genetikai diverzitást sokféleképpen mérhetjük populációs vagy fajta szinten. A klaszikus törzskönyvi alapú számítások Wright koefficiens, rokonsági fok, rokontenyésztettség-a valószínűség-számítás módszereivel, a leszármazási kapcsolatok számbavételével adnak közelítést egy-egy populáció, tenyészet, fajta genetikai állapotáról (Zenke 2007). Molekuláris genetikai vizsgálatok alapján sok genetikai elem eltérő megjelenését, polimorfizmusát alapul véve számíthatunk diverzitási értékeket. Tipikus alkalmazásoknak mondhatók a sokoldalúan felhasználható mikroszatelliták – nem kódoló ismétlődő szakaszokból álló blokkok és a nem rekombinálandó mitokondriális DNS hipervariábilis – szintén nem kódoló – régiója.

Összességében nehéz megítélni, hogy melyik módszer tekinthető a legjobban hasz-

nálhatónak a genetikai sokféleség megítélésének kérdésében, de az eltérő módszerek azonos állományokban alkalmazva jelentősen eltérő eredményeket adhatnak. A diverzitás megítélésében is szem előtt kell tartani az egyes módszerek gyengeségeit és erősségeit, hogy a feltett kérdésre lényegi választ adhassunk. A mikroszatellit lokuszokra alapozott fajtatörténeti vizsgálatok esetében a fajták elszigetelt populációit mintázva az azokban a genetikai drift miatt megváltozott allélfrekvenciák egymásnak részben ellentmondó eredményekhez vezethetnek. Egyszerűsítve talán úgy is megfogalmazható, hogy a mikroszatelliták „túl gyorsan” a mitokondriális D-hurok „túl lassan” változik a fajta eredetének vizsgálatához, ahol a fajtatiszta tenyésztés kezdetét figyelembe véve kb. 100 éves felbontás lenne az ideális. A mitokondriális DNS választása hasznosabbnak tűnik amennyiben a $nx100$ évvel ezelőtti eseményeket szeretnénk vizsgálni, de meg kell említeni, hogy könnyen „mögé szaladhat” molekuláris „messzelátónk” fókusz a fajta kialakulásával kapcsolatos hipotézisek valószínűsítette időpontoknak. A kódoló szakaszok használata a szelekciós folyamatok mutációs változásokat csillapító hatása miatt a még távolabbi múltba nyit ablakot



23 ábra: A populáciodinamikai változásokról tájékoztató fajta belüli mismatch megoszlás értékei MacHugh 1999-es cikkében. A mtDNS szekvenciák páronkénti eltéréseinek száma alapján felrajzolt grafikon a stabil, bár mitokondriális szintem nem nagyon változatos (Izlandi, norvég vörös) fajtákra, és a grafikon alapján palacknyakeffektus utáni képet mutató fajtákra (telemark, kerry) osztható

4.2.5 Mitokondriális szekvenciákon alapuló filogenetikai vizsgálatok

Az anyai vonalak mtDNS-ének nyomon követhetősége révén sok jelentős fajtafejlő-

dés-történeti (filogenetikai) kutatási eredmény alapja lett (CAVALLI-SFORZA, 2003; SYKES, 1995) Az emberiség eredetével foglalkozó hasonló kutatások eredményei napjainkra már a népszerű tudományos ismeretterjesztés révén bekerültek a köztudatba (Éva hét leánya Bryan Sykes: 2002., Genetikai átjáró, Cavalli-Sforza, 2002). Az mtDNS ilyen jellegű vizsgálatokban való felhasználhatóságát nagyban növeli a sejtekben nagyszámú másolatban jelen lévő körkörös molekula nagy ellenálló képessége, így még régészeti mintákból is sikeresen elkülöníthető (BAILEY, 1996; EDWARDS, 2003).

A különböző mtDNS szekvenciák a polimorf pozíciók alapján haplotípusokat képviselnek, amelyek fontosabb polimorf motívumaik alapján nagyobb haplocsoportokba sorolhatók. Az eltérő haplotípusok mutációval jönnek létre. Az egymáshoz közelebb álló haplotípusokat azonos haplocsoportokba sorolhatjuk és következtethetünk az egyes haplocsoportok kialakulásának sorrendjére, azaz a filogenetikai kapcsolatokra. A mutációk gyakorisága a régészeti kormeghatározás, ismert idejű földtörténeti klímaváltozások (jégkorszakok, felmelegedések) és a mutációk száma alapján mutációs rátával jellemezhető, és ez alapján az egyes haplocsoportok szétválásának ideje meghatározható.

Az állattenyésztés területén mitokondriális alapon leggyakrabban a domesztikációval és a tenyésztett fajták kialakulásával, rokonságával kapcsolatos kérdésekre keresik a választ.

4.2.5.1 Mitokondriális vizsgálatok a szarvasmarha domesztikációjával kapcsolatban

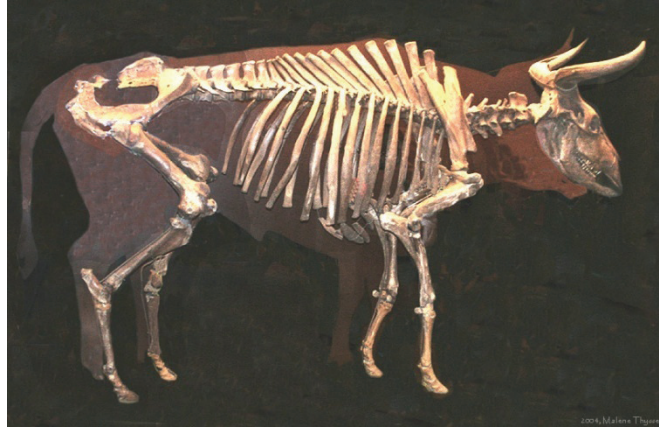
A háziállatok domesztikációjának idejével és helyével kapcsolatban számos elmélet létezik, de a régészeti leletek legújabb morfológiai és mitokondriális genetikai vizsgálatai sem vezettek konszenzusra sok kérdésben.

Az archeozoológiai eredmények tükrében valószínűsíthető, hogy a szarvasmarha domesztikációjának fő központja a Közel-Kelet és az Indus-völgy térségében lehetett.

Az európai szarvasmarha (*Bos primigenius taurus*) domesztikációjával kapcsolatban gyakran merülnek föl új, vagy új interpretációjú vizsgálati eredmények. A domesztikáció helyszíne veti fel az első kérdést azaz, hogy helyben történt-e vagy az említett keleti domesztikáció eredményeként jelent meg Európában a mai fajták őse. Ezt a kérdést úgyis feltehető, hogy mai európai szarvasmarhafajták a kihalt európai őstulok, vagy ősi, keleti marhák leszármazottjai, avagy mindkettő szerepet játszott a kialakulásában?

Julius Caesar *Commentarii de Bello Gallico* a gall háborúkról írt könyvében tesz említést a hatalmas és gyors, semmilyen más vadállathoz nem hasonlítható őstulokról. A XVII.

századig ez a nagyméretű kérődző, az őstulok az európai bölénnyel együtt a vadon élő állatok között megtalálható volt (24., 25. ábra).



24. ábra: Időszámítás előtt 7500-ből fennmaradt teljes őstulok csontváz a Dán Nemzeti Múzeum gyűjteményéből, a csontváz mögött vörössel az állat feltételezett körvonala



25. ábra: Őstulokot ábrázoló barlangfestmény a franciaországi Lascaux-ban (i.e. 1500)

Az utolsó európai őstulok (*Bos primigenius primigenius*, Bojanus, 1827) feltételezhetően a 1627-ben pusztult el a lengyelországi Jaktorów erdőben. Az őstulok az Indiában fellelt régészeti anyag alapján leírt változata a *Bos primigenius namadicus* (Falconer, 1859).

A régészeti állattan a csontleletek alapján a leírásoknak megfelelő, igen nagytermetű állatként határozza meg az európai őstulokot. Az őstulok nagyobb volt, mint a mai szarvasmarha, talán a nagyramájú húshasznú fajták –mint például az olasz chianina – néha 1200

kg-ot meghaladó bikáihoz volt mérhető. Az őstulok tehének mérete az erős ivari dimorfizmus miatt jelentősen kisebb volt a bikákénál.

Az európai régészeti lelőhelyekről (Nagy-Britannia, Skandinávia, Franciaország, Németország, Olaszország, Ausztria, Dánia) nagy számban kerültek elő újkőkori, vaskori őstulok maradványok is. A kormeghatározás alapján ezek korábbiak az állattenyésztés megjelenésére utaló leleteknél, tehát az ősi európai faunához tartoznak.

Az őstulok jellemzően az összefüggő erdős területek vadállata volt. Az őstulok kihalásának Európában elsősorban a vadászat volt az oka, bár szerepet játszhatott benne a mezőgazdasági termelés miatti élőhely csökkenés.

Utolsó feltételezett példányának emlékét Lengyelországban, Jakotow-tól nem messze emléktábla őrzi.

Pethe Ferenc 1815-ben kiadott Természethistóriájában a szarvasmarha leírása után az Úrvaddal, Aurochs-al foglalkozik (fontos megjegyezni, hogy ebben a szöveg születésének idejében az őstulok és a bölény nevét gyakran felcserélték, így a szöveggel kapcsolatban lehetnek fenntartásaink):

„Úrvad Sz. Ennek a dühös vadmarhának a színe szennyesfakó, szarva rövid, vastag... Hogy a gazdasági szarvasmarha ettől származott volna, ki hiszi, ki nem hiszi, tudni jó volna, de nemtudni sem sokat árt. Az Úrvad bika szörnyű erős, a Ketskeméti bika neki csak gombótz volna, a medvét úgy hányja, mint megannyi matskát. Hol vette az Úr nevet, utána áskálodni talán nem is méltó, mivel elég bizonytalan. Hogy Úr, germanus nyelven erdős, berkes helyet tett volna, ezt meghatározni az Adelungok gondja, de hogy Úr, egyéberánt kezdetformát, fővalamit, előkelőt, gyökeres eredetet s több illyet jelent, azt minden Német tudja.”

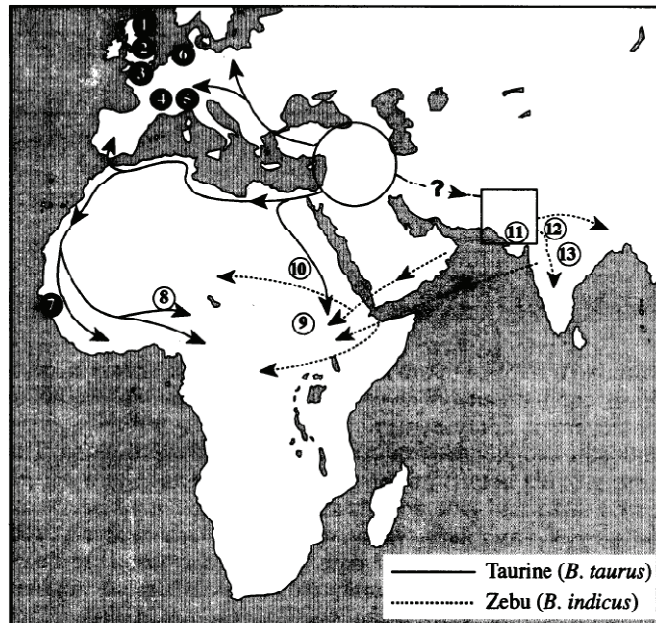
Érdekes, hogy a fenti szöveg alapján az őstulokkal kapcsolatos kérdések 200-éve hasonlóak, nem sokat változtak.

Loftus és munkatársai 1994-ben a mitokondriális DNS restrikciós mintázata alapján vizsgálta a *Bos primigenius taurus* és *Bos primigenius indicus* fajtáktól vett mintákat. A restrikciós endonukleázok hasítási helyei alapján a két alfaj között szekvenciális eltéréseket mutatott ki. Eredményei alapján feltételezte, hogy a két alfaj két eltérő domesztikációs centrumban jött létre. Az afrikai púpos fajták eredetével kapcsolatban az alfajok gyakori keresztezését valószínűsíti.

Loftus (1994) másik cikkében már szekvenálást követően vizsgálja mitokondriális DNS

hipervariábilis régióját az európai, ázsiai és afrikai mintákon. A genetikai távolságok és a mitokondriális DNS becsült mutációs rátája alapján 1 millió évvel ezelőttre teszik a két alfaj szétválását és 10000 évvel ezelőttre az afrikai és az európai szarvasmarha ősök szétválását. A cikk újfent megerősíti az indicus és turus alfajok elkülönült domesztikációjának teóriáját.

Bailey (1996) vizsgálja először a mtDNS hipervariábilis régióját régészeti mintákból nyert örökítőanyagból, és jut arra a következtetésre, hogy az őstulok azonos fajba tartozik és mai taurus fajták ősének tekinthető. Bradley (1996) mtDNS vizsgálatok alapján munkájában arra a következtetésre jut, hogy az európai és afrikai fajták őseként két különálló őstulok vonal határozható meg, amely jóval a házasítás feltételezett időpontja előtt már elkülöníthető a régészeti leletek molekuláris vizsgálata alapján (26. ábra). Ebben a publikációban először jelenik meg annak a lehetősége, hogy az őstulok nem egységes fajként, hanem szétterjedésével párhuzamosan kialakult fajok, vonalak-, alfajok-, mitotípusonként volt jelen a domesztikáció feltételezett időpontjában.



26. ábra: A *Bos primigenius taurus* (folytonos vonal) és a *Bos primigenius indicus* (szagatott vonal) feltételezett vándorlási útvonala a domesztikációs centrumokból (Bradley 1996)

McHugh (1999) írországi lelőhelyekről előkerült középkori szarvasmarha csontokat vizsgált és határozta meg genetikai távolságukat napjaink szarvasmarha fajtáiból. Bár a fenti cikk a domesztikációval kapcsolatban nem nyújt új információkat, jelentőségét az adja,

hogy a fajták eredetével kapcsolatban első alkalommal középkori használt fül régészeti mintákat, így az említett fordulópont (XVII. század) folyamatait, a fajtatiszta tenyésztés következményeit teszi vizsgálhatóvá.

Troy és mtsai (2001) *Nature*-ban megjelent cikke az első olyan széleskörű mintavétel alapuló munka, amely az összes jelentősebb európai fajtát bevonja a mintavételbe. A mintavétel módja itt csupán a vizsgálat céljához mérten tervezett, de mivel nem konkrétan a fajták eredetével foglalkozik ennek az eredményekre nincs számottevő negatív hatása (a mitokondriális célú mintavételi anomáliákról bővebben lásd: 3.2.5.3 fejezet). Az első alkalommal definiált T, T1, T2, T3, T4 mitokondriális haplocsoportok ma is az eltérő haplotípusok csoportosításának alapját adják. A szerzők szerint az európai fajták egyértelműen egy az európai ásatásokon előkerült európai őstulokkal nem azonos közel keleti őstől származnak. Az afrikai szarvasmarhafajtákkal kapcsolatban megállapítja, hogy bár az európai fajtáktól jól elkülönült haplocsoportot alkotnak, de a genetikai távolságok alapján azonos mitokondriális őstől származnak mint az európai fajták.

Troy cikkét követően a szarvasmarhafajtákkal foglalkozó mitokondriális alapú filogenetikai kutatások sokasága jelent meg a tudományos lapokban, és kezdetét vette a mtDNS „reneszánsza”. A GENBANK-ban fellelhető D-loop szekvenciák 90%-a ezt követően keletkezett, bár a fenti rekordok leírása, fajtamegjelölése azaz annotációja sokszor használhatatlanul hiányos.

Az ázsiai fajták nagymintás vizsgálata alapján Mannen (2004) eredményei alapján megerősíti azt a véleményt, hogy az ázsiai taurus fajták eltérő haplocsoportja a T4 haplocsoport egy esetleges eltérő mitokondriális őst feltételez, valamint a mitokondriális vizsgálatok mellett elvégzett az Y ivari kromoszómán helyeződő apai SRY gén polimorfizmusok alapján kimutatta a múltbeli *Bos indicus* keresztezések genetikai nyomait.

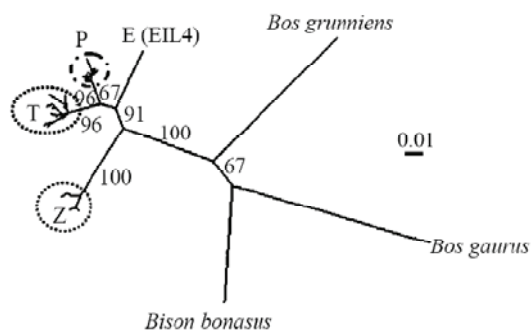
A 2001-es Troy cikket követő időszak új jelentős eredményeit mutatja be Beja-Pereira és mtsai (2006) cikkében. Új, saját mintavétele során igyekeznek a mitokondriális vizsgálatok követelményeihez illeszkedő módszert alkalmazni, azaz, bár a founder kifejezést nem használja de az anyai ágon rokon egyedektől nem vett mintát. Következtetéseiben azt írja, hogy az európai fajták nem tekinthetők egy közel-keleti őstől származottjának, hanem valószínűleg a közel-keleti házasított állomány szétterjedése közben többször kapcsolatba került a helyi állományokkal és így alakult ki napjaink szarvasmarha-állományának vegyes képet adó mitotípus készlete. Régészeti mintaként Olaszországi ásatásokon előkerült, az eddig molekulárisan vizsgált mintáknál régebbinek (12 és 17 ezer év között) keltezett őstulok csontokat használt és ezekből nyert a T3 haplocsoportba tartozó szekvenciákat. Ezt az

eredményt Edwards (2007) megkérdőjelezi, tekintettel arra, hogy az olaszországi lelőhelyekhez közel előkerült olasz és szlovén hasonló korú vagy fiatalabb mintákból csak a P haplotípust tudták kimutatni. Beja-Pereira és mtsai a dél-európai fajták eredeténél megjegyzi azt is továbbá, hogy az afrikai hatás miatt itt még összetettebb lehet a mitokondriális eredet kérdése.

Érdekes multidiszciplináris kutatás Pellechia és mtsai (2007) munkája a humán és a tenyésztett állatok populációinak közös vándorlásáról, amennyiben az etruszk telepések által keletről a bronz-korban magukkal hozott házi állatnak tekinthetőek a T3-haplocsoportba tartozó mai szarvasmarhafajták. A telepések egy feltételezett katasztrófa elől menekülve hajókkal érkeztek Toszkána partjaihoz és onnan szétterjedve népesítették be az itáliai félszigetet. Sajnos ezzel a cikkel kapcsolatban igen sok, nagy mintán végzett eredmény cáfolja mind a humán mind a szarvasmarha populációval kapcsolatos megállapításokat. (Richard és mtsai 1998).

A japán fekete szarvasmarha evolúciós szempontból igen érdekes, hiszen ezt a fajtát a szigetország sok évszázadon át megőrizte és elszigetelte más fajtáktól. Mannen (1998) cikke arra keresi a választ, hogy honnan eredeztethető az *indicus* fajtákkal körülvett szigetország őshonos Taurus fajtája. Elmélete szerint Ázsiában az első házasított szarvasmarha *Bos taurus* ősének is tekinthető őstulok változattól származott majd ezeket –a szigetországot kivéve– váltotta le az *indicus* fajták sokasága. A fentiek alapján három eltérő szarvasmarha domesztikációs centrum lehetőségét veti föl.

A legutóbb megjelent cikkek (Edwards, 2007) azt a feltevést erősítik, hogy az európai őstulokot nem házasították, mert az ásatag mintákból, amelyeket morfológiailag őstuloknak tipizáltak, nem az európai szarvasmarhafajták haplocsoportjába (T3) tartozó haplotípus határozható meg. Az őstulok haplotípusa egy valószínűleg az európai és az indiai szarvasmarha, a *Bos indicus* *Bos taurus* szétválását követő időszakban elkülönült „P” haplocsoportba tartozik (27. ábra). Tehát, bár az őstulok és a *Bos taurus* fajták rokonságban állnak, de az őstulok, amely keleti irányból népesítette be Európát kihalt, és egy később szintén a Közel Keletről érkező új hullámmal népesül be Európa a *Bos taurus* fajták ősével. Ez az ős már valószínűleg a házasítás jeleit viselte magán, kisebb termetű volt és a nagy nyílt térségeket, szabad legelőket kedvelte.



