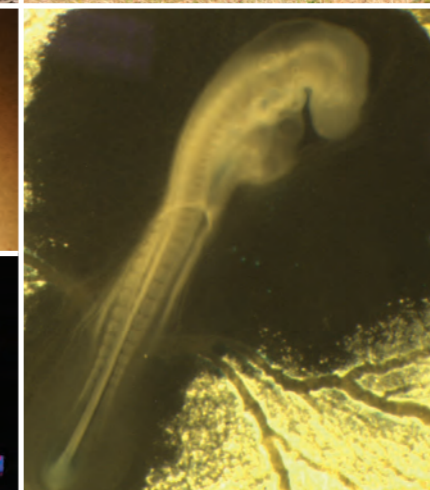
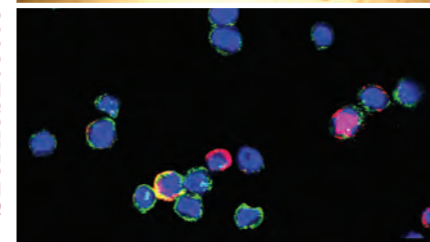
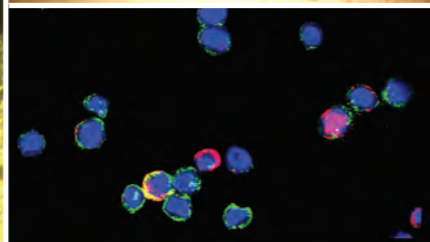
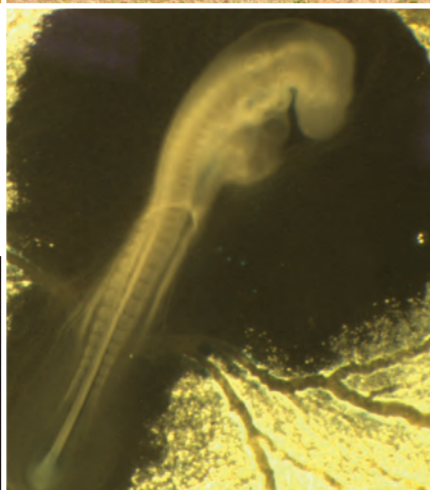
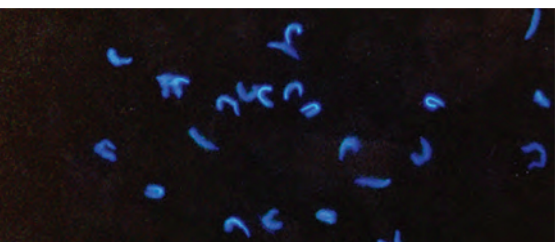




ISBN 978-963-286-729-8



9 789632 867298



**Génbanki kutatások  
régi haszonállataink védelmében**  
Szerkesztette Szalay István



## Génbanki kutatások régi haszonállataink védelmében

Szerkesztette Szalay István

Magyarország nemzetközi szinten is meghatározó szerepet játszik a haszonállat-génmegőrzésben, természeti adottságainknak, a Kárpát-medencében honos, különleges genetikai értéket képviselő fajtáknak és génmegőrző szakembereinknek köszönhetően. Ezt a státuszunkat tovább kívánjuk erősíteni a jövőben is. A hazai génmegőrzés továbbfejlesztésének fő iránya az állami génbankok rendszerének kialakítása, a tevékenységet több évtizede alapfeladatként végző szakintézmények együttműködésében.

Az egymásra épülő in vivo és in vitro – élő állományban és laboratóriumi körülmények között őrzött – génbankok létrehozása és fejlesztése, a génbanki módszerek kutatása és kidolgozása az őshonos, veszélyeztetett fajták és a génmegőrzés rendszerén kívül rekedt ritka fajok és fajták védelmében egy olyan hosszú távú, összetett kutatási koncepció, amelynek eredményei nemcsak hazai, de nemzetközi szinten is hozzájárulnak a biológiai sokféleség és végeredményben a sokszínű mezőgazdasági termelés fenntartásához.

A gödöllői Haszonállat-génmegőrzési Központ (HÁGK) és munkatársai, több szakintézményt képviselő neves kutatókból, szakértőkből, gyakorlati génmegőrző és génmentő szakemberekből álló társszerzőkkel és a Mezőgazda Lap- és Könyvkiadóval karöltve, az említett célok eléréséhez kívánunk segítséget nyújtani a könyvvel. Ezért részletesen foglalkozunk az in vivo és az in vitro génmegőrzés elméletével, a HÁGK és partnerei által végzett, elsősorban a baromfifélékhez kapcsolódó, de egyre inkább minden haszonállatfajra kiterjedő és számunkra új kutatási területeket nyitó elméleti és gyakorlati génbanki munkával és kutatási programokkal itthon, a Kárpát-medencében és külföldön.

A tanulmánykötet összeállításakor szem előtt tartottuk azt is, hogy a könyv a szakemberek mellett a téma iránt érdeklődő, jövőnk agráriumáért tenni akaró valamennyi olvasónk számára nyújtson tudományos és általános ismereteket arról a nagyserű, bár küzdelmes munkáról, melynek eredményét őseink alapozták meg és utódaink fejlesztik tovább, ugyanolyan féltő gonddal és szakmai meggyőződéssel, mint amire mi, a könyv készítői is törekszünk!



# Génbanki kutatások régi haszonállataink védelmében

Szerkesztette Szalay István



## **Génbanki kutatások régi haszonállataink védelmében**

*A tanulmánykötet szerzői*

Babay Gellért

Barna Judit

Barta Ildikó

Bódi László

Bodó Szilárd

Debnár Viktória Johanna

Dobos Attila

Donkó Kata Sára

Eiben Csilla

Emódi Andrea

Fügediné Berényi Ágnes

Gáll Levente

Gócza Elen

Harka Lívია

Hidas András

Hiripi László

Horváth Ákos

Horváth János

Kánya Flórián

Kisné Do thi Dong Xuan

Kollárné Jilly Sára

Koppány Gábor

Kovács Balázs

Kovács Gyula

Köbölkúti Loránd

Lázár Bence

Lehoczky István

Liptói Krisztina

Mátéffy Eszter

Mészáros Mihály

Patakiné Várkonyi Eszter

Pálinkás-Bodzsár Nóra

Rákossy Bocskor Brigitta

Rákossy Zsigmond

Rónyai András

Rövidné Kovács Krisztina

Szalay István

Szalai Tamás

Sztán Nikoletta

Tapuc Loránd

Tari József

Thieu Ngoc Lan Phuong

Urbányi Béla

Váradiné Éva

Végi Barbara

Zajác Edit

Zöld Orsolya

# Génbanki kutatások régi haszonállataink védelmében

**Műhelytanulmányok  
a tudományos génmegőrzés  
tárgyköréből**

*Szerkesztette*

**SZALAY ISTVÁN**



A könyv a Haszonállat-génmegőrzési Központ közreműködésével jelent meg





# Tartalom

Címlapkép: Fotómontázs. Készítette: Thieu Ngoc Lan Phuong és Szalay István

Fejezetképek:

13. oldal: Kárpáti borzderes típusú tenyészbika (Székely Géngyűri Program). Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila
29. oldal: Mokány típusú újszülött bikaborjú (Székely Géngyűri Program). Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila
35. oldal: Magyar tenyészpulyka bakok Észak-Vietnamban. Fotó: Kisné Do thi Dong Xuan
46. oldal: Kakas spermiumok (*Gallus domesticus*). Fotó: Végi Barbara
60. oldal: Házityúk petefészkeinek szövettani képe. Fotó: Liptói Krisztina
64. oldal: Ósivarsejtek vizsgálata immunfestéssel. Fotó: Lázár Bence
81. oldal: A magyar tyúkfajták genetikai távolsága. Készítette: Pálincás-Bodzsár Nóra
92. oldal: Magyar tyúkfajták kakasai a KÁTKI-ban. Fotó: Kisné Do thi Dong Xuan
102. oldal: Ondóminták tárolása folyékony nitrogénben. Fotó: Barna Judit
113. oldal: 3 napos lúdembrió. Fotó: Sztán Nikoletta
123. oldal: Házityúk petefészek. Fotó: Liptói Krisztina
130. oldal: Házilúd 24 órás embrió. Fotó: Liptói Krisztina
134. oldal: Magyar óriás nyúl mélyalmon. Fotó: Eiben Csilla
162. oldal: Drótszőrű magyar vizsla. Fotó: Soóky-Takács Eszter
186. oldal: Viza (*Huso huso*, Linnaeus 1758.). Fotó: Lehoczky István
202. oldal: Pannon méhek. Fotó: Poroszká Magyar Zsolt

© Szalay István, 2017

ISBN 978-963-286-729-8

A Mezőgazda Lap- és Könyvkiadó, 1096 Budapest, Jókai u. 6.  
és a Haszonállat-génmegőrzési Központ, 2100 Gödöllő, Isaszegi út 200. közös kiadása  
Felelős kiadó: dr. Lelkes Lajos és dr. Szalay István  
Felelős szerkesztő: Wenszky Ágnes  
Műszaki vezető: Körösi Andrea  
Megjelent 19,3 ív A/5 ív terjedelemben

716 113/17

<b>BEVEZETŐ GONDOLATOK</b> .....	10
<b>Fajtavédelem és tudományos génmegőrzés</b> .....	10
<b>AZ IN VIVO GÉNMEGŐRZÉS TUDOMÁNYOS ALAPJAI</b> .....	13
<b>Haszonállataink <i>in vivo</i> fajtavédelmi rendszere, a génbanki állományok kialakításának és fenntartásának hagyományos tenyésztési módszerei</b> .....	13
Haszonállat-génmegőrzésünk alapjai .....	14
A haszonállat-géntartálékok fajtavédelmi rendszere.....	14
<i>Génbank (Gene bank)</i> .....	15
<i>Génvédelem (Gene protection)/(Conservation of genetic resources)</i> .....	16
<i>Génmegőrzés (Gene conservation)/(Conservation by management on farm)</i> .....	17
<i>Génmentés vagy fajtamentés (Gene rescue)/(Breed rescue)</i> .....	17
A génmegőrzés szükségessége és módszerei.....	17
<i>A populációméret szerepe a génmegőrzés gyakorlatában.</i> .....	18
<i>Effektív populációméret.</i> .....	19
<i>Beltenyésztettség és populációméret.</i> .....	20
<i>Ivararány.</i> .....	20
A veszélyeztetett fajták megőrzésének hagyományos, populációgenetikai szempontjai	21
<i>Szelekció</i> .....	21
<i>Beltenyésztés</i> .....	22
<i>Random drift (génsodródás)</i> .....	22
<i>Gén- és kromoszómamutációk.</i> .....	23
Új génbanki populációk kialakítása hagyományos tenyésztési módszerekkel .....	24
<i>A fajtavédelem szükségességét meghatározó szempontok.</i> .....	24
<i>Új génbanki populációk mérete.</i> .....	24
<i>Mintavétel induló génbanki program esetén.</i> .....	24
<i>In vivo génbankok kialakításának mintavételi technikái.</i> .....	25
Kis létszámú génbanki populációk fenntartása .....	25
<i>A génmegőrzés alapfeltételei.</i> .....	25
<i>Kis létszámú populációk génbanki tenyésztési stratégiái</i> .....	26
Irodalomjegyzék .....	28