27. ábra: Az európai őstulok P haplotcsoportjának filogenetikai pozíciója a modern európai fajták (T) a *Bos indicus* fajták (Z) és a külcsoportként használt jak, gaur és bölény haplotcsoportokkal való összehasonlításban. Az E a németországi Eilsleben-ből származó, elkülönülő őstulok szekvenciát jelöli (Edwards, 2007 nyomán). Az elágazódásokhoz tartozó számértékek az elkülönülés valószínűségével kapcsolatos bootstrap értéket jelölik.

A fenti elméletet közlő cikk mintái között Kárpát-medencei vonatkozású leleteket is találunk, hiszen Bartosiewicz, Vörös és Choyke rendre ecsefalvi, szegvári és albertfalvai ásatásokon előkerült csontleleteit is a vizsgálatba vonták. Az első két helyszínről a korai neolitikumból és a neolitikumból származó, az utóbbiból a korai bronzkori minták kerültek a vizsgálatba. A minták molekuláris genetikai vizsgálata alapján a kilenc kárpát-medencei minta közül nyolc a P haplotcsoportba tartozott, azaz az őstulokra jellemző mitokondriális örökítő anyagot hordozta. Az egy kivétellel, amely a legkésőbbi leletek között Albertfalva3-as jelet viselte (a kiegészítő anyagban bizonytalan eredetűnek van leírva). Ezt Anne Choyke archeozoológus szíves szóbeli közlése annyival egészítette ki, hogy eredetileg nem szándékoztak az említett mintát a vizsgálatba vonni, mert a fellelt csövescsont részlet méretei nem voltak pontosan megállapíthatók, és a becsült teljes mérete az eddig feltalált őstulokcsont méretek alsó határán volt. A molekuláris vizsgálatok (T3-as haplotípus) eredményének fényében ennek valószínűsíthető oka az volt, hogy nem őstulokról, hanem kasztrált, hímivarú *Bos taurus* csontról lehetett szó. Ezt megerősíti az is, hogy ez a kora bronzkori minta volt a legfiatalabb az összes vizsgálatba vont közül. Érdekes párhuzamosságot fedezhetünk föl a fenti elmélet és a Richard és mtsai (1998) által a humán mtDNS vizsgálatok alapján publikált elmélettel. Munkájukban a napjaink nyugat-európai lakosságából vett több mint 1000 minta molekuláris vizsgálata alapján, a neolitikumban a Közel-Keletről érkező migráció erőteljes nyomait valószínűsítik.

A szarvasmarha domesztikációjának témájában született legújabb cikk Achilli és mtsai (2008) kutatásait közli és leírja, hogy az őstulokra jellemző és kihaltnak tartott P

haplocsoportba tartozó mitokondriális szekvenciát találtak a GENBANK-ban. A kérdéses egyed fajtája koreai húsmarhaként volt megadva. Továbbá leírják, hogy a borzderes fajta körbe tartozó veszélyeztetett Cabanina olasz fajta két egyedében találtak egy a P és a T haplocsoport között elhelyezkedő és álltaluk Q-val jelölt haplocsoportba tartozó haplotípust. Konklúziójukban, eredményeik alapján, megerősítik az Edwards által leírt keleti eredetű domesztikációt de, arra is utalnak, hogy a déli Alpokban fennmaradhatott az őstulok egy később házasított populációja, amely a fenti Q mitotípus fennmaradását biztosította. A cikkben közölt adatok összefüggéseit keresve nehezen megkerülhető a lehetséges mutációk szerepének hiányos tárgyalása, valamint az, hogy a fellelt két Q haplotípus a GENBANK-i szekvenciák alapján teljes mértékben megegyezik felvetve a nőági rokonságot, azaz az azonos mitokondriális vonalba lehetőségét.

Az őstulok és a modern szarvasmarha viszonyának tisztázásakor fontos megvizsgálni, hogy genetikai adatok alapján utal-e arra valami, hogy az őstulok bikák alkalomadtán vagy rendszeresen fedeztek Bos taurus teheneket. A mitokondriális vizsgálatok a nőivarú öröklésment miatt nem alkalmasak ennek a kérdésnek a megválaszolására. Az Y kromoszóma egyes markerei viszont alkalmasak lehetnek, de összehasonlításban, a jóval kisebb ellenálló képességű Y kromoszóma régészeti mintákból történő meghatározása sokkal nehezebb.

További vizsgálatok fontos kérdése lehet a két nagykérdőző párhuzamos jelenléte egy-egy területen, hiszen a feltételezett keletről történő beáramlás nem minden esetben történt az őstulok kihalása után.

4.2.5.2 Mitokondriális vizsgálatok a szarvasmarhafajták kialakulásával kapcsolatban

A szarvasmarhafajták kialakulása, rokonsági kapcsolataik és mindezek állattenyésztés-történeti vonatkozásai sok szempontból összefüggnek a domesztikáció kérdésével. Fontos azonban megjegyezni, hogy a modern értelemben vett fajtatiszta tenyésztés eltérő populációk keresztezésén (28. ábra), szelekción és rokontenyésztésen alapuló eljárásai az 1700-as években hódítottak tért az állattenyésztésben.

A szarvasmarha faj Bos taurus alfaja több száznyi fajtájának története hol hosszabb, hol rövidebb időre nyúlik vissza. A fajták kialakításának folyamata, a keresztezésekhez használt egyedek származása sok esetben ismeretlen. A mitokondriális DNS-t, örökléstani sajátosságai miatt, napjainkban egyre gyakrabban használják a fajták eredetének felderítésére is.

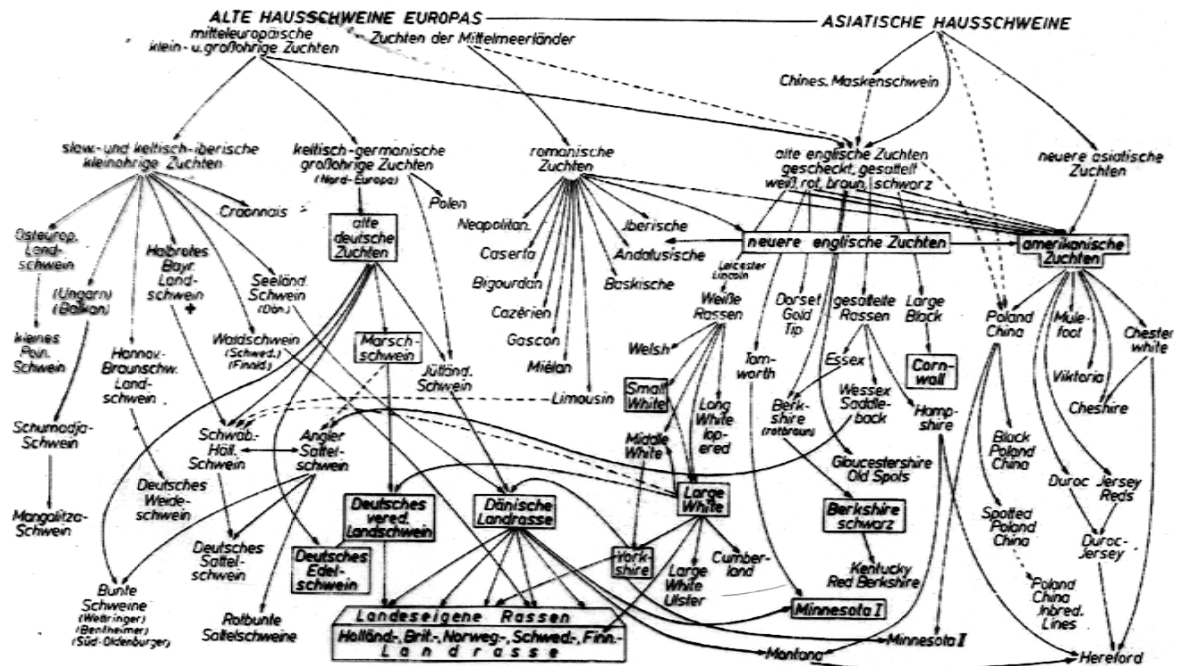


Abb. 11. Abstammung und Rassenbildung der Schweinerassen. (Institut f. Tierzucht, Gießen, 1958)

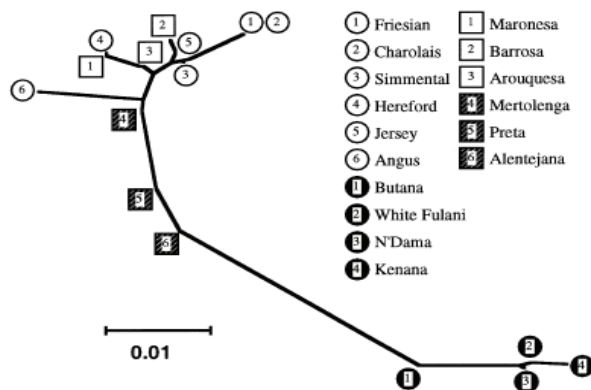
28. ábra: A sertésfajták eredete és felépítése a Giessen-i egyetem állattenyésztési jegyzetében jól érzékelteti a hálózatos összefüggéseket a fajták kialakulásával kapcsolatban.

Először a fajták eredetével kapcsolatos kutatások célját érdemes pontosítani. A fajták kialakulásának története alapján néhány teljes izolációban kialakult fajtát leszámítva (Jersey, Japán fekete, Chillingam, Aleut-szigeti) hipotézisként nehezen feltételezhető a homogén mitokondriális eredet. Ebből következően az egyedi molekuláris genetikai adatok (szekvenciák, RFLP mintázatok, biokémiai polimorfizmusok alapján meghatározott allélok) alapján sokszor jól használható leszármazási fa rajzok nem lehetnek informatívak, hiszen a fajta, mint haplotípusok adott arányú összetétele, egyedek ábrázolása alapján nem pozícionálható. Mindezekből azonban a mintavétel módjára, és a mintaszámra vonatkozó következtetéseket kell levonnunk, azaz, a mintavétel reprezentatív voltát minden esetben a vizsgálatba vont founderok (alapítók, melyeknek nincsenek a törzskönyvben feltüntetett ősei) számával kell jellemezni, valamint, hogy a mintavétel reprezentatív volt a vizsgálatba vont és az összes az élőállományban jelen lévő founder arányával fejezhető ki.

Erős egyszerűsítéssel kijelenthető, hogy a tenyésztett fajtákon végzett filogenetikai célú mitokondriális vizsgálatok szempontjából az egyed, amíg mutációval, vagy populációdinamikai változással nem válik alapítóvá (founderré) főleges részlet, mintavételi egység-

ként nem értelmezhető kategória.

Ha mégis egyedi szekvenciák feldolgozásával próbálunk filogenetikai elemzéseket végezni, sokszor semmitmondó, vagy változatos következtetésekre lehetőséget adó eredmény születhet (29. ábra) (Cymbron 1999).



29. ábra: A Cymbron ábrája a vizsgálatba vont *Bos taurus* és *Bos indicus* fajták rokonsági kapcsolatairól, amely jól demonstrálja a portugál fajtákat ért afrikai hatást.

A fajták mitokondriális szintű kapcsolatait a fajtákra jellemző haplotípus készletek egészének egymástól való távolságával jellemezhetjük egzaktan. A távolságadatok alapján rajzolt törzsfák azt a kérdést vetik föl, hogy azonos eredetűnek tekinthetőek-e a hasonló mitotípus összetételű fajták? A válasz az egyedi helyzetű, történetű fajták esetét kivéve legtöbbször az, hogy csak olyan mértékben, amennyire a haplotípus fajta-specifikus. Ennek oka az, hogy fajták alapítói nagy valószínűséggel nem egyedi mt haplotípusokat hordoztak, így a mitotípusok a fajták között minden bizonnyal átfedésekkel vannak jelen, és ezeket az átfedő mitotípusokat nem tekinthetjük fajta-specifikusnak.

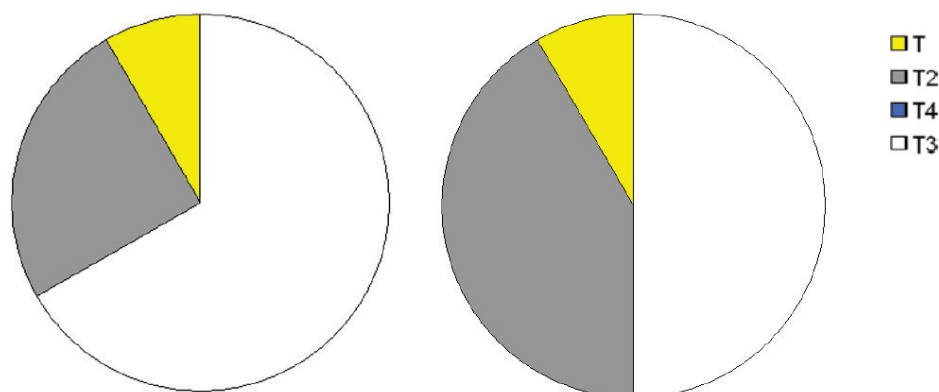
A fajták eredetét mitokondriális adatok alapján ábrázoló törzsfák, ezt mitokondriális szinten meglévő, fajták közötti nem lineáris, hálózatos rajzolatot egyszerűsíti drasztikus és lényegi információtartalom elvesztésével járó módon. A törzsfák, jellegénél fogva, egy őst felüntetve nem csak a más fajtákkal való kapcsolatot, így a fajta kialakulásának folyamatát teszi láthatatlanná, hanem az átfedő haplotípusokat sem veszi figyelembe.

További, nem elhanyagolható szempont a vizsgálatok értékelésénél az, hogy a mitokondriális örökítőanyag melyik szakaszát, milyen hosszúságban használja fel az elemzések során. A 20 évvel ezelőtti drága és bonyolult szekvenálási módszereket mára gyors és összehasonlításban olcsó technikák váltották fel, így a vizsgálatba vont szakaszok a hipervariábilis régió helyett sokszor a teljes mitokondriális genomot lefedik. Ez az informá-

ciótöbbslet természetesen megkönnyíti a tipizálást és az eddig azonos mitotípusba sorolt egyedek ma már sok esetben megkülönböztethetők, és ez felveti a konszenzusos haplocsoportok kialakítási szempontjainak újragondolását is.

Loftus (1994) a domesztikáció szempontjából alapvető fontosságú cikkében európai fajtákból vett mintákkal reprezentálta a modern szarvasmarha populációt. A cikk legkifogásolhatóbb pontja a fajtánként 2-2 minta alapján közölt fajtán belüli diverzitás értékek táblázata. Kifogásolható továbbá a fajták közötti genetikai távolság-számítás eredményeinek közlése is, hiszen csakúgy mint az előző esetben a mintaszám és a mintavétel módja (random egyed) nem teszi lehetővé releváns adatok közlését. Minden gyengesége ellenére ez a cikk indította el a fajták közötti kapcsolatokkal és genetikai távolságokkal kapcsolatos kutatások sorát. Sajnos az itt említett hibákat sok esetben „megörökölték” a témában készült munkák (lásd 4.2.5.3. Mintavételi anomáliák).

Beja Pereira és mtsai (2007) már említett publikációjában, a fajtaeredettel kapcsolatos magyar szürkére vonatkozó eredményeket is találunk. Többek között 12 magyar szürke vérmintát is feldolgoztak a vizsgálatban. A mintakiválasztásról annyit közölnek, hogy ügyeltek az anyai vonalak elkülönítésére, azaz hogy lehetőség szerint különböző mitokondriális vonalakat vizsgáljanak. Az eredmények részleteinek tárgyalását megelőzően közölnek egy térképet amelyen a haplotípusok előfordulási gyakoriságát tüntetik fel kördiagramon.



30. ábra: A Beira-Perreira által vizsgált magyar szürke D-loop szekvenciák cikkben közölt, és ugyanazon adatok GenBank-ból való letöltése után és újracsoportosított haplocsoport szerinti megoszlása

Magyarországot a szürkemarha minták alapján jellemezték T3 65%, T2 25% és T 10% haplocsoport gyakorisággal (30. ábra). A cikkben hivatkozott minták D-loop szekvenciáit a GenBank-ból letöltve és a haplocsoportba sorolást elvégezve az arányok a következők

szerint módosultak: T3:50% T2:40% és T:10%. Az eltérés oka valószínűleg csak technikai hiba volt mert, a gondolatmenet és a következtetéseket az eltérő eredmény nem látszik megzavarni, bár a többi diagramm megbízhatósága is kérdőjelessé válhat e hiba tükrében.

4.2.5.3 Mintavételi anomáliák az irodalomban

A mintakijelölés módja, tekintettel a mitokondriális DNS öröklésmenetére sok kérdést vet fel. Sok hasonló témájú munka gyakorlatát vizsgálva vegyes kép rajzolódott ki az eljárásokat illetően (24. táblázat).

1. **Random egyed.** Véletlenszerű mintavétel azonos tenyészetben kis elemszámmal származás vizsgálat nélkül. A legkevésbé megfelelő mintavételezési eljárásnak a véletlenszerű mintavételt tekinthetjük alacsony (egy-három) mintaszám mellett. Mivel a vizsgálatok célja ebben az esetekben egy adott fajta tartozó egyedek mitokondriális haplotípusának megállapítása, az egy fajta - egy minta rendszerben történt mintavétel teljesen elfogadhatatlan, hiszen csak a véletlenül múlik, hogy a nemvizsgált származású egyed mt haplotípusa melyik csoportba tartozik. Ebben az esetben a véletlenszerűség a mintaszám emelésével volna ellensúlyozható, a haplotípusok gyakorisága meghatározható amennyiben az elemszámot emelni tudjuk. A nagy mintával dolgozó módszer pazarló abból a szempontból, hogy az azonos mitokondriális vonalakat egymástól nem szétválasztva, a kijelölt minták átfedésekkel rontják a reprezentációt.

3. **Random pedigré.** A harmadik felelhető mintavételi módszer az volt, hogy random kiválasztott egyedeket a helyszínen származási lap alapján ellenőrizték, hogy kiküszöböljék a nőági rokonság átfedő hatását. Ez, a mitokondriális öröklésmenetre már reflektáló módszer viszont azt nem veszi figyelembe, hogy a nem rekombinálódó mtDNS esetében négy generáció vizsgálata a rokonság felderítése szempontjából csak csökkenti az azonos vonalba tartozás valószínűségét, de azt nem akadályozza meg. Ebbe a csoportba soroltam a következőképpen leírt módszert is: a tenyésztő/tulajdonos információi alapján nem voltak közeli rokonságban

4. **Random founder.** A negyedik mintavételi típusban már reflektált a mitokondriális DNS öröklésmenete de nem mindig pontos a meghatározás: törzskönyvi adatok szerint nem állnak rokonságban. Ezzel szemben az utóbbi időben megjelent cikkel egyre nagyobb hányadában gyűjtene mintát előzetes törzskönyvi vizsgálatok alapján, és vesznek mintát a törzskönyv alapján eltérő anyai alapítótól származó egyedektől .

24 táblázat: A témában megjelent cikkek megoszlása mintavételi eljárás szerint

random egyed	random pedigré	random founder
25	13	7

4.3. Saját vizsgálatok, anyag és módszer

4.3.1 Anyag

Vizsgálatomban főként a hortobágyi és bugaci magyar szürke szarvasmarha állományból származó mintákat vizsgáltam. Ennek oka az volt, hogy a palacknyak időszak túlélő hortobágyi teheneinek leszármazottai, túlnyomórészt az eredeti állományban és kisebb részt a Kiskunsági Nemzeti Park állományában voltak fellelhetők.