<b><i>In vivo, in situ</i> haszonállat-génmentés a Kárpát-medencében. A Géngyűrű program</b>	29
Nukleusz- vagy magpopulációk rendszerének kialakítása a Kárpát-medencében	30
A Géngyűrű program keretében indított haszonállat-génmentési programok	30
Irodalomjegyzék	34
<b><i>In vivo, ex situ</i> baromfi génmegőrzés. Délkelet-ázsiai mintaprogramok</b>	35
Az <i>in vivo, ex situ</i> génmegőrzési program alapelvei	36
Délkelet-Ázsia – egy lehetséges régió az <i>ex situ</i> baromfi génmegőrzésre	37
Magyar-vietnami-laoszi együttműködés a „Kutatás a Fejlesztésért” (R&D) területén	38
A magyar baromfifajták délkelet-ázsiai <i>ex situ, in vivo</i> génmegőrzési programjainak eredményei	39
Az adaptációs eredmények értékelése és tanulságai	41
Irodalomjegyzék	43
<b>AZ IN VITRO GÉNMEGŐRZÉS TUDOMÁNYOS ALAPJAI</b>	46
<b>Génmegőrzés a hím szaporítóanyag hosszú távú tárolásával</b>	46
Sejtek, szövetek, szervek mélyhűtéses konzerválásának alapjai	47
A hím szaporítóanyag hosszú távú tárolása	49
Irodalomjegyzék	57
<b>Génmegőrzés ivarszervszövet-átültetés segítségével</b>	60
Irodalomjegyzék	62
<b>Génmegőrzés embrionális sejtek segítségével</b>	64
A különböző embrionális sejtípusok kialakulása	65
Korai embrionális sejtek felhasználásának lehetőségei a génmegőrzésben	67
<i>Az embrionális sejtek hosszú távú tárolása szövettenyésztésben</i>	67
<i>Az embrionális sejtek hosszú távú tárolása mélyhűtéssel</i>	68
<i>Kimérák előállítása</i>	68
<i>A recipiens embrió fejlődési erélyének csökkentése</i>	71
Ősivarsejtek (PG-sejtek) felhasználásának lehetőségei a génmegőrzésben	72
<i>Ősivarsejtek izolálásának és injektálásának időzítése</i>	72
<i>Ősivarsejtek elválasztása és felszaporítása</i>	73
<i>Ősivarsejtek hosszú távú fenntartása in vitro sejtenyésztésekben</i>	74
<i>Ősivarsejteken alapuló génbanki megőrzés lehetőségei</i>	74
Irodalomjegyzék	75
<b>Fajtavédelem és génmegőrzés molekuláris genetikai markerekkel</b>	81
Molekuláris genetikai markerek és detektálásuk	82
<i>Markervizsgálatok tervezése</i>	83
Markervizsgálatok eredményeinek értékelése és a nyújtott információk	83

<i>Mitochondriális DNS</i>	83
<i>Mikroszatellit markerek</i>	84
<i>SNP-markerek</i>	86
<i>Az eredmények felhasználása markertípusok szerint</i>	86
Az eredmények felhasználása a génmegőrzésben	87
<i>Unikális allélek</i>	87
<i>Markereken alapuló génmegőrzés állományon belül</i>	88
<i>Vérfrissítés és diverzitásvizsgálat</i>	89
<i>Eredetbiztosítás</i>	89
Irodalomjegyzék	90

## **BAROMFIFAJTÁINK GÉNANKI MEGŐRZÉSE** . . . . . 92

<b>Az <i>in vivo</i> baromfi génbankok kialakulása és a régi magyar baromfifajták</b>	92
A baromfi-génmegőrzési programok kezdete és az <i>in vivo</i> génbankok kialakulása Magyarországon	93
A régi magyar baromfifajták ismertetése	96
<i>A magyar és az erdélyi kopasz nyakú tyúkfajták</i>	96
<i>A régi magyar pulykafajták</i>	98
<i>A gyöngytyúk</i>	99
<i>A magyar lúd</i>	99
<i>A magyar kacska</i>	100
Irodalomjegyzék	100

<b>Az ondósejtek hosszú távú tárolása, a hím ivari anyag megőrzése</b>	102
Baromfifélék hímivarsejtjeinek mélyhűtéses tartósítása	103
<i>A házi tyúk spermiumainak mélyhűtéses tartósítása</i>	103
<i>A gyöngytyúkspermiumok mélyhűtéses tartósítása</i>	105
<i>A pulykaspermiumok mélyhűtéses tartósítása</i>	107
<i>A lúdspermiumok mélyhűtéses tartósítása</i>	107
<i>A kacsaspermiumok mélyhűtéses tartósítása</i>	109
Irodalomjegyzék	110

<b>Mindkét ivar megőrzése embrionális sejtek segítségével különböző baromfifajokban</b>	113
Blasztodermális sejtek mélyhűtésének tapasztalatai különböző baromfifajokban (őshonos házityúk-fajták, réz- és bronzpulyka, házi lúd és gyöngytyúk)	114
Kimérák előállítása blasztodermális sejtek injektálásával házi tyúk-, pulyka- és házilúd-fajokban	115
PG-sejtek átültetésén alapuló ivarszervi kiméraelőállítás házityúk-fajban (a sejtek kinyerése, tenyésztése, mélyhűtése, jellemzése és visszaültetése), mint a génbanki megőrzés egyik alternatívája	118
Irodalomjegyzék	120