4.3.2 Tehéncsaládok a magyar szürke szarvasmarha-fajtában

Az anyából kiinduló és az anyákon keresztül követett leszármazási vonalak, utódok vagy féltestvérek csoportjai a családok. Jelentőségüket az adja, hogy mivel a nőivarban mindig kisebb lehetőség adódik a szelekcióra, a család a kiugró teljesítmények elérése helyett a fajtajelleg, 'a gének' őrzője: a családtagok teljesítményére általában kellő biztonsággal lehet számítani. Fontos tehát a fajtajelleget mutató anyaállatok megbecslése, párosításkor pedig a család jellegének megfelelő vonalból kell apaállatot választani, és sohasem fordítva (pl. bikához keresni tehenet) (Jávorka, 2007).

A tehéncsaládok földerítése, részletes leírása és a tenyésztésben való fölhasználásuk tehát nagyban elősegítheti a fajtajelleg megőrzését, közvetve pedig – amennyiben a tenyészcélnak megfelelő egyedeket találunk – az apavonalak használata révén a genetikai előrehaladást valamely kiszemelt tulajdonságban.

Az egyes tehéncsaládok földerítésére és a tenyésztőmunkában használható leírására a következő források álltak rendelkezésemre: a Magyar Szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesülete által őrzött eredeti törzskönyvek és tenyésztési naplók, valamint az egyesület számítógépes törzskönyvi adattára mint hivatalos okirat. Ezeket kiegészítették a Hortobágyi Állami Gazdaság volt főállattenyésztőjének, dr. Bodó Imrének, valamint az ohati kerület egykori vezetőjének, Borics Imrének a fajta történetét és helyzetét föltáró szóbeli közlései és közleményei [Bodó et al., 2002; Borics, 2006] s nem kevésbé Borics Imre kézzel rajzolt és

2002-ig vezetett tehéncsaládfái.

Ezek szerint a második világháborúig hazánkban még nem volt ritkaság a magyar szürke szarvasmarha: egyrészt kistenyésztők kezén, főként az ország keleti, észak-keleti részein, másrészt – ráadásul tejtermelésre tartva, ill. tenyésztve – néhány uradalomban, nagy-üzemben, pl. a Mezőhegyesi Ménesbirtokon. A háborús veszteségek a nagy létszámú és a legnagyobb tenyészértékű állományokat sújtották a legjobban: ezeket vagy a harcoló és megszálló hadseregek élelmezésére hurcolták el, vagy hadizsákmányként „elmenekítettek”. A ma létező állomány a háború után az 1960-as évek elejéig parasztgazdaságokban szétszórtan megmaradt – küllemüket és tenyészértéküket tekintve kevésbé értékes – tehenek utódaiból került ki. Németországból mindössze négy tehen került haza a háború után.

A háborút követő években a tejhiány leküzdésére az összeszedett, államilag fölvasárolt magyar szürke teheneket is föl kívánták használni. A tenyészcél a tejtermelés keresztezés útján történő javítása volt. A terv szerint megindult a maradék állomány átkeresztezése részint borzderes, de főleg kosztromai fajtával (utóbbi célból a Hosszúhátú Állami Gazdaságban gyűjtötték össze a föllelhető egyedeket 1958-tól). Ezek a politikai döntéseken alapuló tenyésztői elképzelések végül nem vezettek a kívánt célhoz, a magyar fajta létszámát azonban olyannyira lecsökkentették, hogy azt a kipusztulás veszélye fenyegette. A fajtatiszta tenyésztés tilalma miatt bekövetkezett a populációgenetikában palacknyaknak (angolul bottle neck) nevezett jelenség: a tehenlétszám ekkor mintegy 200-ra, a tenyész bikák száma mindössze 6-ra csökkent. Ezt az állományt eleinte a tilalom elszabotálásával mentették át a tenyésztők, de 1962-ben az Állami Gazdaságok Központja végül engedélyezte egy 200-as tehenállomány tiszta vérben való fenntartását. Bár ez a létszám a fajtafenntartáshoz túl kicsi, az előremutató döntés mégis megelőzte a korát, hiszen a következő ilyen határozat – a háziállatok megőrző védelmére – csak 10 évvel ezután született Nagy-Britanniában. Hazánkban ekkorra már csak három állami gazdaságban maradt fajtatiszta szürke marha, de a létszám lassan növekedni kezdett: 1963–64-re a Városföldi Állami Gazdaságban 50, a Középtiszai Állami Gazdaságban 80, a Hortobágyi Állami Gazdaságban pedig már 180 tehen volt.

4.3.3 A minta kijelölése

Munkámban célul tűztem ki, hogy az öröklésmentet figyelembe véve a legtöbb alapító tehéncsaládból származó mintát gyűjtsek össze.

4.3.3.1 Törzskönyvi adatok földolgozása

Munkámban a minta kijelölését a törzskönyvi adatok földolgozása előzte meg. A Magyar szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesületének elektronikus és papír alapú törzskönyvi adatbázisát és tenyésztési naplóit használtam. A törzskönyvi adatok feldolgozásakor figyelembe kellett vennem a nyilvántartási rendszer sajátosságait.

4.3.3.1.1 Nyilvántartási rendszer

A fajta tenyésztésének legnagyobb hagyománya Hortobágyon volt, de az akkori tenyésztés-politikai változások és a törzskönyvezési állapotok nem mindenben feleltek meg a valódi tenyésztőmunkának. Az 1950–60-as években pl. háromszor változtatták meg a tehének tenyészetszámait, ami önmagában is nagy veszélyt jelentett a lehetséges származásellenőrzésbeli tévedések miatt. Még szomorúbb volt a politikailag magabiztos, de az állattenyésztéshez kevésbé értő vezetők viszonya a fajtához és a vele kapcsolatos törzskönyvezési feladatokhoz, amelynek eredményeképpen az 1952 előtti tenyésztési naplókat és egyéb feljegyzéseket eltűzelték, s ettől csupán a nagyméretű törzskönyvek menekültek meg, mert nem fértek bele a kályhába. Az ezt követő időszakra (1954–61) esett azonban Anker Alfonz ottani tevékenysége, aki a Hortobágy-Máta üzemegység törzskönyvvezető törzstenyésztőjeként – populációgenetikai alapokon nyugvó egyéb kimagasló ló-, sertés-, juh- és baromfi-tenyésztői terveinek megvalósítása mellett – megalkotta a magyar szürke bikavonalak és tehéncsaládok azóta is fennálló rendszerét, tehát szerkezetet teremtett a fajtának. A rendszer olyan genealógiai vonalakon alapul, amelyekben a tenyészbikák neve mindig a vonalalapító nevének kezdőbetűjével kezdődik, a géntartalék-védelemben bevont állományok tehenei pedig mindig a családalapító nevét öröklik, ennek értelmében saját anyjukét, ami nagyban megkönnyíti a származások nyomon követését. (E szabálytól később néhány esetben eltértek, leginkább eladott tenyészállatok esetében.) Ekkor vezették be a borjak fülének tetoválását is a könnyen kieső fém füljelzők alkalmazása helyett.

A borjú tetovált fülszáma mindig az anya – tenyésztésbevitelkor újonnan kapott, tenyészetben belül 1-gyel kezdődő, emelkedő sorszámú – ellenőrzési száma, kiegészítve a születési év utolsó számjegyével és a tenyészet jelével. A borjú így nem kallódhat el, mert tenyésztésbeviteléig az anyja számán szerepel. E módszer kiválósága azon alapult, hogy az állatokat egyébként is jól ismerő gulyások közreműködésével a fülszám alapján nagy biztonsággal tudták kideríteni az esetleges „anyját veszett” borjú kilétét, ráadásul a gulyás maga is megjelölheti a született borjút, nem kell az adminisztrációra várnia. A rendszer jó működését az akkortájt bevezetett, s az Állatorvos-tudományi Egyetem Takarmányozási, majd

Állattenyésztési Tanszékén folyó vércsoportvizsgálatok átlagon jóval aluli hibaszázalékot mutató eredménye is bizonyította.

A hortobágyi tehének tenyészetszámainak negyedik átszámozására az 1975-ben lefolytatott TBC-mentesítéssel kapcsolatban következett be.

Az ötödik nyilvántartásbeli megújulás – az országosan egységes új számozási rendszert némileg megelőzve – a minden hazai szürkemarha-tenyésztésre kiterjedő származási adatok számítógépbe vitele volt. Az addigi papíralapon történő adatrögzítést felváltotta a Bodó Imre irányításával az Állatorvos-tudományi Egyetemen kidolgozott számítógépes módszer, melynek rendszergazdája Czétényi István volt. Az adatok forrásai kizárólag a megőrzött törzskönyvek és a megmaradt tenyésztési naplók voltak.

A nyilvántartási rendszer teljes – hatodik – átszervezésére az ún. egységes nyilvántartási és azonosítási rendszer (ENAR) országos bevezetésével 1994–95-ben került sor. A tenyésztők dolgát ekkor nagyban megnehezítették a minden jelentés nélküli, „nem beszédes” tízjegyű életszámok használatának kötelezővé tételével – az addigi jól bevált fűlszámok és tenyészetszámok helyett. Tekintettel arra, hogy az új életszámokat csak az újonnan megszületett borjak, ill. a határidőre bejelentett élő tenyészállatok kaphatták, a régi, már nem is élő tehének azonosítószámait (az összekeverés elkerülése érdekében eléjük írt nullákkal) kiegészítették tízjegyűre, hogy számítógéppel előállított származási lapok céljára egységesen kezelhetővé váljanak. E változás természetesen szintén a tenyésztőegyesülethez bejelentett összes tenyészállatot érintette.

A rendszer két egységet tartalmazott: a származási nyilvántartást, és a szaporulati nyilvántartást, amelyek alapján feldolgozó- és értékelőlistákat készítettek. Ehhez tenyészetenkénti egyedi azonosítót használtak, de ha egy állat új tenyészetbe került, akkor új azonosítót kapott.

Az ENAR bevezetésével korszerűbb törzskönyvezési rendszer vált szükségessé. A Limousin-tenyésztők Egyesületében akkor már működött egy húsmarha adatokat nyilvántartó és feldolgozó számítógépes rendszer, amelyet 2000-ben megvásárolt az egyesület, s ezt átültetve alakították ki a magyarszürke-tenyészetek mai, végső – a hortobágyi állományra nézve már a hetedik – törzskönyvezési és nyilvántartási rendszerét, amelynek készítője, fejlesztője és folyamatos karbantartója Völgyi-Csik József. A bevétel alapját az egyesület által kiadott tenyésztési naplók képezik. Az adatok elektromos és postai levél formájában is feldolgozásra kerülnek az alábbiak szerint (Völgyi-Csik J. szóbeli közlése). A rendszer fő elemei: származási adatok, szaporodási adatok, teljesítményadatok, választási és STV-adatok és küllemi bírálati adatok nyilvántartása. Főbb szolgáltatásai: egyedi teljesítménykimutatás,

származási lap 5 ősi sorral, állományszintű értékelések, létszám- és állományváltozási adatok éves és időszaki kimutatása, ivadékteljesítmény-vizsgálati kimutatás, sajátteljesítmény-vizsgálati kimutatás, különböző szintű értékelő és elemző táblázatok készítése.

4.3.3.1.2 A tehéncsaládok elkülönítése

A tehéncsaládokat egy egyszerű Microsoft-Access (v.11.0) adatbázis kezelő szoftverben lefuttatott anya-leány kapcsolatok keresésével és összefűzésével kerestem meg. A keresés eredményeképpen megkaptam az egyes alapító tehenektől származó nőivarú utódok leszármazási sorait nyilvántartási számok sorozataként. Ezt a nehezen értelmezhető adatsort azután yED 2.5(yWorks 2006) szoftverrel jelenítettem meg grafikusan. A yED hálózat elemző és ábrázoló szoftver az adott feladathoz csak egy „egyed azonosító”, „anya azonosító” mezőket tartalmazó rekordokból álló adatbázist igényelt. Azért volt szükséges a yED szoftver használata az ismert genealógiai szoftverek helyett, mert ez az alkalmazás bizonyult megfelelően robusztusnak a nagymennyiségű adat és az esetlegesen előforduló hibák tekintetében.



31. ábra: A magyar-szürke szarvasmarha törzskönyvben szereplő összes nőivarú egyed tehéncsaládonkénti ábrázolása.

A yED szoftverrel készített első ábrákon a tehéncsaládok nem különültek el egyértelműen, és néha eltérő alapítóktól származó tehenek is szerepeltek egy-egy felrajzolt tehéncsaládban. Ezt az ellentmondást egy tehéncsalád mitokondriális vizsgálatára lapozott munkában sikerült feloldanom (Maróti-Agóts és mtsai, 2008), amennyiben a nyilvántartási rendszer eddig teljes egészében ki nem javított hibája miatt azonos nyilvántartási számon 140 esetben több egyed is szerepelt. Ezt a hibát javaslatom alapján a tenyésztőegyesület kijavította.

Az elektronikus adatbázis javítása után jól elkülönülten felrajzolódtek az alapító tehéncsaládok családfái (31. ábra), így könnyen azonosíthatóvá váltak az élőállomány adott tehéncsaládba tartozó tagjai.

További lehetőség volt az elkülönítésre az, hogy hagyományosan, azonos tehéncsaládba tartozó tehenek azonos nevet kapnak, de ezt a lehetséges bizonytalanságok miatt csak a végső ellenőrzésnél használtam.

4.3.4 Mintavétel

A minták túlnyomó részét ($n_1=68$ db) az Egyesület és a MSZIH származásellenőrzési rendszeréhez történő vérvételi vizsgálatokhoz kapcsolódva azokban részt véve (2005-2006) vettem választási borjaktól, és soroltam a mintába a megerősítő eredményű származásellenőrzési vizsgálat után. A mintavétel során az összes sorra kerülő évjáratos borjúból vért vettem, majd limfocita szeparációt követően a DNS-ben gazdag fehérvérsejteket -20 fokon fagyasztva tároltam. A levett minták közül a családba sorolás után a DNS-t tisztítottam a felesleges ismétlések elkerülése érdekében.

A vérvételben sorra nem került, hiányzó tehéncsaládok mintáit a Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal származásellenőrzési laboratóriumának mintaarchívumából választottam ki ($n_2=27$ db).

Két típusba tartozó mintával dolgoztam. A Vacuteener vákumos EDTA-tartalmú vérvételi csövekbe vett teljes vérmintákból a vételt követő napon centrifugálással elkülönítettem a fehérvérsejteket majd a szérumot és a többi alakos elemet dekantálva, csak ezt a DNS-ben leggazdagabb frakciót tároltam fagyasztva. A Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal származásellenőrzési mintaarchívumából kapott minták teljes vért tartalmaztak EDTA-val alvadásban gátolva, ezeket is fagyasztva -20°C -on tároltam. Összesen 80 mintát vontam a vizsgálatba.

4.3.5 A minta reprezentációjára vonatkozó adatok

Vizsgálataimhoz az eredeti Hortobágyon túlélő állomány 270 tehéncsaládjának az előállományban még fellelhető 180 alapítónak tekinthető tehéncsalád közül 95-ből vettem mintát. Ezek közül a vizsgálatra véletlenszerűen 80 mintát jelöltem ki.

4.4. Módszer és saját vizsgálatok

4.4.1 Minta előkészítés, DNS tisztítás

A DNS tisztítást fagyasztva tárolt limfocita szeparátumból vagy teljes vérből végeztem felengedés után. Mintánként 200 µl mintát rázókeverést (vortexelés) követően pipettáztam steril, jelölt, 1,5 ml-es eppendorf csőbe. A DNS-tisztításhoz a Qiagen cég QIAamp DNS Mini kit használtam teljes vér protokoll szerint, amely teljes (genomiális és mitokondriális) DNS-tisztítást tesz lehetővé. A tisztított DNS koncentrációját agarózgél-elektroforézissel kvantálva, mintánként mintegy 30 µl, hozzávetőleg 0,1-0,5 µg/µl DNS-t tartalmazó mintát kaptam. A limfocita szeparátumból tisztított DNS koncentrációja minden esetben magasabb volt.

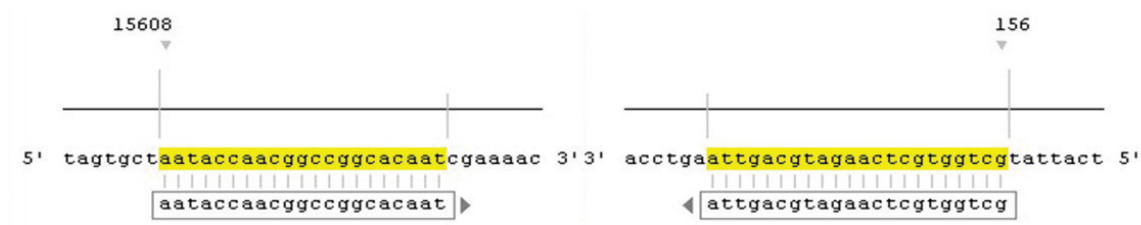
4.4.2 PCR-reakció

A reakcióhoz a D-hurok teljes hipervariábilis részét körülfogó primerpárt terveztem:

DLP01F 5'-AATACCAACGGCCGGCACAAT-3'

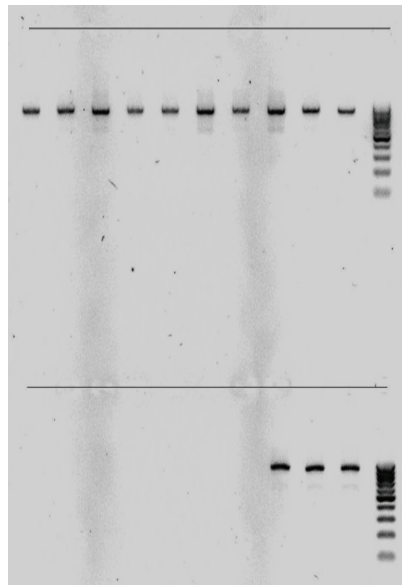
DLP01R 5'-GCTGGTGCTCAAGATGCAGTTA-3'

Ez a referencia-szekvencia [ANDERSON, 1982] citokrómB és a tRNS-Phe kódoló szakaszai közötti teljes szakaszáról, konzervatív szegélyező szekvencián tapadva 887 bp. hosszú terméket ad (32. ábra).



32. ábra: A DLP01F (balra) és a DLP01R (jobbra) helyzete a cirkuláris referenciaszekvencián

A PCR-terméket a reakció optimalizálását követően a következő feltételek mellett amplifikáltam a mintákról: 25 µl reakció-térfogatban 11,3 µl víz, 2,5 µl Taq Puffer, 2,5 µl dNTP mix, 2 µl primer mix (DL P01F 5pm/µl és DL P01R 5pm/µl), 4µl MgCl₂, Taq polimeráz 0,7 µl (Fermentas) (10U/µl), 2 µl templát. A reakció kezdő lépésében a minták 1 perc 45 másodpercig denaturálódnak, majd következik az amplifikáció 35 ciklusa. A ciklus első, denaturációs lépése 96°C-on 50 másodperc, az anelláció 55°C-on 50 másodperc, a ciklus befejező extenziós lépése 72°C-on 70 másodperc. A reakció végén a végső extenziós lépés 15 perc 72°C-on. Az amplifikáció sikerességét 2,5%-os agaróz gélen való elektroforetikus futtatással ellenőriztem. Az ethidium bromiddal festett DNS-szakaszok UV-fényben láthatóvá válnak, méretstandarddal való futtatás esetén méretük meghatározható.