<b>A naposkori ivarszervszövet-átültetés, mint a nőivar megőrzésének alternatív módszere baromfiban</b> .....	123
Baromfi <i>in vitro</i> génmegőrzés ivarszervszövet-átültetés segítségével .....	124
Irodalomjegyzék .....	129
<b>Termékenység-ellenőrző eljárások</b> .....	130
Irodalomjegyzék .....	133
<b>TOVÁBBI FONTOSABB KISÁLLATFAJOK ÉS -FAJTÁK GÉNMEGŐRZÉSE</b> .....	134
<b>A házi nyúl génmegőrzése</b> .....	134
Az üregi és a házi nyúl génmegőrzésének jelentősége .....	135
<i>Domesztikáció</i> .....	135
<i>Az üregi és a házi nyúl hasznosítása</i> .....	136
<i>Fajtavédelem, génmegőrzés</i> .....	138
<i>In vivo</i> nyúl génbank a HÁGK-ban: Az őshonosként védett magyar óriás fajta .....	140
<i>A magyar óriás nyúl kialakulása</i> .....	140
<i>A magyar óriás nyúl génbanki megőrzésének és kutatásának indokai</i> .....	143
<i>Magyar óriás nyúl nukleuszállomány és génbanki kutatás a HÁGK-ban</i> .....	143
A házi nyúl <i>in vitro</i> génmegőrzése: ondó/petefészkek/petesejt/embrió hosszú távú tárolása .....	148
<i>Ondósejt</i> .....	148
<i>Petefészkek, petesejt</i> .....	149
<i>Embrió</i> .....	150
Molekuláris genetikai markerek és genomvizsgálatok házi nyúlön .....	152
Irodalomjegyzék .....	154
<b>Nemzeti kutyafajtáink tenyésztése, génmegőrzése</b> .....	162
Magyar terelő- és pásztorkutyák .....	163
<i>A komondor</i> .....	163
<i>A kuvasz</i> .....	164
<i>A puli</i> .....	165
<i>A pumi</i> .....	167
<i>A mudi</i> .....	169
<i>A sinka</i> .....	170
A magyar őrző és terelő pásztorkutyák munkája .....	171
<i>A komondor és a kuvasz, mint őrző fajták</i> .....	171
<i>Magyar terelőkutyafajták használati értékmegőrzése napjainkban</i> .....	173
A magyar vadászkutyák és használatuk .....	174
<i>A rövidszőrű magyar vizsla</i> .....	174
<i>A drótszőrű magyar vizsla</i> .....	175
<i>Magyar vizsla a minden vadászkutya: A magyar vizslák használata</i> .....	176

<i>A magyar agár</i> .....	177
<i>Az erdélyi kopó</i> .....	178
A magyar kutyafajták tenyésztése és <i>in vivo</i> génmegőrzése .....	180
<i>A tenyésztés kezdetei</i> .....	180
<i>Jelenlegi helyzet</i> .....	180
<i>Javaslatok</i> .....	181
A magyar kutyafajták <i>in vitro</i> génbanki megőrzése .....	182
<i>Spermagyűjtés és -mélyhűtés</i> .....	182
<i>DNS-vizsgálatok</i> .....	183
Irodalomjegyzék .....	184
<b>Őshonos haszonhal-fajaink és halfajtáink genetikai erőforrásainak megőrzése</b> .....	186
A hal génmegőrzés szükségessége .....	187
Őshonos haszonhalaink génmegőrzése <i>ex situ</i> , <i>in vivo</i> és <i>in vitro</i> módszerekkel .....	189
<i>A ponty génmegőrzése</i> .....	189
<i>A tokfélék génmegőrzése</i> .....	192
<i>A sebes pisztráng génmegőrzése</i> .....	193
<i>A hazai hal génmegőrzés jövőképe: kétpólusú génmegőrzés a compó, a széles kárász, a harcsa és a süllő genetikai erőforrásainak megőrzésére</i> .....	195
Irodalomjegyzék .....	198
<b>A pannon méh (<i>Apis mellifera carnica pannonica</i>) hazai génmegőrzése</b> .....	202
A pannon méh génmegőrzésének jelentősége .....	203
A mézelő méhek genetikája .....	206
<i>Molekuláris genetikai markerek és genomvizsgálatok méheknél</i> .....	207
A pannon méh <i>in vivo</i> génmegőrzése .....	208
<i>A pannon méh tenyésztési programja</i> .....	209
<i>A mézelő méh párzásbiológiája</i> .....	210
<i>A méhanya mesterséges termékenyítése</i> .....	210
A pannon méh <i>in vitro</i> génmegőrzése .....	211
Irodalomjegyzék .....	212

# Bevezető gondolatok

## Fajtavédelem és tudományos génmegőrzés

A biodiverzitás és ezen belül az agrobiodiverzitás drasztikus csökkenése világméretű probléma. 1992-ben, a Rio de Janeiroban kidolgozott *Biológiai Sokféleség Egyezmény*ben nemzetközi szinten először tűzték ki célul minden élőlény és élő rendszer fennmaradását, a földi élet valamennyi formájának egyetemes védelmét. A biológiai változatosság ugyanis egyaránt megjelenik komponenseinek ökológiai, genetikai, tudományos, oktatási, szociális, gazdasági, kulturális és esztétikai értékeiben.

A mezőgazdaságban az intenzív tartási rendszerek igényeinek megfelelő genotípusok kiszorították az őshonos, kisebb termelési képességű fajtákat, amelyek fennmaradása ma már elképzelhetetlen génbankok nélkül. Az *in vivo* és *in vitro* génmegőrzés nem csak a túlélést jelenti a régi fajták számára, hanem egy olyan genetikai bázist is képvisel, amely a jövő agráriumának záloga.

Magyarország a XX. század második felétől nemzetközi szinten is meghatározó szerepet játszik a haszonállat-génmegőrzésben, természeti adottságainknak és a Kárpát-medencében honos, különleges genetikai értéket képviselő fajtáknak köszönhetően. Ezt a státuszunkat erősíteni kívánjuk a jövőben is. A hazai génmegőrzés további fejlesztésének fő iránya az állami génbankok rendszerének kialakítása, a tevékenységet több évtizede alapfeladatként végző szakintézmények együttműködésében. A génmegőrzés rendszerében a piramis csúcsát jelentő génbankok a fajták genetikai diverzitásának teljes körű megőrzését szolgálják egymásra épülő *in vivo* (élő állatok állományaiiban) és *in vitro* (laboratóriumi körülmények között) formában. Mindkét génbanki forma egyidejű fejlesztése szükséges ahhoz, hogy a ritka egyedek, populációk és fajták eredeti génkészlete a lehető legteljesebb módon, biztonságosan megőrizhető legyen. Ennek eredményeként a különleges genetikai értéket képviselő génbanki egyedek és állományok megjelennek a kutatásban, az oktatásban, a vidékfejlesztési programokban és közvetlenül a tenyésztésben is, megfelelő szakmai háttérrel nyújtva a génmegőrzésben résztvevő szervezetek munkájához, állattartási hagyományaink őrzéséhez, bemutatásához, népszerűsítéséhez és a régi fajtákra alapozott, különleges hazai termékek, hungarikumok előállításához.