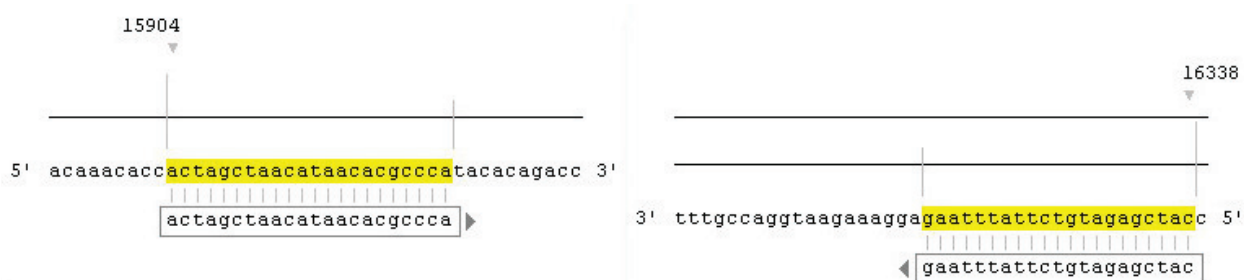


33. ábra: Tisztított, 887 bp. hosszú PCR-termékek és méretstandard az agarózgél elektroforézist követően (az indítási „zsebek” folytonos vonallal jelölve)

A PCR terméket a reakcióelegyben jelen lévő egyéb összetevőktől V-gene Cycle Pure Kit segítségével tisztítottam meg. A tisztítás után a termék koncentrációját agaróz gélben végzett elektroforézissel, standard felhasználásával – etidium bromiddal festve – UV fényben határoztam meg (33. kép). A szekvenálási reakcióhoz templátként hozzáadott PCR-termék szükséges térfogatát az egyes koncentrációk függvényében határoztam meg.

4.4.3 Szekvenca analízis

A szekvenálási reakciót belső szekvenáló primerekkel (SDIF 5'-ACTAGCTAACATAACACGCCA-3' SDIR 5'-CATCGAGATGTCTTATTTAAG-3' (34. ábra) végeztem, mert így a rövidebb szakasz nagyobb pontossággal szekvenálható, valamint a filogenetikai összehasonlításhoz használható GENE BANK-ból letöltött szekvenciák szinte kizárólag a mitokondriális D-loop 250 bp hosszúságú szakaszára vonatkoztak, így céljaimnak ráhagyással is megfelelt a 404 bázis hosszú belső szekvencia.



34. ábra: Belső szekvenáló primerek, DloopSeqF (balra) DloopSeqR (jobbra) helyzete a referencia szekvencián.

A szekvenálási reakciót az Applied Biosystems cég ABI BigDye 3.1-es szekvenáló kitéjével végeztem mindkét irányban a következő reakciókörmények között: reakcióelegy: 4µl MasterMix, 2µl 5x Sequencing Buffer, 1µl primer (3,2pM/µl), 7µl víz, 6µl PCR termék. A szekvenálás PCR programja a következő volt: 96 °C bevezető denaturáció 30 másodperc, majd 25 ciklus: 96 °C denaturáció 10 másodperc, 50 °C anelláció 5 másodperc, 60 °C extenzió 4 percig, a ciklusokat követően 4 °C-on tartás. A szekvenálási reakciót követően a termékeket CENTRISEP-oszlopon (Princeton Separations Co., USA Princeton) tisztítottam a reakcióelegy fölösleges nukleotidjaitól, enzimeitől és más összetevőitől.

A fluorescensen jelzett dideoxi-nukleotidok a reakcióelegyben eltérő hosszúságú termékeket eredményeznek, melyeket kapillár-elektroforetikusán szétválasztva, lézeres leolvasással azonosíthatókká váltak a lánczáró helyzetben lévő jelölt nukleotidok, így a szekvenencia meghatározható. A tanszék ABI310-es automata genetikai analizátorán a POP4-mátrixban 36 cm hosszú kapillárisban, 45 perces futási idő mellett futtattam a mintákat.

4.4.3.1 A szekvencia kiértékelése

Az adatokat az ABI-cég Genetic Analyser 3.0 szoftverjével dolgoztam fel, majd a nyers szekvenciákat a SeqScape programmal (Applied Biosystem) egyenként javítottam és illesztettem.

A vizsgálatba vont 80 minta mindegyikének sikerült megállapítanom a szekvenciáját, amelyek EU982211 - EU982290 elérési számok alatt az NCBI génbankba annotálva elérhetőek.

4.4.4 Populációstatisztikai és genetikai analízisek

A mintán megfigyelt polimorfizmusok populációgenetikai szempontból számos értékkel jellemezhetők, vizsgálatomban a lehetőségek közül főként a genetikai diverzitással, populációdinamikával és a filogenetikával kapcsolatos számításokat végeztem el.

4.4.4.1 Populáción belüli elemzések

Az eredmények statisztikai elemzése során a teljes szekvencia-analízis adatait teljes hosszúságban vettem figyelembe.

A mtDNS haplotípusok haplocsoportosítása: A populációs minták szekvencia-analízise során kapott mtDNS haplotípusok haplocsoportba való besorolása a D-loop szekvencia-motívumai alapján haplocsoport-specifikus vagy haplocsoporttal kapcsolt szekvencia polimorfizmusok szerint történt

Az *Arlequin ver.3.1* szoftver (Excoffier és mtai, 2005) felhasználásával a következő diverzitási paramétereket számítottam ki:

- **Polimorf nukleotidok** – a kontroll régióban az Alderson referencia szekvenciához viszonyítva megfigyelt összes polimorf nukleotid pozíció.
- **Tranzíció/Transzverzió** – a megfigyelt összes tranzíciós és transzverziós szubsztitúció.
- **Megfigyelt/Egyedi haplotípusok** – a populációban megfigyelt összes eltérő haplotípus, továbbá hogy ebből hány fordul elő egyszer.
- **Genetikai diverzitás** (vagy géndiverzitás) – annak az átlagos esélye, hogy két haplotípust véletlenszerűen kiválasztva a mintából azok különbözőek. Kiszámítása ekvivalens a diploid adatok várt heterozigotizálásával, és annak haploid megfelelője:

$$H = n(1 - \sum x_i^2) / (n-1)$$

ahol x_i az i -edik haplotípus megfigyelt gyakorisága, n a mintaszám.

A haplotípusokból párokat képezve az összes lehetséges haplotípuspár között megfigyelt eltérések száma a populáción belül kiszámítható ezt az Arlequin valamint a DNAsp szoftverek segítségével végeztem el. A kapott adatokból a populáció diverzitására jellemző ún. „különbözőségi eloszlásgörbe” (*mismatch distribution*) generálható, amelyben az *i*-edik oszlop megmutatja azon szekvencia-párok számát, amelyek *i* számú nukleotid pozícióban különböznek egymástól. Humán populációkban a folyamatos demográfiai expanzió miatt általában unimodális eloszlásgörbe figyelhető meg, demográfiai egyensúlyban lévő populációkra általában a multimodális eloszlás jellemző (Rogers és Harpending, 1992). Ennek átlag értéke (*mean pairwise difference*) a populációra jellemző jelzőszám.

4.4.4.2 Filogenetikai elemzések

A filogenetikai elemzések során a rendelkezésre álló mintát a GENE BANK-ból gyűjtött egyéb mintákkal hasonlítottam össze. Ez az adatbázisból bioinformatikai eszközökkel történő adatgyűjtés tulajdonképpen egy új mintaképzésként is értelmezhető, ezért szükséges a szempontok tisztázása.

Az irodalmi feldolgozás során említett mintavételi eljárások nagyban meghatározták a minták reprezentációját és jól jellemezték a mintavétel kivitelezésének háttérét. Ezért tűztem azt ki elsődleges szempontként azt, hogy a vizsgálatba vont szekvenciák lehetőség szerint a megfelelő háttérű törzskönyvi adatokkal rendelkezzenek. A másik szempontom volt a cikkek idézettsége, azaz a gyakran idézett cikkek feltöltött anyagait hozzáfűztem a mintához.

Gyakorlati szempontból, a szekvencia pozíciója és hossza is meghatározó volt. Szükséges volt a vizsgált szakasz lerövidítése egy 240 bp-hosszúságú szakaszra mivel két nagyságrenddel több minta bevonása vált így lehetővé. Annak az okát keresve, hogy a GEN BANK-ban miért ez a szakasz szerepel leggyakrabban valószínűsíthetjük, hogy a témában legfontosabb cikknek számító Troy (2001) erre a szakaszra alapozva alakította ki a leggyakrabban hivatkozott haplocsoportok rendszerét.

Genetikai távolságbecslés

A szarvasmarhafajták megkülönböztethetősége és az alapján a filogenetikai távolságok becslése is a populációk egymástól számított genetikai távolságán alapul. Ehhez szükséges volt eltérő csoportosításokban összehasonlításra alkalmas minták létrehozására. A GEN BANK minden szekvenciához tartalmaz egy annotációt, azaz szekvencia feltöltőjére, a publikációra a minta forrására és a genetikai kódra vonatkozó információs blokkot. Ebben az

információs blokkban legtöbbször a fajtát is jelölik a tenyésztett állattól származó minta esetén, ami sokszor hiányzik. A minták összeállításánál a legrészletesebb leírással rendelkező, már publikált munkához kötődő szekvenciákat használtam.

Az első összehasonlítást podóliai fajták szekvenciáival végeztem: 15 Romagnola, 49 Chianina, 15 Maremman, 3 görög szürke minta felhasználásával. A második összehasonlításban a podóliai szekvenciákat egy csoportba olvasztottam, 40 archaikus, majd 420 európai fajtákból, európai állományokból származó, 82 afrikai, 376 ázsiai, 123 közel keleti mintát illesztettem az alap mintához.

4.5. Eredmények

4.5.1 Haplotípus gyakoriságok és diverzitási mérőszámok a vizsgált mintában

A mintaképzés sajátossága miatt a következő számítások, amelyek bár vonatkoznak a jelen élő állományra is, mégis az alapító állományból történt random mintavételként az abban meglévő paramétereket modellezzük. Az élő állományból történt random mintavétel valószínűsíthetően kevésbé sokszínű képet mutatott volna. A minta elemszámának növelésével szükségszerűen a haplotípusok száma azonos, míg a haplotípus gyakoriság és diverzitási mérőszámok a tehéncsaládok létszámával súlyozott értékekkel jelentek volna meg.

A vizsgált mintába 404 bp hosszú D-loop szakaszán 40 polimorf pont volt megfigyelhető 34 tranzícióval és 7 transzverzióval. A mintával kapcsolatos összes mérőszám a 25. táblázatban található.

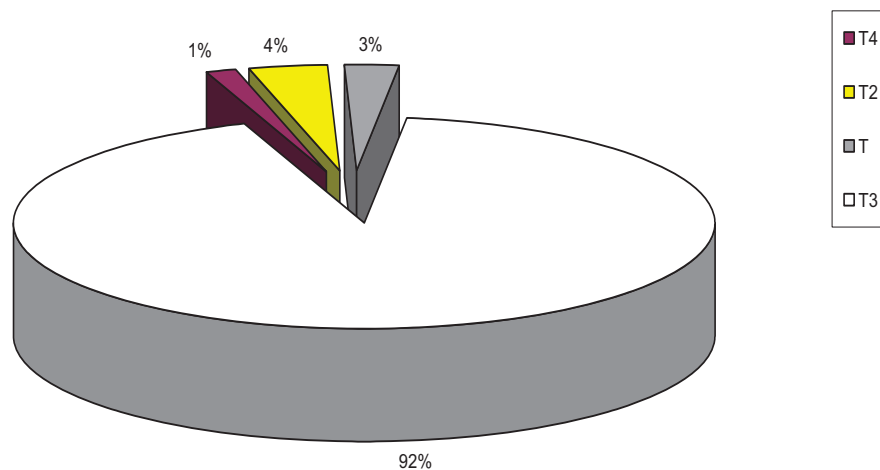
25 táblázat: A vizsgálati minta mitokondriális DNS szekvenciáinak statisztikai alapadatai

variábilis pozíciók száma:	40
összes mutáció száma:	41
G+C nukleotidok aránya (401 sites):	0,389
Haplotípusok száma, h:	37
Haplotípus diverzitás értéke, Hd:	0,854
A haplotípus diverzitás varianciája:	0,00138
A haplotípus diverzitás standard hibája :	0,037
Nukleotid diverzitás (pozíciónkénti), Pi:	0,00621
a nukleotid diverzitás szórása a mintában:	0,0000004
a nukleotid diverzitás standard szórása a mintában:	0,00063
A nukleotid különbségek átlagos száma a mintában, k:	2,49074

A haplotípusok felsorolása, előfordulása és a gyakorisági értékek a 26. táblázatban találhatóak.

26. táblázat: A vizsgált magyar szürke tehéncsaládok mt haplotípusainak csoportosítása Loftus rendszere alapján. A polimorf helyek pozícióját a referencia szekvencia pozíciója alapján jelöltem

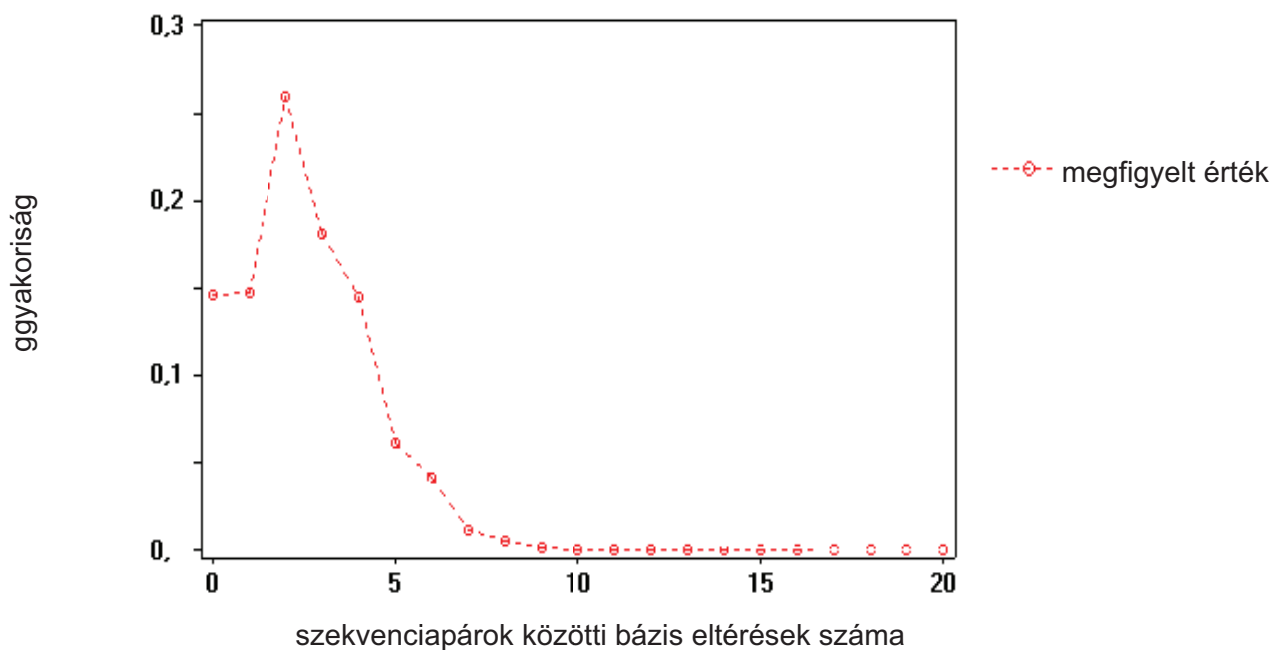
	1	1	1	1	1	1		n=80
	6	6	6	6	6	6		
	0	0	0	1	1	2		
	5	5	9	1	8	5		
	0	7	3	3	5	5		
Anderson referencia szekvencia								
P								0
T1	T			C		C		0
T4			A				1 Cseles75935	1
T2		C			A	C	2 Legyes79771 Rojtos81459	3
T3 között T2		C				C	1 Banat89156	
T						C	2 Dóra81540 Legyes67535	2
T3	C	G	G	T	G	T	69 tehéncsalád	74
T3_v1		A					2 Kancsi 59508 Nyalka 81408	
T3_v2					A		1 Rózsa 359	
T3_v3		C					1 Bánat 60212	
T3_v4				C			1 Gombos 81387	



34.ábra: Haplocsoportok százalékos gyakorisága a vizsgált magyarszürke tehéncsaládokban

A régészeti minták vizsgálatba való bevonásával kibővítve, az összehasonlítást a 24-es haplotípusba tartozó Kánya és Vöcsök családok a modern T haplocsoportok és az ásatag csontok feltételezhetően őstulok haplocsoportja közötti átmenetet képviselték. A BLAST keresőprogram a 24-es magyarszürke haplotípussal megegyező szekvenciákat kínai szarvasmarhafajták mitokondriális szekvenciái között talált.

A DNS szekvenciák páronkénti összehasonlítását is elvégeztem a vizsgált mintán. Ebben a vizsgálatban a speciálisan kiválasztott minta nem módosítja az eredményt, hiszen kizárólag a megfigyelt haplotípusok szerepelnek a számításban a gyakorisági értékek nem. A szekvencia-párok közötti báziseltérések számának eloszlásgörbéje erősen féloldalas unimodális hisztogramként normál eloszlású görbeként volt felrajzolható, amely 2 bázispáros eltérésnél érte el a maximumát (35. ábra). A mitokondriális DNS populációban megfigyelt haplotípus-párjainak eltérése Rogers és Harpending (1992) szerint jellemzi a populáció dinamikáját. A gyakoriság értékek ábrázolásával kapott görbe stabil populációkban sokcsúcsú multimoduláris, míg a növekvő populációkban unimoduláris haranggörbe. A jelen esetben is jellemzően aszimmetrikus normál eloszlású görbe a palacknyak effektus utáni állapotr utal.



35. ábra: A vizsgált magyar szürke minta különbözőségi eloszlásgörbéje (*mismatch distribution*)

A fenti eredményt részben alátámasztja a Tajima-teszt eredménye. Fontos megemlíteni, hogy a Tajima-teszt véletlenszerűen vett mintákon értelmezhető, tehát a mintaképzés sajátossága alapján a palacknyak effektus idejében létező populációból vett random minta értékelésére használtam. A Tajima-teszt hasonlóan a szekvencia eltérés eloszlás módszeréhez a populáció dinamikájával kapcsolatban szolgáltat adatokat. A teszt eredménye Tajima's D: -2,23923 volt $P < 0.01$ szignifikancia szint mellett. Ez egyértelműen utal a populáció létszámának múltbéli drasztikus csökkenésére, így megerősíti a mismatch distribution teszt eredményét.

4.5.2 Összehasonlítás más fajtákkal

A fajták közötti összehasonlítás alapját az illesztett és azonos hosszúságúra vágott szekvenciák adták, azaz haplocsoportosítás nélkül, a felhasználható összes polimorf pozíció számbavételével. A minták varianciájának vizsgálatokor a 27. táblázatban foglaltak szerint meghatározható a teljes variancia populáción belüli és populációk közötti varianciára visszavezethető része

27. táblázat: A minta teljes varianciájának forása a fajtákon belüli és a fajták közötti varianciák között

Variancia forrása	sz.f.	Négyzetösszeg	Variancia elemek	Variancia %
Populációk között	3	3,339	0,01624 Va	3,69
Populációkon belül	152	63,257	0,41616 Vb	96,31
Összesen	155	67,185	0,44009	

Ezt követően páronként számítható a genetikai távolság a podóliai fajták között, amelyhez minden esetben kiszámolható a szignifikancia szint is. A X táblázat értékei alapján megállapítható, hogy a magyarszürke fajta a GENBANK-ban fellelhető szekvenciák alapján legközelebb a romagnola legtávolabb a görög szürke fajtához áll. Meglepő adat, hogy a küllemében szinte megegyező maremman fajta csak a második legközelebb álló podóliai fajta. Szintén egyértelmű a táblázat alapján, hogy a podóliai fajták közé számító görög szürke mind a magyar mind az olasz fajtáktól jól elkülönül.