A génmegőrzés a kapcsolódó kutatások nélkül nem működhet megfelelően. A fajok, fajták, egyedek kiválasztása, a populációméret meghatározása, a biológiai anyagok begyűjtése, a tárolás módszereinek meghatározása és folyamatos fejlesztése azok a legfontosabb feladatok, amelyek hatékony ellátásához populációgenetikai, molekuláris biológiai és szaporodásbiológiai vizsgálatok szükségesek. Az *in vivo* génbankok létrehozása és fejlesztése, valamint az *in vitro* génbanki módszerek kutatása és fejlesztése az őshonos, veszélyeztetett, illetve ritka fajok és fajták esetében egy olyan hosszú távú, összetett kutatási koncepció, amelynek eredményei nemcsak hazai, de nemzetközi szinten is hozzájárulnak a biológiai sokféleség és végeredményben a sokszínű mezőgazdasági termelés fenntartásához.

A gödöllői Haszonállat-génmegőrzési Központ (HáGK) alaptevékenységként végzi régi fajtáink tenyésztésben történő génbanki megőrzését, a génmegőrzéshez kapcsolódó kutatási, oktatási és vidékfejlesztési tevékenységet. Ennek keretében kidolgozta a fajtavédelem gyakorlati végrehajtásának rendszerét, ami az egymást feltételező génbank-génvédelem-génmegőrzés hármas egységét a Kárpát-medencében még megvalósítható génmentés (fajtamentés) fogalmával egészítette ki.

A fajtavédelem rendszerének gyakorlati megvalósítása meghatározó jelentőségű a régi fajták hosszú távú megőrzése szempontjából. A kis létszámú génbanki állományok biztonságosan csak állami keretben tarthatók fenn, speciális genetikai és szaporítási programok alkalmazásával. Kialakításuk hosszabb folyamat, ezért elsősorban a különösen veszélyeztetett (néhány 100 tenyészállatból álló) fajták megőrzésének meghatározó eleme. A génbanki állományok genetikai mintái, ivarsejtjei, embriói folyékony nitrogénben sok évig tárolhatók (*in vitro* génbankok), és ezekből az élő állatok reprodukálhatók, bár ennek hatékonysága fajonként különböző. A HáGK az *in vivo* – állatállományok tenyésztésében végzett – génbanki munka mellett hosszú évek óta foglalkozik *in vitro* – laboratóriumi körülmények között végzett – génmegőrzéssel, az örökítő- és szaporítóanyag gyűjtésével és tárolásával, a genetikai minták molekuláris genetikai vizsgálatával, kitüntetetten az őshonos fajok, fajták populációiban. Az *in vitro* mélyhűtéses tárolás és a genetikai diverzitás DNS szintű molekuláris genetikai vizsgálata fajtaazonosítási, tenyésztési, génmegőrzési és kutatási célt egyaránt szolgál, és valamennyi állatfajban hasonló szakmai felkészültséget, technikai és laboratóriumi háttérrel igényel. Az *in vivo* génbanki állományokból és *in vitro* mélyhűtött örökítő- és szaporítóanyagból (*génbank szintje*) egy fajta biztonságosan felszaporítható és termelő állománnyá alakítható (*génvédelem és génmegőrzés szintje*).

A *génmentés* lehetősége a Kárpát-medence sajátosságaiból adódik. Sok régi tájfajta és eredeti fajtaváltozat Magyarország jelenlegi határain kívül maradt fenn, pl. a mokány, a kárpáti borzderes és a csángó tarka szarvasmarha, a székely ló, a hegyi berke változatok, a szálas juh és kecske, baromfi ökotípusok és tájfajták vagy a nyájakat őrző hegyi kalibakutyák. A HáGK ezek megmentésére dolgozta ki és kezdte el a Géngyűri programot, melynek célja, hogy először az eredeti élőhelyen, majd itthon génbanki állományokat, fajtatenyészeteket hozzunk létre, kutassuk és kidolgozzuk génbanki megőrzésük módszereit.

Könyvünk a Haszonállat-génmegőrzési Központban folyó génbanki kutatásokról és azok eredményeiről kíván egy átfogó képet nyújtani a szakmai olvasóközönség számára azzal a céllal, hogy bemutassuk régi haszonállatfajtáinkban rejlő nemzeti értékeinket és a védelmük érdekében alkalmazott és alkalmazható hagyományos és új kutatási, tenyésztési, fajtavédelmi eljárásokat és módszereket. Ennek érdekében a könyv egyes fejezetei részletesen foglalkoznak az *in vivo* és az *in vitro* génmegőrzés elméletével, a HáGK és a jogelőd intézmények elsősorban baromfi-félékhez kapcsolódó gyakorlati génbanki munkájával és kutatási programjaival itthon és külföldön. A HáGK kibővített feladatai indokolják, hogy bemutassuk Kárpát-medencei génmentési programjainkat, amelyek több haszonállatfajra kiterjednek és új kutatási területeket nyitnak. Részletesen foglalkozunk továbbá egyes veszélyeztetett kisállatfajok és -fajták tudományos génmegőrzésének és génbanki kutatásának szükségességével, a magyar óriás nyúlól a magyar kutyafajtákon és halfajokon keresztül a mézelő méhig.

Könyvünkben felhasználtuk a Földművelésügyi Minisztérium támogatásával a HáGK alaptevékenységként végzett génmegőrzési és génbanki kutatómunka egyes eredményeit,

továbbá korábbi Magyar-Vietnami TÉT és a külügyi tárca által finanszírozott NEFE pályázatok, a HÁGK részvételével teljesített hazai konzorciumi kutatási pályázatok (NKTH-ANR-TET\_09-1-2010-0004, Cryobird; KTIA\_AIK\_12-1-2013-0002; AGR\_Piac\_13-1-2013-0031) és egy jelenleg folyó EU kutatási pályázat (Horizon 2020 - IMAGE No 677353) részeredményeit is. A projektek támogatásáért ezúton is köszönetet mondunk a fenntartó Földművelésügyi Minisztériumnak, az érintett főhatóságoknak, pályázatkezelő és -finanszírozó szervezeteknek. Könyvünk megjelenését az ÚMVP 214C intézkedés keretében meghirdetett tájékoztatási célfeladat finanszírozása tette lehetővé.