28. táblázat: A podóliai fajták egymástól számított genetikai távolsága (átló feletti értékek) és az ezekhez tartozó p értékek (átló alatti értékek)

	romagnola	chinanina	maremmana	magyar szürke	görög szürke
romagnola	0	0,07107	0,09262	0,00087	0,80736
chinanina	0,00000	0	0,02388	0,10002	0,30916
maremmana	0,00000	0,21622	0	0,08913	0,48699
magyar szürke	0,40541	0,00000	0,00000	0	0,65053
görög szürke	0,00000	0,05405	0,01802	0,00901	0

A következő lépésben a podóliai fajtacsoport, európai, közel-keleti, afrikai, ázsiai szarvasmarhafajták és régészeti minták mtDNS szekvenciáját hasonlítottam össze a magyar szürkével. Fontos azt megjegyezni, hogy az európai mintában a podóliai fajtákat nem szerepeltettem, hanem külön csoportot képeztem. A variancia forrását vizsgálva ebben az összehasonlításban a csoportok közötti variancia 7,7% volt, amely utal a csoportok előzőhöz képest jobb elkülöníthetőségére (29. táblázat)

29. táblázat: A minta teljes varianciájának forása a fajtákon belüli és a fajták közötti varianciák között Bos taurus szarvasmarhafajtákkal történt összehasonlításban

Variancia forrása	sz.f.	Négyzetösszeg	Variancia elemek	Variancia %
Populációk között	5	35,598	0,03726 Va	7.71
Populációkon belül	1191	529,344	0,44609 Vc	92,29
Összesen	1197	564,942	0,48336	100

A csoportok közötti páronként számított genetikai különbségeket vizsgálva az európai fajták csoportja áll a legközelebb, majd a podóliai és a közel-keleti fajták következnek, A Közel Keleti fajták után a régészeti csontleletekből nyert szekvenciák csoportja következik majd az ázsiai és az afrikai fajták.

A 30. táblázatban foglaltak alapján a régészeti minták reprezentálta európai őstulkot nem tekinthetjük a magyar szürke szarvasmarha mitokondriális ősének, hiszen közelebb áll a közel-keleti fajtákhoz, amelyek a keleten házasított fajtákhoz, amelyek az irodalom szerint egy az európai őstuloktól különböző őstulok ősétől származnak.

Érdekes azt megfigyelni, hogy az egyszerű frekventista megközelítés miatt, amelyben a haplocsoportok szétválását jelző pozíciók (ez adja a haplocsoportosítás alapját) nem különböznek meg, a csoportok egymáshoz viszonyított pozíciója megváltozik az őstulok ős idejében történt szétválás az ázsiai és az afrikai fajták csoportjától.

30. táblázat: A magyar szürke és kontinensenként csoportosított bos taurus fajták egymástól számított genetikai távolsága (átló feletti értékek) és az ezekhez tartozó p értékek (átló alatti értékek) (msz: magyar szürke, podóliai: romagnola, chinanina, maremmana, eu: európai fajták, archa: régészeti minták, K-kelet: közel-keleti fajták, afrika: afrikai fajták, ázsia: ázsiai fajták)

	msz	podoliai	eu	archa	k-kelet	afrika	ázsia
msz	0	0,05229	0,01450	0,11308	0,06995	0,55987	0,13777
podolia	0,00000	0	0,01611	0,09911	0,01682	0,37888	0,12233
eu	0,00198	0,00198	0	0,20873	0,04673	0,42557	0,16660
archa	0,00000	0,00000	0,00000	0	0,11734	0,24550	0,15740
k-kelet	0,00000	0,00430	0,00000	0,00000	0	0,32629	0,11641
afrika	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0	0,21259
ázsia	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0

4.5.3 Összehasonlítás régészeti mintákkal

A fenti táblázat alapján megállapíthatjuk, hogy a magyar szürke minták távolsága a régészeti mintáktól nagyobb, mint az európai és a közel keleti mintáktól. Ez a tény megerősíti azt az archeozoológiai feltételezést, hogy az Európában az 1600-as években kihalt őstulok (*Bos primigenius primigenius*) nem tekinthető a mai szarvasmarhafajták őskének. A régészeti minták morfometriai és kormeghatározási vizsgálat után kerültek molekuláris vizsgálatra, az ie. 5000 és 5500 közötti újkőkori minták mindegyike, míg az ie. 2500-ból a kora bronzkorból származó minták egyikét kivéve, az őstulok mitokondriális hapotípusát (P) hordozta. Ez a kivételt jelentő Albertfalván előkerült töredékes csontlelet (ALB3) viszont a *Bos taurus* (T3) haplotcsoportjába tartozott, amely felveti annak a lehetőségét, hogy a kihalt vadon élő őstulok és a valamilyen mértékben házasított Közel-Keleten domesztikált *Bos taurus* ebben az időben egyaránt megtalálható volt a Kárpát medencében. Érdekes egybeesés, bár filogenetikai szempontból –az előzőeknek megfelelően – elhanyagolhatónak tekinthető az, hogy az albertfalvai hármasminta és számos magyar szürke tehéncsalád haplotípusa megegyezik.

További régészeti minták vizsgálatba való bevonásával kibővítve az összehasonlítást a 24-es haplotípusba tartozó Kánya és Vöcsök családok a modern T haplotcsoportok és az ásatag csontok feltételezhetően őstulok haplotcsoportja közötti átmenetet képviselték. A BLAST keresőprogram a 24-es magyarszürke haplotcsoporttal megegyező szekvenciákat kínai szarvasmarhafajták mitokondriális szekvenciái között talált.

4.6. Következtetések

Eredményeim alapján a magyar szürke szarvasmarhafajta mitokondriális szinten tapasztalható diverzitása, amely közvetlenül vonatkoztatható a palacknyak-időszak állományára, az irodalmi adatok alapján átlagosnak, azaz elegendően változatosnak tekinthető. Más fajtákkal való összehasonlítás eredményeképpen a diverzitási paraméterek hasonlóan bizonyultak, tehát a fajta sokszínűsége nem tér el egyéb európai fajtákétól.

Ezek alapján a 60-as évek túlélő tehénállománya sok, eltérő mitokondriális haplotípusba sorolható egykori alapítót képviselt. Azonban felmerülhet a kérdés, hogy milyen gyakorlati következményt, hatást tulajdoníthatunk ennek az értéknek? A génmegőrzés szempontjából a hagyományos állattenyésztői válasz a tehéncsaládok fenntartásának szükségessége lehet, bár a D-hurok szekvenciális eltéréseiből élettani-, termelésbeli vagy fenotípusos különbségek nem várhatóak.

A haplotípusok statisztikai elemzése alapján a palacknyak-időszak élőállományában is kimutatható volt a nagymértékű létszámcsökkenés mitokondriális szintű jele. Valószínűsíthetően a fajtaváltás, majd a két világháború súlyos nyomait viselte már akkor is a fajta. Ugyanakkor figyelembe kell vennünk azt a tényt is, hogy a szarvasmarha faj folyamatos expanzióban van, ezért ritkán található a hasonló paraméterek alapján stabil populációra utaló értékeket mutató fajta.

A populációk közötti genetikai távolságot először a podóliai fajtacsoporton belül vizsgálva jutottam arra az eredményre, hogy a magyar szürke a podóliai fajtacsoport GENBANK-ban található mintái közül leginkább a romagnola, legkevésbé a görög szürke fajtára hasonlít.

Az összes felelhető, megfelelően annotált szarvasmarhafajta mtDNS szekvenciával történő összehasonlítás alapján legtávolabb az afrikai, majd az ázsiai fajtáktól van. Az őstulok szekvenciáktól számított genetikai távolsága a felvázolt legújabb elméletnek megfelelően nagyobb, mint a legközelebb álló európai, majd podóliai, és a Közel-keleti fajtákétól számított. Az utóbbi tény arra utal, hogy egy másik közel keleti őst lehetett az európai fajták domesztikációs őse és nem a kihalt európai őstulok.

Az olasz podóliai fajták, átlagos európai genetikai távolságnál kisebb távolsága a közel-keleti fajtáktól, valószínűleg összefüggésbe hozható a közeli szigetek közvetítésével létrejöhett folyamatos keleti beáramlással.

Végül a lehetőségek számbavételével a magyar szürke szarvasmarha eredetével kapcsolatban az adatok legvalószínűbben egy a Neolitikum végén érkező, házasított, keleti

eredetű kárpát medencei állománytól való mitokondriális származásra utalnak, azaz a Matolcsy és Bartosiewicz közleményeiben leírt elméletet támasztják alá. Ez az állomány fenotípusában az archeozoológiai adatok alapján eltért a „modern” nagyszarvú fajtától. A fenotípus változásának lehetséges idejét egy az időben visszafelé kis lépésekkel haladó, a történeti korokat folyamatos lépésekkel lefedő archeozoológiai leletekre alapozott vizsgálat pontosíthatná. A tény, hogy a szarvméretre való szelekció viszonylag egyszerű és ennek öröklődhetősége magas valószínűsíti azt a lehetőséget, hogy viszonylag rövid idő alatt jelent meg a hosszú szarv. A hosszú szarv jelentősége, mint áruvédjegy letagadhatatlan, hiszen például a mai napig áll Nürnbergben a magyar ökör szobra is, amelyet még fekvő helyzetében is messziről felismerhetünk a jellegzetes szarváról (35. ábra).

A magyar szürke szarvasmarha a többi, európai szarvasmarhafajtával történő összevetésben mitokondriális vonatkozásban, nem tekinthető unikális fajtának.



35. ábra: A nürnbergi Fleischbrücke hídfőjén álló kapu feletti magyarszürke ökör szobra
(a latin felirat nyers fordítása: Mindeneknek van kezdete és növekedése,
de lásd, ez az ökör sohasem volt borjú)
(foto: Koncz Gábor)

4.7. Összefoglalás

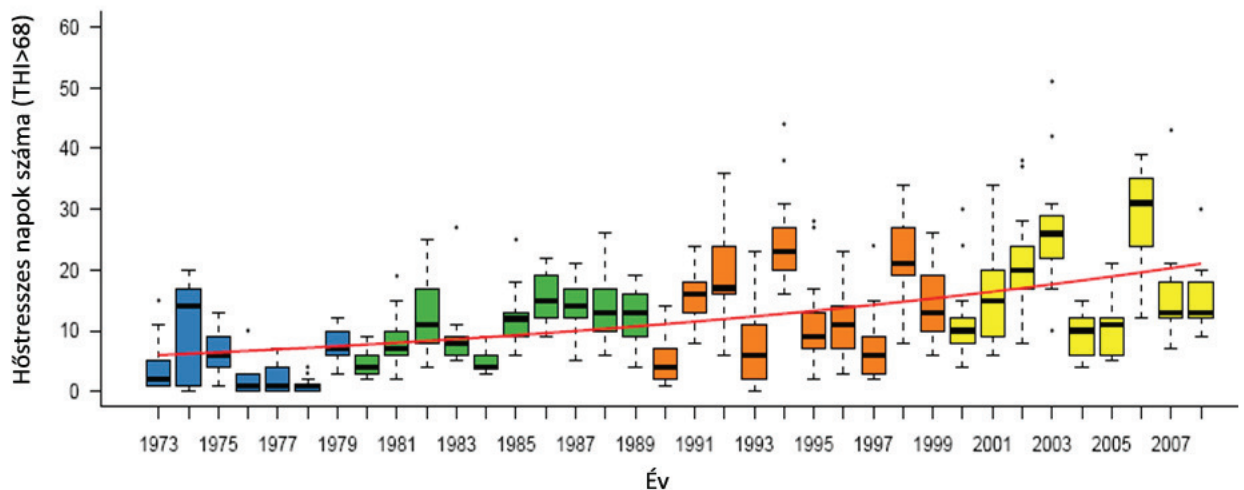
Az őshonos magyar-szürke szarvasmarha eredetével kapcsolatban sok eltérő hipotézis létezik. A kérdés lehetséges tisztázása érdekében a mitokondriális DNS hiperveriábilis részét a D-hurok szekvenciáit vizsgáltuk meg. A minta kiválasztásakor a törzskönyvi adatok felhasználásával a tehéncsaládokat szétválasztottuk alapítók (founderek) szerint, majd az eltérő mitokondriális vonalakkól véletlenszerűen vettünk mintát (n=80). A kapott szekvenciák értékelésével első lépésben megállapítottuk az 1960-as években a kihálás szélére jutott fajta, diverzitási paramétereit (Hd: 0,854), amelyek megegyeztek az átlagos európai fajtákban tapasztalt hasonló értékkel, és nem jelezték a palacknyak effektus hatását. A szekvenciák filogenetikai értékelését követően arra a megállapításra jutottunk, hogy mivel a fajta az európai fajtákra jellemző haplocsoport összetételét mutatja nem tekinthetjük azoktól lényegesen különbözőnek. A mégis meglévő keleti eredetre utaló adatok valószínűsíthetően a modern európai szarvasmarha, Európába keletről a bronzkort követően már domesztikált formában érkező ősenek genetikai jellegzetességeit hordozzák.

Megvizsgálva a podóliai fajtakörbe tartozó egyedek GenBank-ban elérhető hasonló szekvenciáit a legnagyobb hasonlóságot a romagnola fajtával találtuk, míg a kontinensenként csoportosított szarvasmarhafajták közül legtávolabb az afrikai és az ázsiai mintáktól állt, az európai fajtáktól való távolság összehasonlításban elenyésző volta szintén megerősíti közös európai ősből történt helyi kitenyésztés teóriáját.

5. A HSP 70.2 hőszokkfehérje promóter régiójának vizsgálata a magyar szürke szarvasmarha-fajtában.

5.1. Bevezetés

A globális klímaváltozás a közeljövő állattenyésztésének egyik legnagyobb kihívása. Az elmúlt évtizedek meteorológiai adatainak elemzése (36. ábra) és a hosszútávú klímamodellek hazánkra vonatkozó adataiból kitűnik, hogy az elkövetkező évtizedekben a jelenlegi alacsony hőtűrésű fajtákkal csak komoly kockázatok mellett lehet termelni.



36. ábra: Hőstresszes napok (szarvasmarha esetén $THI > 68$) évenkénti száma 1973 és 2008 között. (SOLYMOSI 2008)

A tartástechnológiai átalakítások mellett a hőtűrő fajták bevezetése az alkalmazkodás legkézenfekvőbb formája.

A hőstresszhez való alkalmazkodás különböző szintű folyamatai sokat kutatott területe az élettannak. A sejt szintű alkalmazkodásban fontos szerepet játszanak a hőszokk-fehérjék (Heat Shock Protein, HSP), amelyeknek sok eltérő feladatot ellátó csoportja, alcsoportja van. A HSP 70.2 fehérje szintézisét a hőstresszt jelentő környezeti körülmények (hőmérséklet – páratartalom index, $THI > 68$) megsokszorozzák. Szarvasmarhában a HSP70.2 fehérjét kódoló génszakaszról történő mRNS átíródást szabályozó promóter régió polimorfizmust, változatosságot mutat. A mutáns allél jelenlétekor kevesebb, míg vad allél hatására szignifi-

kánsan több mRNS képződik. Ennek hatása a képződő fehérje mennyiségére pozitív korrelációt mutat, így feltételezhető, hogy a vad típusú allél gyorsabb és hatékonyabb alkalmazkodást eredményezhet a hőstresszes időszakokban. A fentieket alátámasztó irodalmi adatok a húshasznú szarvasmarhá esetében a vad típusú allélnak tulajdoníthatóan nagyobb választási súlyokat figyeltek meg és a tejparaméterek változására gyakorolt kedvező hatását is leírták (STARKEY 2007, BANKS 2007).

Jelen kutatásban célul tűztük ki, hogy megállapítsuk a HSP 70.2 hősokkfehérje promóter régiójának működését befolyásoló irodalmi adatok alapján polimorfizmust mutató szakaszán előforduló allélok gyakoriságát reprezentatív minta alapján a magyar szürke szarvasmarhában. A további vizsgálatok irányának kijelölése érdekében a norvég vörös szarvasmarha-fajta egy kisebb mintáját is genotipizáltuk.

5.2. Irodalmi áttekintés

5.2.1 Hőstressz, termelési tulajdonságok, élettan, adaptáció, genetika

A hőstressz a szarvasmarhában is a szervezet számos élettani, termelési és szaporodásbiológiai működését befolyásolja károsan.

A gazdasági haszonállatok esetében a klimatikus környezet hatását a szervezetre nem csupán a hőmérséklet függvényében, hanem a hőmérséklet, a páratartalom és napi hőingás értékeiből képzett Temperature Humidity Index-el (THI) fejezhetjük ki. Eddigi kutatásainkban a THI számításának lehetséges függvényei (BIANCA 1962, RAVAGNOLO 2000, HUHNKE 2001) közül a Bohmanova (2007) által is legmegfelelőbbnek tartott formulát választottuk

$$THI = (1.8 \times T_{\text{átlag}} + 32) - (0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times T_{\text{átlag}} - 26)$$

$$\text{ahol: } RH = 100 \times (VP / Es)$$

$$\text{és } Es = 6.107 \exp \left[\frac{(17.38 \times T_{\text{átlag}})}{(239 + T_{\text{átlag}})} \right] \{ \text{ha } T_w > 0 \}$$

$$Es = 6.107 \exp \left[\frac{(22.44 \times T_{\text{átlag}})}{(272.4 + T_{\text{átlag}})} \right] \{ \text{ha } T_w < 0 \}$$

$$T_w = [(3 \times T_d) + (2 \times T_{\text{átlag}})] / 5$$

$$T_d = T_{\text{min}} \text{ és } T_{\text{min}} = T_{\text{átlag}} - (DTR / 2)$$

(RH=relatív páratartalom, T_w = szárazhőmérséklet, T_d = harmatpont, VP=párányomás)

A szarvasmarha hőstresszre adott élettani reakciói alapján már stresszornak tekinthetőek a 72 THI fölötti értékek (IGONO 1990, IGONO 1992, BOURAOUI 2002). Ezzel kapcsolatos ko-

rábbi vizsgálataink alapján a $THI > 68$ értékek esetében a tejtermelés csökkenésén keresztül már észlelhető jelei vannak a hőstressz hatásának (REICZIEGEL 2009) Az átlagértékek alapján is hőstressz-hónapoknak tekinthető időszakok megjelenését tekintve hazánk heterogén képet mutat, de a legpesszimistább scenáriók alapján 2011 után területének csaknem 60%-át érintheti ez a változás (SOLYMOSI 2007).

Azonos mértékű hőstressz következményeinek súlyossága elsősorban a genotípus függvénye (RAVAGNOLO 2000). A forró égövön tenyésztett szarvasmarhafajták (*Bos taurus* típusúak: n'dama, senepol, romosinuano, carora; *Bos indicus* típusúak: a zebuvérű fajták) leg többje olyan képességekkel rendelkezik, ami lehetővé teszi számukra mind a testhőmérséklet szabályozását, mind a termelés és a szaporodás zavartalan fenntartását hőstresszben (HANSEN 2004). Ugyanakkor a termotoleráns marhafajtákat a tej- és a hústermelési teljesítményekre nem szelektálták olyan mértékben, mint az európai és az észak-amerikai specializált fajtákat. Ezért a trópusi, szubtrópusi fajtákkal végzett keresztezések javítják ugyan az utódok hőtűrő képességét, de sokszor rontják a termelési mutatókat. A forró égövhöz alkalmazkodott fajták emellett legtöbbször számos nem kívánatos, jól öröklődő tulajdonsággal (rossz vérmérséklet, késői tenyészérés, gyenge húsminőség és rövidebb laktáció) is rendelkeznek (GAUGHAN 1999, SEIF 1979, HAMMOND 1996, KOSGEY 2005).