Különös aktualitást ad könyvünknek, hogy a szerkesztés időszakában indul egy pályázati kutatási program (VEKOP-2.3.2-16-2016-00012), melyet a HÁGK vezetésével, a NAIK Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézete, a Szent István Egyetem Halgazdálkodási Tanszéke és az Állatorvos-tudományi Egyetem Állattenyésztési, Takarmányozási és Laborállat-tudományi Tanszéke munkatársaival közösen dolgoztunk ki és nyertünk rá támogatást a következő négy évre. A program címe: „*A Kárpát-medencei őshonos haszonállatfajok, -fajták és -ökotípusok XXI. századi génbanki stratégiájának tudományos megalapozása és fejlesztése*”. Fenti program mellett kutatási együttműködést kezdeményeztünk Délkelet-Ázsiában egy TÉT pályázat keretében vietnami partnereinkkel a kacsatenyésztés, a haltenyésztés és az akvakultúra biológiai alapjainak és génmegőrzési vonatkozásainak közös tanulmányozására. A konzorcium tagjai magyar részről a HÁGK mellett a Szent István Egyetem Halgazdálkodási Tanszéke és a NAIK Haltenyésztési Kutatóintézete. Konzorciumi partnereink kutatói is részt vettek egyes fejezetek megírásában, így ebben a kiadványban is bemutatjuk közös kutatásaink elméleti alapjait.

A tanulmánykötet összeállításakor szem előtt tartottuk azt is, hogy a könyv a szakemberek mellett a téma iránt érdeklődő, jövőnk agráriumiáért tenni akaró valamennyi olvasó számára nyújtson tudományos és általános ismereteket régi haszonállatfajtáinkról, megőrzésük lehetőségeiről és módszereiről, és arról a nagyszerű, bár küzdelmes munkáról, melynek eredményét őseink alapozták meg és utódaink fejlesztik tovább, ugyanolyan féltő gonddal és szakmai meggyőződéssel, mint amire mi is törekszünk!

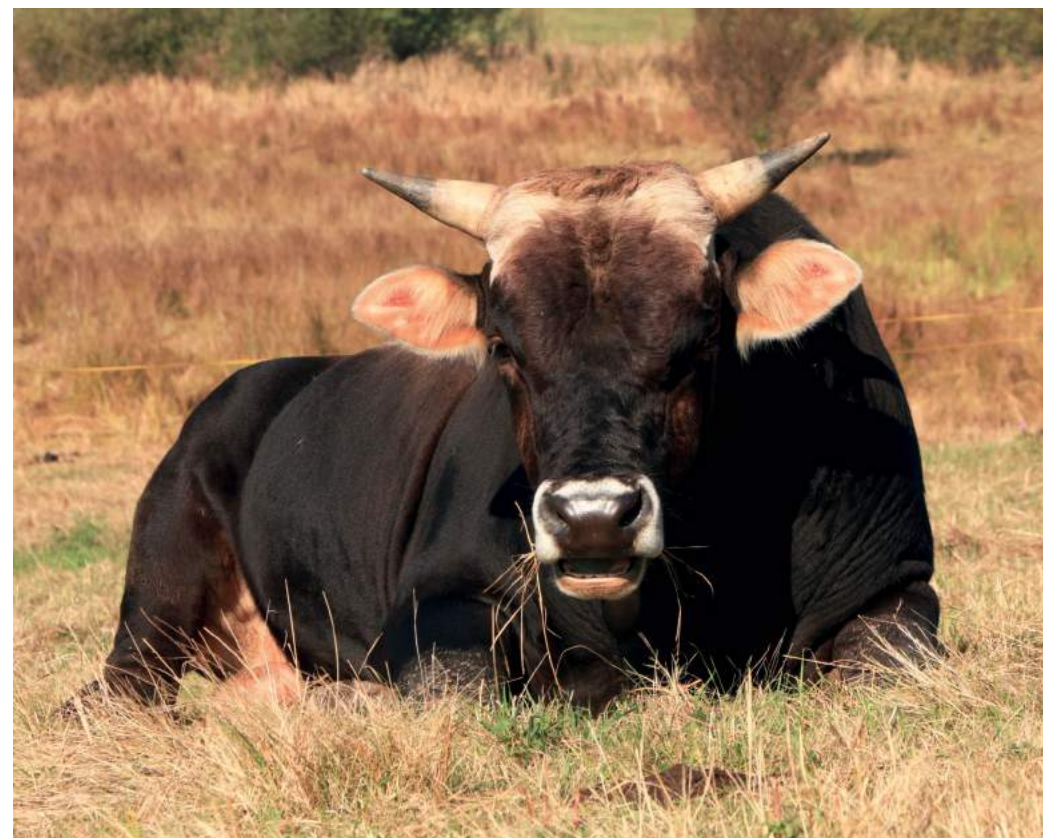
Kelt Gödöllőn, 2017. április (Szent György) havában

*A könyv szerzői*

# Az *in vivo* génmegőrzés tudományos alapjai

## Haszonállataink *in vivo* fajtavédelmi rendszere, a génbanki állományok kialakításának és fenntartásának hagyományos tenyésztési módszerei