Az európai (*Bos taurus*) és a zebutípusú (*Bos indicus*) szarvasmarhafajták több tízezer éves evolúciója során olyan génállomány (poligén) fixálódott, amely alapján azok eltérően reagálnak a környezeti-klimatikus eredetű hőstresszre (FINCH 1986, MALAYER 1990). A két alaptípus hőtűrő képessége élettani és sejtszinten egyaránt eltérő génműködésekön nyugszik. Az emelkedő környezeti hőmérséklet a zebu típusú fajtákban kevésbé fejt ki sejtszintű károsodásokat. A testhőmérséklet szabályozása hőstresszben többféle élettani működésnek köszönhető. A szervezet szintjén: az alacsonyabb/magasabb anyagcsereszint szabályozása és a hőtermelés csökkentése; a hő leadásának növelése (főleg jól fejlett verejtékmirigyek segítségével); a bőr különleges felépítése és erezettsége (arteriovenózus anasztomózisok sűrűsége); a testből kifelé irányuló hőáramlás szabályozása; a szőrzet típusa függvényében a vezetékes és a légáramlásos hőleadás elősegítése, valamint a nap-sugárzás abszorpciójának csökkentése („slick hair” = sima, fényes szőrzetért felelős gén) (HANSEN 2004, OLSON 2003, MARIASEGARAM 2007).

Evolúciós szempontból fontosak a sejtszintű hőstressz adaptáció mechanizmusával összefüggő genetikai adaptáció (hőtűrő génkészlet evolúciós fixálódása) és a szervezet hőtűrését szabályozó mutációk (specifikus génműködések, génexpressziós különbségek, mRNS eltér-

rések etc.).

A fenti tényezők közül, a legújabb vizsgálatok, különösen a HSP70-es gén és terméke (LACETERA, 2006), valamint expressziós eltéréseinek (KRISTENSEN, 2004), ill. a „slick hair” gén (OLSON, 2003) lehetséges szerepét vetették fel a szervezeti és a sejtszintű termotolerancia szabályozásában és a hőstresszben. A jó hőtűrőképesség molekuláris genetikai alapjai azonban mind a mai napig nem teljesen ismertek szarvasmarhában.

5.2.2 Hősokfehérjék, HSP70.2

Az állati szervezet sejtszintű védekezési mechanizmusa hőstressz esetén a sokk fehérjék, köztük is leginkább a HSP-k eltérő csoportjainak (HSP 70, HSP 90 stb) szintézisének fokozatos de gyors és kifejezett növelésével reagál. (SCHWERIN, 2002). A hősokk-fehérjék csoportjában nagyobb hatású és kevésbé jelentős molekulákat is találhatunk. A HSP 70 fehérje központi szerepet játszik a sejt membrán transzport folyamatainak fenntartásában, amennyiben a polipeptidek méretének csökkentéséért a polimerizációért és a membrántranszport folyamataiért felelős a hőstressz állapotában (CRAIG, 1991; DENAGEL, 1993; ELLIS, 1987; ELLIS, 1989; GETHING, 1992; HIGHTOWER, 1991; LINDQUIST, 1988). A gén expressziója főként az átírás szintjén szabályozott (TANGUAY 1988; TSUKIYAMA 1994). A képződő fehérje mennyisége -bár magas energiatartalma miatt bizonyos szempontból problémát is jelenthet a szervezetnek- egyenesen arányos a protektív hatással. A HSP70 fehérje szerepe igen sokrétű, vizsgálatunk kizárólag a hőtűrést sejt szinten alapvetően meghatározó funkcióra koncentrálna.

```

                                     -207 HSE
gccccctctc ccctctcct taggactcct gtttctcca
gccaatccta gaagagtctg gagagttctg ggaggagagg
                                     -147 CAAT
catccagggc gctgattggt tccagaaagc c/-agggggcag
                                     -130 AP2
-115 HSE
gacctgaggc gaaaccctg gaatattccc gacctggcag
                                     -64 CAAT
ccccactgag ctcggtcatt ggctgacgag ggaaaaggcg
                                     -44 SP1
-24 TATA
gggcttgatg aagaattata aacacagagc cgctgagga G
                                     +1
```

37. ábra: A szarvasmarha HSP70.2 gén felső promóter szakaszában található AP2 szakasz polimorfizmus. A -130-as pozícióban található citozin delécióna az AP2 mutáns allélben.

Az HSP70.2-es gén promóter régiója polimorf (37. ábra) ellentétben a nagymértékben konzervatív kódoló szakaszokkal. A szabályozásért felelős szakasz eltérő változatai alapvetően különböznek a génről képződött mRNS mennyiségében, amely meghatározza a szintetizálódó fehérje mennyiségét.

Hőstresszben a HSP-k okozta sejt szintű folyamatok a szervezet szintjén is észlelhető, értékelhető változásokat okoznak. A HSP-k a sejtől kijutva mérhető szérumkoncentrációt mutatnak (KRISTENSEN, 2004), alapvetően befolyásolják az embriók túlélését és hiányukban a hőstressz végzetes lehet (CHANDOLIA, 1999).

Az irodalmi adatok alapján a több mRNS-t produkáló allélvariánst hordozó szarvasmarhák hőtűrő képessége jobb, mint a másik allélváltozatot hordozó egyedeké (COLLIER, 2006; JING, 2005).

5.3. Anyag és módszer

5.3.1 Anyag

A Magyar szürke szarvasmarha fajtát évszázadok óta tenyésztik hazánkban. A fajta tenyészközpontjaként számontartott Hortobágy mai napig a legfontosabb tenyészállat előállító, bikanevelő állománynak ad otthont. Vizsgálatunkhoz 253 hortobágyi egyedről vett vérmintát használtunk. A minta reprezentativitását a törzskönyvi adatbázis alapján elvégzett válogatás, majd véletlenszerű kijelölés biztosította. Mintakijelölésnél minden fontosabb bika-vonalból és tehéncsaládból válogattunk 3 generáción belül 1 közös ősnél többel nem rendelkező egyedeket.

Mintánkba külső csoportként, kontroll csoportként teljesen eltérő klimatikus körülmények között, skandináviában kitenyésztett tejhasznú szarvasmarha fajtát választottunk. A norvég vörös szarvasmarha-fajtát (NFR) 1935-ben őshonos norvég fajták (Telemark, Trønderfe, Rødkolle) és Svéd Vörös, Finn Ayrshire fajták keresztezésével hozták létre, egy megbízható termelésű tejhasznú fajta kitenyésztésének céljával. 20 NFR mintát használtunk a norvégiai Kysnes-gard farmról. A válogatás szempontja ebben az esetben a 2 generáción belül fellelhető legfeljebb egy közös ős volt.

5.3.2 Módszer

5.3.1 Minta előkészítés, DNS tisztítás

A DNS tisztítást fagyasztva tárolt teljes vérből végeztem felengedés után. Mintánként 200 µl mintát rázókeverést (vortexelés) követően pipettáztam steril, jelölt, 1,5 ml-es eppendorf csőbe. A DNS-tisztításhoz a Qiagen cég QIAamp DNS Mini kit használtam teljes vér protokoll szerint, amely teljes DNS-tisztítást tesz lehetővé. A tisztított DNS koncentrációját agarózgél-elektroforézissel mérve, mintánként mintegy 30 µl, hozzávetőleg 0,1-0,5 µg/µl DNS-t tartalmazó mintát kaptam.

5.3.2 PCR-reakció

A reakcióhoz az irodalmi adatok alapján, bioinformatikai módszerekkel, in silico történt tesztelés után (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/howto/design-pcr-primers/>) a legmefelőbbnek bizonyult primerpárt 3F-HSP70 5'- GCCAGGAAACCAGAGACAGA -3', 3R-HSP70 5'- CCTACGCAGGAGTAGGTGGT -3 választottam

31. táblázat: Tesztelt primerpárok a HSP 70.2 promóter amplifikálásához a vonatkozó publikációk feltüntetésével

primer név, bázissorrend	publikáció
1F-HSP70 5'- CGCTGGAGTCGTACGCCTTC; -3' 1R-HSP70 5'- CTTGGAAGTAAACAGAAACGGG-3'	Lamb (2007)
2F-HSP70 5'- AAGCTGCTCTCACGGACTAAGCCGT-3' 2R-HSP70 5'- CCTACGCAGGAGTAGGTGGT -3'	Schwerin (2001)
3F-HSP70 5'- GCCAGGAAACCAGAGACAGA -3' 3R-HSP70 5'- CCTACGCAGGAGTAGGTGGT -3'	Starkey (2007), Banks(2007)

A PCR-terméket a reakció optimalizálását követően a következő feltételek mellett amplifikáltam a mintákról: 25 µl reakció-térfogatban 15,3 µl víz, 2,5 µl Taq Puffer, 2,5 µl dNTP mix, 2 µl primer mix (3F-HSP70 5pm/µl és 3R-HSP70 5pm/µl), 1µl Bovine Serum Albumin, 1µl MgCl₂, Taq polimeráz 0,2 µl (Fermentas) (10U/µl), 0,5 µl templát. A reakció kezdő lépésében a minták 3 percig denaturálódnak, majd következik az amplifikáció 35 ciklusa. A ciklus első, denaturációs lépése 96°C-on 30 másodperc, az anelláció 62°C-on 30 másodperc, a ciklus befejező extenziós lépése 72°C-on 45 másodperc. A reakció végén a végső

extenziós lépés 20 perc 72°C-on. Az amplifikáció sikerességét 2,5%-os agaróz gélen való elektroforetikus futtatással ellenőriztem. Az ethidium bromiddal festett DNS-szakaszok UV-fényben láthatóvá válnak, méretstandarddal való futtatás esetén méretük meghatározható.

A PCR terméket a reakcióelegyben jelen lévő egyéb összetevőktől QIAquick PCR purification kit (Qiagen) segítségével tisztítottam meg. A tisztítás után a termék koncentrációját agaróz gélben végzett elektroforézissel, standard felhasználásával – etidium bromiddal festve – UV fényben határoztam meg. A szekvenálási reakcióhoz templátként hozzáadott PCR-termék szükséges térfogatát az egyes koncentrációk függvényében határoztam meg.

5.3.3 Szekvencia analízis

A szekvenálási reakciót az eredeti PCR primerekkel 3F-HSP70 5'- GCCAGGAAAC CAGAGACAGA -3' és 3R-HSP70 5'- CCTACGCAGGAGTAGGTGGT -3' végeztem.

A szekvenálási reakciót az Applied Biosystems cég ABI BigDye 3.1-es szekvenáló kitjével végeztem mindkét irányban a következő reakciókörülmények között: reakcióelegy: 4µl MasterMix, 2µl 5x Sequencing Buffer, 1µl primer (3,2pM/µl), 7µl víz, 6µl PCR termék. A szekvenálás PCR programja a következő volt: 96 °C bevezető denaturáció 30 másodperc, majd 25 ciklus: 96 °C denaturáció 10 másodperc, 50 °C anelláció 5 másodperc, 60 °C extenzió 4 percig, a ciklusokat követően 4 °C-on tartás. A szekvenálási reakciót követően a termékeket CENTRISEP-oszlopon (Princeton Separations Co., USA Princeton) tisztítottam a reakcióelegy fölösleges nukleotidjaitól, enzimeitől és más összetevőitől.

A fluoreszcensen jelzett dideoxi-nukleotidok a reakcióelegyben eltérő hosszúságú termékeket eredményeznek, melyeket kapillár-elektroforetikusán szétválasztva, lézeres leolvással azonosíthatókká váltak a lánczáró helyzetben lévő jelölt nukleotidok, így a szekvencia meghatározható. A tanszék ABI310-es automata genetikai analizátorán a POP4-mátrixban 36 cm hosszú kapillárisban, 45 perces futási idő mellett futtattam a mintákat.

5.3.3.1 A szekvencia kiértékelése

Az adatokat az ABI-cég Genetic Analyser 3.0 szoftverjével dolgoztam fel, majd a nyers szekvenciákat a SeqScape programmal (Applied Biosystem) egyenként javítottam és illesztettem.

5.3.3.2 PCR-RFLP genotipizálás

A HSP 70.2 gén promoter polimorfizmusának rutinszerű genotipizálását PCR-RFLP módszerrel végeztük, amelyben az első lépés fentebb leírt PCR reakciójában a kérdéses szakasz nem specifikus felszaporítása után specifikus restrikciós endonukleáz enzimmel végzett emésztés után végzett elektroforézis során alakul ki az úgynevezett restrikciós mintázat (hosszúság polimorfizmus) amely alapján az egyed genotípusa meghatározható (32. táblázat, 33. táblázat).

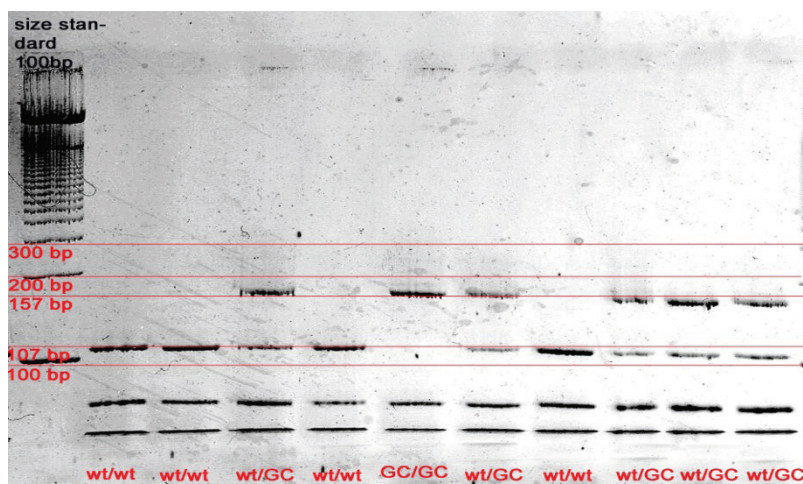
Az RFLP emésztésben a PCR termékeket a CviKI1 (New England Biolabs, Herts, UK) endonukleázzal emésztettem, amely specifikus az wt/AP2 mutációra mivel egyel több hasítási hellyel rendelkezik a wt vad típusú allél esetében a PCR termék 145. pozíciójában megtalálható citozin miatt. Az emésztést 10 µl reakcióelegyben végeztem, amelyben 1 mikroliter NEB4 puffer (New England Biolabs, Herts, UK) 5 egység CviKI1 enzim, maximum 1 pg PCR termék, ultratiszta vízzel 10µl-re volt kiegészítve. A reakció 12 órán keresztül 37°C-on vízfürdőben zajlott, amelyet az enzim 20 perces 80°C-on történő deaktiválása zárt le.

32. táblázat: A CviKI-1 endonukleáz enzim hasítási helyei a PCR termékben, mutáns allél esetében

# sor-szám	hasítási hely	a hasítási hely és környező szekven- cia	fragmentum hossz
1	38	27 ggaccttccc AG CC cctctcccc	38
2	195	184 ccgacctggc AG CC cactgagct	157
3	205	194 agcccactg AG CT cggtcattgg	10
4	217	206 ctcggtcatt GG CT gacgagggaa	18
5	238	227 gaaaaggcgg GG CT tgatgaagaa	21
6	264	253 ataaacacag AG CC gcctgaggag	26
7	285	274 gagaaacagc AG CC tggagagagc	20
8	296	285 gcctggagag AG CT gataaaactt	11
9	312	301 taaaacttac GG CT tagtccgtga	16
10	330	319 ccgtgagagc AG CT tccgagacc	18
11	402	391 ggttccgaaa AG CC cgagcttctc	72
12	408	397 gaaaagcccg AG CT tctcgtcgca	6
13	449	438 tcaggtttga AG CT tatttcggag	41
14	461	450 cttatttcgg AG CC ggaaaagcag	12
15	498	487 cgaaaaacac AG CT atcggcacg	37
16			41

33. táblázat : A CviKI-1 endonukleáz enzim hasítási helyei a PCR termékben vad típusú allél esetében

# sor-szám	hasítási hely	a hasítási hely és környező szekvencia	fragmentum hossz
1	38	27 ggaccttccc AG CC cctctcccc	38
2	145	134 ggtccagaa AG CC agggggcagg	107
3	196	185 ccgacctggc AG CC cactgagct	51
4	206	195 agccccactg AG CT cggtcattgg	10
5	218	207 ctgggtcatt GG CT gacgaggaa	18
6	239	228 gaaaaggcgg GG CT tgatgaagaa	21
7	265	254 ataaacacag AG CC gcctgaggag	26
8	286	275 gagaaacagc AG CC tggagagagc	20
9	297	286 gcctggagag AG CT gataaaactt	11
10	313	302 taaacttac GG CT tagtccgta	16
11	331	320 ccgtgagagc AG CT tccgcagacc	18
12	403	392 ggttccgaaa AG CC cgagcttctc	72
13	409	398 gaaaagcccg AG CT tctcgtcgca	6
14	450	439 tcaggtttga AG CT tatttcggag	41
15	462	451 ctatttcgg AG CC ggaaaagcag	12
16	499	488 cgaaaaacac AG CT atcggcatcg	37
17			41



38. ábra: Különböző genotípusú egyedek PCR-RFLP mintázata a reakciókat követő akril-amid elektroforézist követően.

Az eltérő allélok meghatározása a 2. fragmentum eltérő hossza alapján lehetséges. Amennyiben a második fragmentum 107 bázis hosszú, az a vad típusú allél jelenlétét jelzi, mivel ebben az esetben itt megtalálható a korábban említett plusz hasítási pont. Amennyiben a második fragmentum 157 bp hosszú, az a mutáns allél jelenlétére és egyben a hiányzó 16. hasítási pontra utal. Természetesen a heterozigóta egyedekben mindkét allélvariáns, így

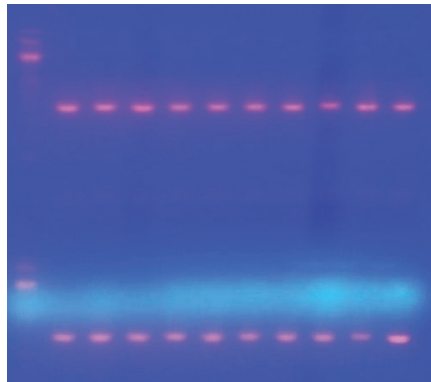
mindkét jellemző fragmentum megtalálható. Fontos megemlíteni hogy a nagyszámú nem specifikus hasítás során létrejövő fragmentumok hossza olyan rövid, hogy az a pontos genotipizálást nem befolyásolja (38. ábra)

Az eredmények statisztikai elemzését az R statisztikai szoftver (R Development Core Team 2003) Hardy-Weinberg (Graffelman 2008) elemző csomagja segítségével végeztük el.

5.4. Eredmények

A DNS tisztítás az összes vizsgálatba vont minta esetében sikeresen volt, a teljes DNS hozamok 30 µl-ben 1 és 10 ng/µl közöttiek voltak.

A DNS mintákkal végzett PCR reakciók minden esetben sikeresek voltak, az összes termék azonos (539 bp) hosszúságú volt (39. ábra).



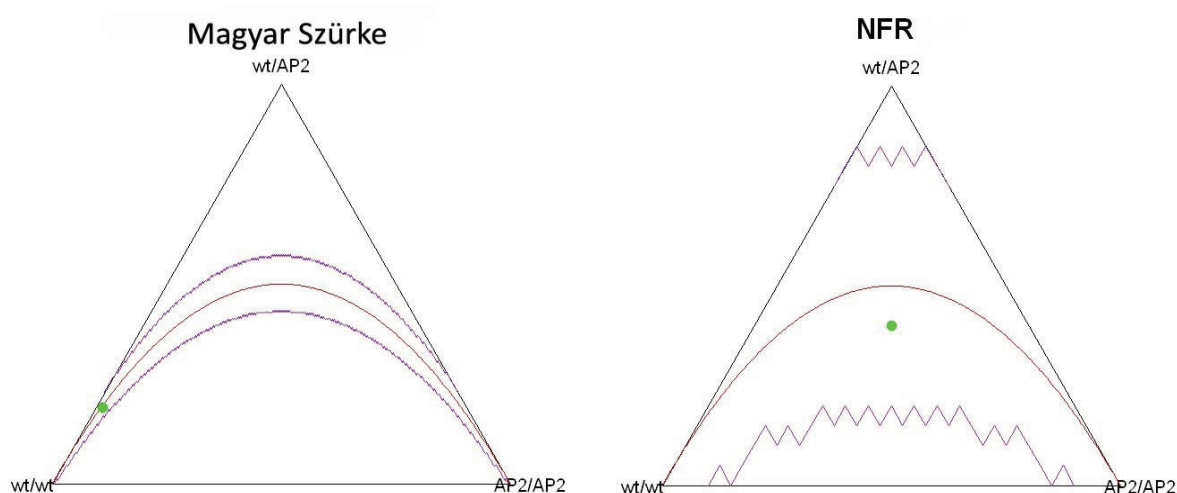
39. ábra: az 1-10 és a 11-20 számú minta PCR terméke az agaróz elektroforézist követően.