SZALAY ISTVÁN – KOPPÁNY GÁBOR





## Haszonállat-génmegőrzésünk alapjai

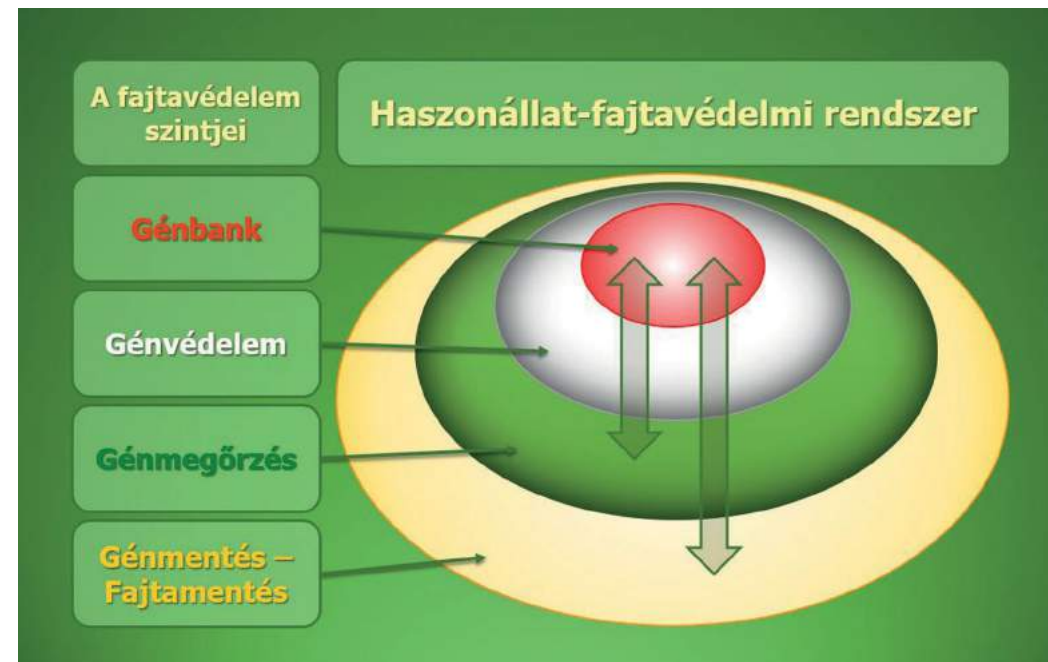
Magyarország világviszonylatban is kiemelkedő szerepet lát el a haszonállat-génmegőrzésben, ami a Kárpát-medencében kialakult, őseink által ide behozott, majd később itt honosodott – régies szóhasználattal: a magyar rög hatására magyarrá vált – fajták, fajtaváltozatok és tájfajták (ökotípusok) nagy számának köszönhető. A XX. századi és azt megelőző, a családok, közösségek önellátását jelentő paraszti életforma változásával és a külföldről behozott, nagy teljesítményű fajták elterjedésével a régi fajták jelentősége fokozatosan csökkent. A hazai fajták nemesítése helyett a gyakorlatban gyorsabb eredményt hozó, idegen fajtával végzett keresztezésekkel állítottak elő terméket, ezért sok fajtánk elvesztette ősi tulajdonságainak egy részét, és eredeti állapotban csak elszigetelt helyeken maradhatott fenn. Az iparszerű állattenyésztésben használt külföldi hibridek elterjedése különösen a helyi sertés- és baromfifajtákat érintette károsan, de az eredeti funkciójukat vesztett haszonállatfajok (ló, szamár, kutya) fajtáinak létszáma is rohamosan csökkent. Ráadásul a II. világháború szinte minden régi fajtát a kipusztulás szélére sodort.

Néhány neves szakembernek és több helyi tenyésztőnek köszönhető, hogy ezt a folyamatot fölismerve a legveszélyeztetettebb fajtákból fajtatiszta tenyészállományokat hoztak létre eredeti élőhelyükön, melyek nemesítésére, majd génvesztés nélküli megőrzésére saját tenyésztési programokat alakítottak ki. Ez jelenti hazai haszonállat-génmegőrzésünk alapját. Függetlenül attól, hogy az 1990-es évektől a génmegőrzési feladatok végrehajtása civil szervezetekhez (egyesületek, szövetségek) került, a régi fajták tenyészeteinek kialakításában és fenntartásában a magyar állam intézményei a mai napig meghatározó szerepet látnak el (tenyésztő hatóság, ménesgazdaságok, nemzeti parkok, egykori agrár-felsőoktatási és kutatási intézmények jogutódai: pl. Debrecen, Mosonmagyaróvár, Hódmezővásárhely, Gödöllő). Hagyományosan ebbe az intézményi körbe tartozik a 120 éves gödöllői Haszonállat-génmegőrzési Központ is, melyet a jogelődök XX. századon átívelő, kiemelkedő génmegőrzési, fajtavédelmi és tenyésztési tevékenységére alapozva hozott létre a mezőgazdasági tárca 2010. november 1-i hatállyal.

### A haszonállat-géntartalékok fajtavédelmi rendszere

Régi haszonállataink védelmének XX. század végére kialakult fogalmkörében a haszonállat-géntartalékok védelmét általában génmegőrzésnek, esetenként génvédelemnek neveztük (Bodó, 1991). Több javaslat született a hazai szakirodalomban előforduló, különböző elnevezések egységesítésére, új fogalmak, így az egymásra épülő, zárt egységként kezelt *génbank-génvédelem-génmegőrzés* bevezetésére, igazodva a haszonállat-géntartalékvédelem gyakorlati igényeihez. Ezt a zárt rendszert nyitotta meg és egészítette ki a *génmentés* fogalma (Bodó, 2011; Cserhátiné Kovács és munkatársai, 2011; Szalay és munkatársai, 2012), ami a Kárpát-medencei géntartalék-védelemben elsősorban fajtamentésként értelmezhető.