A vizsgálat során 5 minta PCR termékének szekvenálását végeztük el mindkét irányban. A sikeres szekvenálást követően, a kapott bázissorrendek vizsgálata igazolta a reakció specifikusságát, azaz, hogy a PCR termékek valóban a kérdéses genomi szakaszt tartalmazzák. Az elvégzett, ismétlésekkel együtt 280 PCR-RFLP vizsgálat mind a 273 egyed esetében egyértelmű eredményt adtak, amelyet az alábbi 34. táblázatban foglaltunk össze.

Táblázat 34: Az elvégzett genotipizálás alapján számított allélgyakoriságok fajtánként.

fajta	wt/wt (n)	wt/AP2(n)	AP2/AP2(n)	p(wt)	q(AP2)
Magyar szürke	201	48	4	0,859419	0,140580
Norvég vörös	6	8	6	0,5	0,5

Mintáinkat a kapott eredmények tükrében a Hardy-Weinberg egyensúly fennállásának szempontjából is teszteltük. A tesztelés eredménye mindkét minta esetében a Hardy-Weinberg egyensúly fennállását jelezte. Eredményeinket grafikus formában közöljük a 40. ábrán.



40. ábra: A két mintán elvégzett HSP 70 promoterrégió genotipizálási eredmények alapján elvégzett Hardy-Weinberg egyensúly tesztelés grafikai ábrázolása. Magyar szürke (n=253) Norvég Vörös (NFR) (n=20). A mintákat zöld ponttal jelöltük, míg az egyensúly fennállásának tesztelésére elvégzett Fisher's exact teszt tűrőhatártát ($\alpha = 0.05$) lila cikk-cakk vonal jelzi.

5.5. Következtetések

A magyar szürke szarvasmarhafajtában a nagyobb mennyiségű mRNS szintézist lehetővé tevő vad típusú allél (wt) gyakorisága nagyon közel van a teljes fixáltság eléréséhez, azaz szinte teljesen kiszorította a mutáns allélváltozatot. A természetes szelekció folyamatai során jól ismert egy-egy nem előnyös mutáció eltűnése a természetes populációkból. A fixált allélváltozatok egyértelműen jelzik az adott allél fitnesszre gyakorolt pozitív hatását. Esetünkben a vizsgált őshonos magyar fajta tenyésztése évszázadok óta folyik külterjes

módon a hőstressz szempontjából erősen kitett hortobágyi tenyészcentrumban. A vemhesülési problémák és a szoptatási időszakban elégtelen tejmenyiség, amelyek háttérben a hőstressz állhat, fontos szempontja a legkorábbi időktől a tenyésztési-, mesterséges szelekciónak. A szelekciós nyomás, azaz a folyamatosan jelentkező hőstressz periódusok feltételezhetően elősegítették az adaptációt, azaz a vad allél gyakoriságának növekedését a fajtában.

Fontos megjegyezni, hogy az állattenyésztés szelekciós folyamatai a természetes populációkban lezajló változásokkal nem mindig jellemezhetőek. A tenyészcélban kicsúcsozott szelekciós irány, szelekciós cél sokszor a klasszikus értelemben vett fitnessz rovására növeli meg egyes allélok gyakoriságát például kapcsolt helyzetben lévő gének esetében. Annak érdekében, hogy a hibás következtetések levonását eredményező tényezőket kiküszöböljük, terveink között szerepel egy nagymintás vizsgálat végrehajtása az őshonos norvég szarvasmarhafajták és az NFR fajta bevonásával. Elképzelésünk szerint a hőstressznek nem kitett területeken kitenyésztett fajták esetében az allélgyakoriságok szintjén, a hiányzó szelekciós nyomás hatására észlelhető eltérések valószínűsíthetőek. Jelen vizsgálatban a fenti elképzelés előzetes tesztelésre a norvég vörös fajta kisméretű mintáján elvégzett genotipizálás eredménye ezt az elképzelést alátámasztani látszik. Az NFR fajtában a két allél gyakorisága megegyezik.

5.6. További vizsgálatok

2010 májusában a norvég GENO céggel kötött megállapodás eredményeként 100 NFR és 50 őshonos norvég szarvasmarhafajtától származó sperma mintát kaptunk további az allélgyakoriságok megállapításához.

Amennyiben a sejt szintű adaptációt döntően befolyásoló polimorfizmus valóban a szervezet és a termelés szintjén megjelenő eltéréseket okozhat, úgy egy eltérő genotípusokat tartalmazó, hőstressznek kitett termelő állomány esetében ez várhatóan észlelhető termelési különbségeket eredményezhet. Ezzel kapcsolatban a már idézett arizónai (Starkey 2007, Banks 2007) eredményeken túl saját vizsgálatok elvégzését is tervbe vettük. 2010 májusában a Mezőhegyesi Ménesbirtok ZRt.-vel együttműködésben megkezdődött egy a teljes állomány bevonásával történő vizsgálat, ahol a környezeti paraméterek folyamatos rögzítése mellett a termelés és a szaporodásbiológiai paraméterek változásait a genotípus függvényében vizsgáljuk. Az eredmények tükrében a vizsgált polimorfizmus a hőrezisztens fajták kitenyésztése során nagy jelentőségű markerré válhat

5.7. Összefoglalás

A HSP 70.2-es hősokkfehérje szintézisét a környezeti tényezők, és a felső promóter szakasz egy polimorf részlete befolyásolja szarvasmarhában. Munkám célja az volt, hogy a magyarszürke fajtában és a kontrollként használt norvég fajtában megállapítsam az ezen a promóter szakaszon található vad (wt) allél gyakoriságát, amely jelenlétében 2-3x annyi mRNS szintetizálódik mint a másik, mutáns allél (AP2) esetében.

Eredményeim közel fixált gyakoriságot mutattak a hazai fajtában $p(\text{wt})_{\text{HG}} = 0.859419$, míg a norvég fajtában a két allél gyakorisága megegyezett $p(\text{wt})_{\text{NFR}} = 0,5$.

Az eltérés okaként feltételezhető a teljesen eltérő klimatikus viszonyok hatása a kitenyésztés során történt környezeti adaptáció során.

6. Új tudományos eredmények

A magyar szürke szarvasmarha fenotípusos és mitokondriális alapú genotípusos vizsgálata során a következő új tudományos eredményeket értem el:

1. Kifejlesztettem a VATEM módszer létrehozásával külterjesen tartott állományok testméretfelvételének, könnyen szállítható, biztonságosan használható eszközt (tárgyi eszközök, számítógépes szoftver).
2. A magyar szürke szarvasmarha öt legnagyobb a fajta szempontjából legfontosabb tenyészetében a 2-évnél idősebb tehenekről videofelvételt készítettem és testméreteiket meghatároztam. A képanyag archiválását könnyen visszakereshető módon oldottam meg.
3. Olaszországi maremman és törökországi török szürke állományok testméretfelvételezésével a podóliai fajtakör legnyugatibb és legkeletibb képviselőjének testméreteit is meghatároztam.
4. A magyar állományra majd az egyes gulyákra valamint a külföldi állományokra vonatkozó testméretek statisztikai feldolgozásával hasonlítottam össze a fajtakör fajtáit.
5. A mintokondriális alapú fajtaeredeti vizsgálatokhoz igazódó, új, részletesen meghatározott mintavételi stratégia kialakítása (founder sampling). Founder mintázás alkalmazása a magyar szürke szarvasmarha tehéncsaládok azonosítása után az élő állományból.
6. A magyar szürke szarvasmarha 80 tehéncsaládjának mitokondriális D-hurok szekvenciájának megállapítása és közzététele a GenBank-ban (elérési számok: EU982211 - EU982290) A fajta mitokondriális diverzitásának megállapítása.
7. A fajta eredetével kapcsolatos hipotézisek értékelése a mitokondriális DNS vizsgálatok eredményeinek tükrében, a közös európai szarvasmarha ősből történt helyi kitenyésztés elméletének valószínűsítésével.
8. A magyar szürke szarvasmarha és más szarvasmarhafajtáktól számított genetikai távolságának megállapítása GenBank-i és saját adatok alapján
9. A HSP 70.2 hősokk fehérjét kódoló gén felső promoter szakasz allélváltozatainak gyakoriságának megállapítása a magyar szürke szarvasmarha-fajtában.

7. Irodalomjegyzék

7.1. Irodalomjegyzék a „Magyar szürke szarvasmarha küllemi leírása, és összehasonlítása más podóliai fajtákkal VATEM méretek alapján” című fejezethez

Bartosievicz L.: A szarvasmarha testarányainak összefüggése a hasznosítási típussal. Doktori értekezés; Gödöllő, 1978.

Bartosievicz L. et al.: Tanulmányok. Állattenyésztési és Takarmányozási Kutató Központ, Gödöllő, 1985.

Bianconi, G. - Negretti, P.: Live weight, dead weight, and yield at slaughtering of chianini beef by means of optoinformatic evaluation methods. Előadás. 4th World Italian Beef Cattle Congress, Italy. 2005.

Bianconi, G. - Negretti, P.: Analisi di immagine e valutazione morfologica lineare. Bianco Nero 1999/2.

Bodó I.: A magyar szürke marha küllemének és teljesítményének megítélése. Doktori disszertáció. Agrártudományi Egyetem, Gödöllő, 1968.

Bodó I.: A magyar szürke vonalak kialakulása és szerepük a tenyésztésben. Magyar szürke tenyésztők Országos Tanácskozása, Bánhalma, 1988. Kézirat. 15. p.

Bodó I.: A magyar szürke marha küllemének leírása.. Magyar szürke tenyésztők Országos Tanácskozása, Bugacpuszta, 1984. Kézirat. 14. p.

Bodó I. – Eszes F. – Gera I. – Jávorka L. – Kovács Gy.: Taking body measurements by using videotechnique. 23rd International Charolais Congress, Miskolc, 1988.

Bodó I. – Eszes F. – Jávorka L.: Testméretfelvétel új módszerrel – videotechnika. Magyar Mezőgazdaság, 43. évf. 26. sz. 1988.

Bodó I. – Eszes F. – Jávorka L. – Németh Cs.: Die optische Beurteilung des Sprungvermögens des Pferdes. V. Internationales Wissenschaftliches Symposium, Leipzig,

15–16. Juni, 1988.

Bodó I. – Gera I. – Koppány G.: A magyar szürke szarvasmarha. A Magyar Szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesülete, Budapest, 2002.

De Boer, H.– Nijboer, H.: Stereo diapositives an aid in carcass assessment. World Review of Animal Production. 1973., 9., 3., 50-57.p.

Gaál Cs.: Újszerű testméretfelvételi és értékelési módszer vizsgálata charolais anyatehén állományon. Diplomamunka (konzulens: Jávorka Levente); Agrártudományi Egyetem Főiskolai Kar, Hódmezővásárhely, 1994.

Guba S.: A szarvasmarha tenyésztése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1985.

Harvey E. – Cappo M. – Shortis M. – Robson S. – Buchanan J. – Speare P.: The accuracy and precision of underwater measurements of length and maximum body depth of southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) with a stereo-video camera system Fisheries Research 63(3): 315-326 September 2003

Horn A.: Állattenyésztés 2. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1976.

Karásek, V. – Jurco, V. – Pícha, J. – Prybil, J. – Suchanek, B. (in): Szarvasmarhatenyésztés (szerk.: Horn A.). Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1973.

Lehmann, C.: Ein neues Verfahren zum Messen der Haustiere. Landwirtschaftliche Jahrbücher, 35. Band, 5. Ergangsband, Vrgl. Paul Parey, Berlin 1909.

Maróti-Agóts Á. – Bodó I. – Zöldág L. – Jávorka L. – Gera I.: A magyar szürke és a maremman szarvasmarhafajták összehasonlítása testméreteik alapján. MTA Állatorvostudományi Bizottsága, akadémiai beszámoló. 2005.

Maróti-Agóts Á. – Ratkóczy O.: Analysis of external characteristics of the native Hungarian Grey Cattle Breed. 52nd Ann. Meet. EAAP. Budapest, 2001.

Mészáros Gy.: Új módszer a szarvasmarhák testméreteinek felvételére és testarányaik elemzésére. Állattenyésztés, 1977. Tom. 6., No. 6., 525–530. p.

Nemes L.: Húsmarhák méretfelvétele videoberendezéssel. Diplomamunka (konzulens: Jávorka L.); Állatorvos-tudományi Egyetem, Budapest, 1989.

Soós I.: Lovak testméreteinek felvétele fényképek segítségével. Diplomadolgozat (konzulens. Bodó I.); Állatorvos-tudományi Egyetem, Budapest, 1985.

Sváb J.: Biometriai módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.

Szalay F.: A comparative study of home video – Macintosh computer – based and modified CODA-3 systems in equine motion analysis. TEMPUS project – final report, Budapest, 1995.

Székelyi M. – Barna I.: Túlélőkészlet az SPSS-hez. Typotex Kiadó, Budapest, 2004.

Tőzsér J. – Sutta J. – Bedő S.: Videókép-analízis alkalmazása a szarvasmarhák testméretének értékelésében. Állattenyésztés és Takarmányozás, 2000., 49., 5., 385-392. p.

Vági J.: Method komp'juternoj obrabotki ekszteriernüh izobrazsenij mjasznogo szkota. Előadás a moszkvai Tyimirjazev Akadémia 1985. decemberi tudományos ülészekán.

Zehender, G. – Cordella, L. P. – Chianese, A. – Ferrara L. – del Pozzo, A. – Barbera, S. – Bosticco, A. – Negretti, P. – Bianconi, G. – Filippi Balestra, G. – Tonielli, R.: Image analysis in morphological animal evaluation: a group for the development og new techniques in zoometry. Animal Genetic Resources Information, 1996., 20., 71-79. p.

7.2. Irodalomjegyzék a „Magyar szürke szarvasmarhafajta mitokondriális DNS alapú diverzitás- és fajtaeredeti vizsgálata” című fejezethez

Achilli A., Olivieri A., Pellecchia M., Uboldi C., Colli L., Al-Zahery N., Accetturo M., Pala M., Kashani B. H., Perego U. A., Battaglia V., Fornarino S., Kalamati J., Houshmand M., Negrini R., Semino O., Richards M., Macaulay V., Ferretti L., Bandelt H. J., Ajmone-Marsan

P. Torroni A., Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle. *Curr Biol.* 8(4) (2008) 157-8.

Anderson, s., de Bruijn, m. H., coulson, a. R., eperon, i. C., sanger, f., young, i. G.: Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome, *Journal of Molecular Biology*, 1982. 156. vol. 4. no. 683-717. pp.

Arctander, P., Johansen, C., & Coutellec-Vreto, M. A.: Phylogeography of three closely related African bovids (tribe Alcelaphini), *Molecular Biology Evolution*, 1999. 16. vol. 12. no. 1724-1739. pp.

Bailey, J.F.; Richards, M.B.; Macaulay, V.A.; Colson, I.B.; James, I.T.; Bradley, D.G.; Hedges, R.E.; Sykes, B.C: Ancient DNA suggests a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species. 1996. *Proc.R.Soc.Lond B Biol.Sci.*

Bartosiewicz L, 2006. Are “autochthonous” animal breeds living monuments? in: Jerem E. (Ed.), *Archaeological and cultural heritage preservation within the light of new technologies*, *Archaeolingua*, Budapest, pp. 33–47.

Beja-Pereira A., Caramelli D, Lalueza-Fox C., Vernesi C., Ferranda N., Casoli A., Goyache F., Royo L. J., Conti S., Lari M., Martinij A., Ouraghk L., Magidl A., Atashl A., Zsolnaim A., Boscaton P., Triantaphylidiso C., Ploumip K., Sineoq L., Mallegnir F., Taberletb P., Erhardtts G., Sampietrot L., Bertranpetitt J., Barbujaniu G., Luikartb G., Bertorellec G., The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proc. Natl Acad. Sci.USA*, 103 (2006) 8113–8118.

Bodó I., Gera I., Koppány G.: A magyar szürke szarvasmarha, *Magyar Szürke Szarvas-marhát Tenyésztők Egyesülete*, Bp., 2002.

Borics I.: Magyar szürke tenyésztése, tejtermelése és keresztezése Hosszúháton, Hortobágyi Természetvédő és Génmegőrző Kht., *Magyar Szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesülete*, Debrecen, 2006.

Cavalli-Sforza, L. Genetikai átjáró, Európa Kiadó, 2002

Chen, H. & Leibenguth, F.: Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA of three farm animal species: cattle, sheep and goat, Comp Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry Molecular Biology, 1995. 111. vol. 4. no. 643-649. pp.

Edwards, C.J.; Connellan, J.; Wallace, P.F.; Park, S.D.; McCormick, F.M.; Olsaker, I.; Eythorsdottir, E.; Machugh, D.E.; Bailey, J.F.; Bradley, D.G.: Feasibility and utility of microsatellite markers in archaeological cattle remains from a Viking Age settlement in Dublin. 2003., Animal Genetics

Edwards C.J., Bollongino R., Scheu A., Chamberlain A., Tresset A., Vigne J.D., Baird J.F., Larson G., Ho S.Y., Heupink T.H., Shapiro B., Freeman A. R., Thomas M. G., Arbogast R., Arndt B., Bartosiewicz L., Benecke N., Budja. M., Chaix L., Choyke A. M., Coqueugniot E., Döhle H., Göldner H., Hartz S., Helmer D., Herzig B., Hongo H., Mashkour M., Özdoğan M., Pucher E., Roth G., Schade-Lindig S., Schmölcke U., Schulting R.J., Stephan E., Uerpman H., Vörös I., Voytek B., Bradley D.G., Burger J., Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs. Proc. Biol. Sci. 274, (2007) 1377–1385.

Gibbons, A.: Calibrating the mitochondrial clock. Science, 2. of January, 1998. 279(5347):28-9. pp.

Hill, E. W., Bradley, D. G., AL-Barody, M., Ertugrul, O., Splan, R. K. [S], Zakharov, I. [P], Cunningham, E. P.: History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation Animal Genetics, August, 2002. 33(4):287-294. pp.

Jávorka L.: Állattenyésztési jegyzet, Kézirat, Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar, 2007.

Kadwell, M., Fernandez, M., Stanley, H. F., Baldi, R., Wheeler, J. C., Rosadio, R., & Bruford, M. W.: Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca, Proceeding of the Royal Society Lond B Biological Sciences, 2001. 268. vol. 1485. no.

2575-2584. pp.

Kavar, T., Habe, F., Brem, G., Dovč, P.: Mitochondrial D-loop sequence variation among the 16 maternal lines of the Lipizzan horse breed *Animal Genetics*, 1999.30 (6). 423–430.pp.

Kikkawa, Y., Takada, T., Sutopo, K., Nomura, T., Namikawa, H., Yonekawa, T., Amano: Phylogenies using mtDNA and SRY provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle. 2003. *Animal Genetics*, 34 (2). 96–101. pp.

Kim, K. I., Lee, J. H., Li, K., Zhang, Y. P., Lee, S. S., Gongora, J., & Moran, C.: Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism, *Animal Genetics*, 2002. 33. vol. 1. no. 19-25. pp.

Kim, K. I., Lee, J. H., Lee, S. S., & Yang, Y. H.: Phylogenetic relationships of Northeast Asian cattle to other cattle populations determined using mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism, *Biochemistry Genetics*, 2003. 41. vol. 3-4. no. 91-98. pp.

Kovács, Gy., Takács E.: Populáciodinamikai vizsgálatok a hortobágyi magyar szürke szarvasmarha állományban vércsoport-génfrekvenciák felhasználásával. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1979. 34., p. 386-389.

Loftus, R. T., Machugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., & Cunningham, P.: Evidence for two independent domestications of cattle, *Proceeding of the National Academy of Sciences U.S.A*, 1994. 91. vol. 7. no. 2757-2761. pp.

Loftus, R. T., Machugh, D. E., Ngere, L. O., Balain, D. S., Badi, A. M., Bradley, D. G., & Cunningham, E. P.: Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations, *Animal Genetics*, 1994. 25. vol. 4. no. 265-271. pp.

Mannen, H., Morimoto, M. L., Oyamat, K., Mukai, F., & Tsuji, S.: Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat quality in Japanese Black cattle, *Journal of Animal Science*, 2003. 81. vol. 1. no. 68-73. pp.

Maróti-Agóts, Á., Zöldág, L., Solymosi, N., és Egyed, B.: Effect of different sampling methods on cattle mtDNA phylogenetic studies.

In 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Vilnius, Lithuania., 2008poster

Matolcsi J, 1982. Animal keeping by our ancestors (in Hungarian), Gondolat Kiadó, Budapest, pp. 332.

Pellecchia M, Negrini R, Colli L., Patrini M., Milanesi E., Achilli A, Bertorelle G, Cavalli-Sforza LL., Piazza A., Torroni A, Ajmone-Marsan P., The mystery of Etruscan origins: novel clues from *Bos taurus* mitochondrial DNA. *Proc Biol Sci.* 274 (2007) 1175-9.

Pesole, G., Gissi, C., DE Chirico, A., & Saccone, C.: Nucleotide substitution rate of mammalian mitochondrial genomes, *Journal of Molecular Evolution*, 1999. 48. vol. 4. no. 427-434. pp.

Stoneking, M.: Hypervariable Sites in the mtDNA Control Region Are Mutational Hotspots *The American Journal of Human Genetics* 67, 2000. 1029–1032. pp.

Sykes Bryan: Éva hét leánya. Budapest : Európa Könyvkiadó, 2002

*Tamura, K, Dudley, J, Nei, M, Kumar, S :*MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. 2007., *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599. pp.

Takács E., Bodó I., Csontos G., Dohy J., Gippert E., Kovács Gy., Stukovszky J.: A magyar szürke szarvasmarha fiziológiai és immunogenetikai paramétereinek vizsgálata, Őshonos és honosult háziállatfajtáink genetiaki sajátosságai, szerk: Horn P., Mezőgazdasági Főiskola, Kaposvár, 1986

Troy, C. S., Machugh, D. E., Bailey, J. F., Magee, D. A., Loftus, R. T., Cunningham, P., Chamberlain, A. T., Sykes, B. C., & Bradley, D. G.: Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle, *Nature*, 2001. 410. vol. 6832. no. 1088-1091. pp.

P. Zenke, Á. Maróti-Agóts, Zs. Pádár, A. Gáspárdy, I. Komlós, L. Zöldág: Molecular genetic data to evaluate inbreeding in dog populations, Magyar Állatorvosok Lapja 2007 augusztus 484-494 pp.

Wu, J., Smith, R. K., Freeman, A. E., Beitz, D. C., Mcdaniel, B. T., & Lindberg, G. L.: Sequence heteroplasmy of D-loop and rRNA coding regions in mitochondrial DNA from Holstein cows of independent maternal lineages, Biochemistry Genetics, 2000. 38. vol. 9-10. no. 323-335. pp.

7.3. Irodalomjegyzék a „A HSP 70.2 hőszokkfehérje promóter régiójának vizsgálata a magyar szürke szarvasmarha-fajtában” című fejezethez

Armstrong, D.V.: Heat Stress Interaction with Shade and Cooling Journal of Dairy Science Volume 77 2044-2050. 1994

Bianca, W. Relative importance of dry- and wet-bulb temperatures in causing heat stress in cattle. Nature 195:251–252. 1962.

Bohmanova, J., I. Misztal, and J. B. Cole. Temperature-Humidity Indices as Indicators of Milk Production Losses due to Heat Stress. Journal of Dairy Science 90 :1947. 2007

Bouraoui, R., M. Lahmar, A. Majdoub, M. Djemali, and R. Belyea. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. Anim. Res. 51: 2002 479–491.

Chandolia R.K., M.R. Peltier, W. Tian, and P.J. Hansen: Transcriptional Control of Development, Protein Shock Protein 70 Synthesis in 2-Cell Bovine Embryo. 1999 Biology of Reproduction 61, 1644–1648

Collier R. J., C. M. Stiening, B. C. Pollard, M. J. VanBaale, L. H. Baumgard, P. C. Gentry, and P. M. Coussens.: Use of gene expression microarrays for evaluating environmental stress tolerance at the cellular level in cattle. 2006 J. Anim. Sci84:E1-E13

Correa-Calderon, D Armstrong, D. Ray, S. DeNise Thermoregulatory responses of Holstein

and Brown Swiss Heat-Stressed dairy cows to two different cooling systems 2004 International Journal of Biometeorology,

Craig E.A., C.A. Is hsp70 the cellular thermometer?Gross, Trends Biochem. Sci. 199116
Pierce, Crit. 135-140.

DeNagel D.C., S.K. Heat shock proteins in immune responses. Rev. Immunol. 1993 13 71-81.

Ekesbo P.: Evolution of animal welfare in Europe and its role for safeguarding animal health in Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002

Ellis S., Hemmingsen M. Molecular chaperones: proteins essential for the biogenesis of some macromolecular structures. 1989 Trends Biochem. Sci. 14 339- 342.

Ellis SM Proteins as molecular chaperones. 1987 Nature 328 378-379.

*Finch, V. A.:*Body Temperature in Beef Cattle: Its Control and Relevance to Production in the Tropics. 1986. Journal of Animal Science 62:531.

Gaughan, J. B., Mader, T. L., Holt, S. M., Josey, M. J., and Rowan, K. J.: Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. Journal of Animal Science (1999) 77(9), 2398-2405.. Am Soc Animal Sci.

Gething M.-J., Sambrook J., Protein folding in the cell. 1992 Nature 355 33-45.

Gian-Reto Walther, Eric Post, Peter Convey, Annette Menzel, Camille Parmesan, Trevor J. C. Beebee, Jean-Marc Fromentin, Ove Hoegh-Guldberg and Franz Bairlein Ecological responses to recent climate change 2002Nature 416, 389-395

Graffelman, J. and Morales-Camarena, J. Graphical tests for Hardy-Weinberg equilibrium based on the ternary plot. 2008Human Heredity 65(2): 77-84.

Hammond, A. C., Olson, T. A., Chase, C. C., Bowers, E. J., Randel, R. D., Murphy, C. N.,

Vogt, D. W., and Tewolde, A. Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano, compared with Brahman, Angus, and Hereford cattle in Florida. 1996 *Journal of Animal Science* 74(2), 295-303.. Am Soc Animal Sci.

Hansen: P. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. 2004 *Animal Reproduction Science*, Volume 82-83, Pages 349-360

Hightower L.E.: Heat shock, stress proteins, chaperones, and proteotoxicity 1991 *Cell* 66 191-197.

Huhnke, R. L., L. C. McCowan, L. C. Meraz, S. L. Harp, and M. E. Payton. Determining the frequency and duration of elevated temperature-humidity index. 2001 ASAE Annu. Int. Mtg., Sacramento,

Igono, M. O., and H. D. Johnson. Physiological stress index of lactating dairy cows based on diurnal pattern of rectal temperature. 1990 *J. Interdiscip. Cycle Res.* 21:303–320.

Igono, M. O., Bjotvedt G., and Sanford-Crane H. T.. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. 1992 *Int. J. Biometeorol.* 36:77–87.

Jing Li, Zhang LiJun, Zhou Lei, Liu QingHua, Wang GenLin, Yang YuanYuan, Xing GuangDong, Cai YaFei : Polymorphism of the promoter region of Hsp70 gene and its relationship with the expression of HSP70mRNA, HSF1mRNA, Bcl-2mrna and Bax-AMrna in lymphocytes in peripheral blood of heat shocked dairy cows. 2005 *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, (Vol. 18) (No. 5) 734-740

Kosgey, I. S., Kahi A. K., and Van Arendonk J. A. M.. Evaluation of Closed Adult Nucleus Multiple Ovulation and Embryo Transfer and Conventional Progeny Testing Breeding Schemes for Milk Production in Tropical Crossbred Cattle. 2005 *Journal of Dairy Science* 88:1582-1594.

Kristensen Torsten Nygaard, Peter Løvendahl, Peer Berg and Volker Loeschcke : Hsp72 is present in plasma from Holstein-Friesian dairy cattle, and the concentration level is

repeatable across days and age classes. *Cell Stress Chaperones*. 2004 April; 9(2): 143–149.

Lacetera N., U. Bernabucci, D. Scalia, L. Basiricò, P. Morera and A. Nardone : Heat Stress Elicits Different Responses in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Brown Swiss and Holstein Cows. 2006 *J. Dairy Sci.* 89:4606-4612

Lindquist S., E.A. Craig.: The heat-shock proteins. 1988 *Annu. Rev. Biochem.* 22 631-677.

Malayer, J. R. and Hansen, P. J. Differences between Brahman and Holstein cows in heat-shock induced alterations of protein synthesis and secretion by oviducts and uterine endometrium. 1990 *Journal of Animal Science* 68(1), 266-280. *Am Soc Animal Sci.*

Mariasegaram, H., Chase, C.C., Chaparro, J.X., Olson, T.A., Brenneman, R.A., Niedz, R.P.: The Slick Hair Coat Locus Maps to Bovine Chromosome 20 in Senepol Derived Cattle. 2007 *Animal Genetics*. 38:54-59.

Mitchell TD and Jones PD.: An improved method of constructing a database of monthly climate observations and associated high-resolution grids. 2005 *Int. J. Climatol.* 25, 693–712.

Mitchell TD, Timothy R. Carter, Philip D. Jones, Mike Hulme and Mark New: A comprehensive set of high-resolution grids of monthly climate for Europe and the globe: the observed record (1901-2000) and 16 scenarios (2001-2100). 2004 *Tyndall Centre Working Paper* 55

Olson T. A., C. Lucena, C. C. Chase, Jrand A. C. Hammond: Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in *Bos taurus* cattle. 2003 *J. Anim. Sci.* 2003. 81:80-90

Ravagnolo O. and I. Misztal: Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. 2000 *Journal of Dairy Science* Vol. 83 No. 9 2126-2130

Ravagnolo, O., I. Misztal, and G. Hoogenboom. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. 2000 *J. Dairy Sci.* 83:2120–2125.

Reiczigel J, Solymosi N, Könyves L, Maróti-Agóts A, Kern A, Bartyik J: Examination of heat stress caused milk production loss by the use of temperature-humidity indices. 2009Magy Allatorv 131:137–144

Schwerin M., Maak S., Fuerbass R.r. Interacting phenotypic effects of co-existing variants within a single gene - cellular stress response is significantly affected by interactions between promoter and 3'-UTR variants of the porcine hsp70.2 gene, 2002XXVIII International Conference on Animal Genetics

Seif, S. M., H. D. Johnson, and A. C. Lippincott.: The effects of heat exposure (31- C) on Zebu and Scottish Highland cattle. 1979International Journal of Biometeorology 23:9-14.

Smith,T.R.; Chapa,A.; Willard,S.; Herndon Jr,C.; Williams,R.J.; Crouch,J.; Riley,T.; Pogue,D.: Evaporative Tunnel Cooling of Dairy Cows in the Southeast. I: Effect on Body Temperature and Respiration Rate. 2006Journal of Dairy Science Volume 89

Solymosi N., Maróti-Agóts Á., L. Ózsvári, L. Könyves, L. Horváth and A. Kern: Region specific heat stress forecast for cattle production based on climate change scenarios, GISVET Conference 2007 Copenhagen

Solymosi N, Torma C, Kern A, Maróti-Agóts A, Barcza Z, Könyves L, Berke O, Reiczigel J.: Changing climate in Hungary and trends in the annual number of heat stress days. J.Int J Biometeorol. 2010 Jan 8.

Tanguay R.M.: Transcriptional activation of heat-shock genes in eukaryotes. 1988 Biochem. Cell Biol. 66 584-593.

Tsukiyama T., P.B. Becker, C. Wu, ATP-dependent nucleosome disruption at a heat-shock promoter mediated by binding of GAGA transcription factor. 1994Nature 367 525-532.

William J. Parton, Dennis S. Ojima and David S. Schimel: Environmental change in grasslands: Assessment using models. 1994 Climatic Change Volume 28, Numbers 1-2 / October

8. Tudományos közlemények

Folyóiratokban megjelent / közlésre elfogadott, lektorált, teljes szövegő tudományos közlemények, angol nyelven

Maróti-Agóts Á. , Bodó I., Jávorka L, Gyurmán Alice, Solymosi N., Zenke Petra, Skogseth Marita, Zöldág L.: Possible genetic sign of heat stress adaptation in Hungarian Grey Bos taurus breed.
Acta Biologica Hungarica benyújtva

Maróti-Agóts Á., Bodó I., Jávorka L., Gyurmán A., Zenke P., Egyed B., A. M. Choyke, Bartosiewicz L., Zöldág L.: Genetic diversity and origins of the Hungarian Grey cattle breed based on mitochondrial D-loop sequence variation
Journal of Applied Genetics benyújtva

Solymosi N., Kern Anikó, **Maróti-Agóts Á.**, Horváth L. and Erdélyi K.: Tety: an easy to use tool for extracting climatic parameters from tyndall data sets
Environmental Modelling & Software 2007

Solymosi N, Torma C, Kern A, **Maróti-Agóts A**, Barcza Z, Könyves L, Berke O, Reiczigel J.: Changing climate in Hungary and trends in the annual number of heat stress days.
J.Int J Biometeorol. 2010 Jan 8.

Zenke P, **Maroti-Agots Á**, Padar Z, Zoldag L. Characterization of the wilms-tf microsatellite marker in hungarian dog populations
Acta Biologica Hungarica Vol. 60 Issue: 3 Pages: 329-332 2009

Folyóiratokban megjelent / közlésre elfogadott, lektorált, teljes szövegő tudományos közlemények, magyar nyelven

Zenke P, **Maróti-Agóts Á**, Pádár Zs, Gáspárdy A, Komlósi I, Zöldág L.: Adatok a kutyaállományok beltenyésztettségének értékeléséhez.
Magyar Állatorvosok Lapja 129: (8) pp. 484-489
Silvia M, Jozef T, Monika, Jan B, **Maroti-Agots A**, Massanyi P, Zoldag L.: Genetic structure and variability of IGF2 gene in domestic pig breeds and wild boar in Slovakia
Magyar Allatorvosok Lapja Volume: 132 Issue:2, 2010

Mindekova S, Trakovicka A, Trandzik J, Buleca J, **Maroti-Agots A**, Jakabova D, Massanyi P , Zoldag L .:Correlation of pig LEPR and H-FABP parental genotypes with fat content of meat in offsprings
Magyar Allatorvosok Lapja Volume:132 Issue:1, 2010

Zidek R, Jakabova D, Trandzik J, Gralak B, Burocziova M, Buleca J, **Maroti-Agots A**, Peter M, Dvorak J, Riha J, Laszlo Z.: Diversity analysis of Hucul horse population based on molecular genetic data

Magyar Allatorvosok Lapja Volume: 131 Issue: 11 2009

Zidek R, Trandzik J, Buleca J, **Maroti-Agots A**, Jakabova-Satkova D, Bulla J, Zoldag L.: Application of conventional microsatellite markers and quantitative trait loci in porcine genetic research

Magyar Allatorvosok Lapja Volume: 131 Issue: 10 2009

Reiczigel J., Solymosi N., Könyves L., **Maróti-Agóts A.**, Kern A. és Bartyik J.: A hőstressz okozta tejtermelés-kiesés vizsgálata hőmérséklet-páratartalom indexek alkalmazásával.

Magyar Állatorvosok Lapja Vol.131 Issue 3 2009

Maróti-Agóts Á., Markó A., Zöldág L.: Macskák polycystás vesebetegségének (PKD) meghatározása módosított molekuláris diagnosztikai eljárással

Magyar Állatorvosok Lapja Vol.130 Issue 4 2008 205 pp.

Tudományos konferenciákon bemutatott poszter vagy szóbeli közlés:

Solymosi N., **Maróti-Agóts, Á.** Ózsvári L., Könyves L., Horváth L., Kern A.: Region specific heat stress forecast for cattle production based on climate change scenarios, GISVET'07, Copenhagen, Denmark, 2007, oral presentation

Maroti-Agóts A., Bodò I., Jàvorka L., Gera I. Comparison of body measurements of Hungarian Grey and Maremman cattle breed.

2005 World Congress of Italian Beef Cattle Breeds, Gubbio, Italy, oral presentation

Maróti-Agóts, Á., Bodó, I., Solymosi, N., és Zöldág, L.: Phylogenetics of the hungarian grey cattle breed based on mitochondrial DNA.

XXV. World Buiatrics Congress, Budapest, Hungary. , 2008 oral presentation

Reiczigel, J., Solymosi, N., Könyves, L., **Maróti-Agóts, Á.**, Kern, A Estimation of the effect of heat stress on milk production.

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Graz, Austria, oral presentation 2008

Horváth, L., Solymosi, N., Kern, A., **Maróti-Agóts, Á.**, és Erdélyi, K.: TETYN: An easy to use tool for extracting climatic parameters from Tyndall data sets.

In World Conference on Agricultural Information an IT, Joint Conference of IAALD, AFITA and WCCA, Tokyo, Japan. 2008 poster

Solymosi, N., **Maróti-Agóts, Á.**, Könyves, L., Kern, A., és Berke, O., Climate change scenarios and the projection of geographic risk for heat stress in hungarian dairy cattle

XXV. World Buiatrics Congress, Budapest, Hungary. 2008 poster

Maróti-Agóts, A., Ratkóczy O., Jávorka L., Szabára L. Bodó I.: Analysis of external characteristics of the native Hungarian Grey Cattle Breed
52th Annual Meeting of the European Association for Animal Production 2001 Budapest, Hungary, poster

Maróti-Agóts, Á., Zöldág, L., Solymosi, N., és Egyed, B.: Effect of different sampling methods on cattle mtDNA phylogenetic studies.
In 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Vilnius, Lithuania., 2008poster

Maróti-Agóts, Á., Bodó, I., Zöldág, L: Phenotypical description of present Hungarian Grey cattle breed by Video Aided Measurement method
59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Vilnius, Lithuania 2008 poster

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Prof. Dr. Zöldág Lászlónak, az Állattenyésztési és Genetikai Osztály vezetőjének, hogy munkám során mindvégig támogatott, és tudományos eredményeim közzétételében segítően közreműködött.

Köszönöm Prof. Dr. Szabó Józsefnek és Dr. Hullár Istvánnak, a SZIE ÁOTK Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet előző és jelenlegi vezetőjének folyamatos figyelmüket, támogatásukat.

A molekuláris genetikai technikákat Bakonyi Tamástól tanultam, aki hallgatóként nagy bizalommal és türelemmel fogadott.

Solymosi Norbert baráti tanácsai a statisztikai és a módszertani fejezetekben jelentettek értékes segítséget.

Közvetlen munkatársaimnak Zenke Petrának, Egyed Balázsnak, Pádár Zsoltnak türelmüket és segítségüket a labormunkában.

Nem utolsósorban köszönöm az Intézet összes munkatársának a kitartó türelmüket.