A géntartalékok teljes védelmi rendszerének célja a haszonállatok genetikai erőforrásának, sokféleségének megőrzése, fenntartása, gyűjtése, védelme, nyilvántartása, hasznosítása és a megőrzött fajták visszajuttatása eredeti élőhelyükre. A védelmi rendszeren belül a *haszonállat-fajtavédelmi rendszer* elsősorban az *in vivo* génmegőrzésre alkalmazható elnevezés,



1. ábra. A haszonállat-géntartalékok fajtavédelmi rendszere

amelyben a génmegőrzés egymásra épülő alrendszerei (génbank–génvédelem–génmegőrzés) kiegészülnek a mentésre szoruló fajták, tájfajták, ökotípusok génmentésével úgy, hogy az egyes alrendszerek között szakmailag indokolható átjárhatóság maradjon mindkét irányba. Az alrendszerek közti átjárhatóság a gyakorlatban úgy valósul meg, hogy a génmentésből/fajtamentésből származó egyedekből génbanki nukleuszpopulációkat hozunk létre, melyek későbbi felszaporításával (a felszaporításban ténylegesen résztvevő tenyészállat-létszámuk növelésével) a fajták átkerülhetnek a génvédelem, majd a génmegőrzés szintjére is. Végeredményben egy fajtavédelmi program akkor sikeres, ha a fajta visszakérül eredeti élőhelyére, a termelésbe, a fajtavédelmi rendszer pedig tenyésztési, fajtafenntartó háttérként működik tovább.

Az alrendszerek közti átjárhatóság természetesen nem lehet egyirányú, a fajták teljes génkészletének hosszú távú fenntartása igényli azt is, hogy időnként – pl. génmentés keretében – arra alkalmas egyedekkel, kisebb populációkkal frissítsünk egy génbanki állományt és ezen keresztül a fajtavédelem minden szintjét (1. ábra).

A fent említett fogalmakkal jellemzett géntartalékvédelmi (fajtavédelmi) tevékenység gyakorlati végrehajtásának rövid összefoglalását az alábbiakban ismertetjük.

#### Génbank (Gene bank)

A génbank célja a haszonállatok (fajok, fajták, típusok, változatok, populációk) genetikai információs készletének megőrzése. A géntartalékvédelmi (fajtavédelmi) rendszer alapját a génbankok képezik, melyek biztonságosan és hosszú távon elsősorban állami tulajdonként, erre alkalmas szakintézményekben őrizhetők, jogszabályban rögzített módon, nemzeti költség-

vetésből. A génbanki tenyésztési programokat a génbanki alrendszer fenntartó állam határozza meg. Módszerei:

- *in vivo* (élő állapotban), *in situ* (saját eredeti élőhelyén, hagyományos módon) vagy *ex situ* (nem az eredeti élőhelyen, mesterséges körülmények között) tartott génbanki egyedek és/vagy állományok,
- *in vitro* (laboratóriumi körülmények között, mélyhűtve) tárolt szaporító- vagy örökítő anyag.

Hatékony génbanki alrendszer az *in vivo* és *in vitro* módszerek együttes használatával hozható létre. Az *in vivo* génbankok kialakítása különösen olyan fajok és fajták esetében elengedhetetlen, amelyek:

- szaporítóanyagai ma még nem alkalmasak mélyhűtéses tárolásra vagy ennek technológiája nem kellően kidolgozott (pl. baromfifajok, sertés, nyúl, kecske);
- különösen veszélyeztetett (kritikus helyzetű) fajták (az összes regisztrált nőivarú egyed száma <1000, és/vagy az effektív populációméret <100), és/vagy a fajtatizta tenyészetek száma <10;
- parlagi állományként még létező fajták, tájfajták, ökotípusok begyűjtésével létrehozott génbanki állományok, melyek tenyésztési programjának kialakítása és felszaporítása csak központi génbanki rendszerben biztonságos.

A mélyhűtve, *in vitro* tárolt genetikai anyag kötelező, meghatározott időközönként ismételt mintavételével és tárolásával párhuzamosan *in vivo* génbanki állományokat is fenn kell tartani a tenyésztési piramis csúcsaként annak érdekében, hogy a természetes szelekciónak legyen alapja, továbbá – a génbanki állomány felszaporításával – a génvédelmi és génmegőrzési (génhasznosítási) szint állományai is génbanki tenyésztésre épülhessenek.

Az *in vitro* génbankok a mintavételre kijelölt egyedek szaporító- (sperma, petesejt, embrió, PGC sejtek) és örökítőanyagainak (általában sejt- és szövetminták) visszanyerésére alkalmas, mélyhűtve tárolt mintáit, továbbá a mintavételbe vont élő egyedek, állományok, populációk mintákhoz kapcsolt, jellemző adatainak rögzítését, fotó-, video és nyomtatott adatbázisaik kialakítását jelentik.

Az *in vivo* és *in vitro* génbankok mellett megemlíthetjük az *in libro* tevékenységet is, amely a fajtavédelmi rendszer valamennyi szintjére – így a génbankok kialakítására és megőrzésére is – kiterjedő, nyomtatásban megjelent írásos vagy képes archív adatok feldolgozását, dokumentálását jelenti.

### **Génvédelem (Gene protection)/(Conservation of genetic resources)**

Célja a haszonállatfajták *génbanki értékű* állományainak fenntartása és szaporítása természetes, élő állapotban, *in vivo* módszerrel, a genetikai alapok változása nélkül, az eredeti, vagy az eredetihez hasonló tenyésztési és tartási feltételek szerint (*in situ*). Ide tartozik a tenyésztésben fenntartott fajtatizta egyedek, nukleusz- és fajtafenntartó állományok nagyobb része.

A génvédelem a fajtavédelmi rendszer második, a tenyésztő szervezetek által irányított és a tenyésztési hatóság által felügyelt szintje. A génvédelem keretében kezelt és tenyésztésben fenntartott fajtatizta egyedek és állományok a biztonságos fajtavédelem és fajtahasznosítás alapját jelentik. A tenyésztés során csak megtartó szelekció végezhető. Emiatt ezek az állományok támogatásra szorulnak. Fenntartásukban részt vesznek költségvetési intézmények, nem-

zeti parkok, helyi vállalkozások, családi gazdaságok. A hatóság által jóváhagyott tenyésztési programok végrehajtását a tenyésztő szervezetek irányítják és felügyelik.

### **Génmegőrzés (Gene conservation)/(Conservation by management on farm)**

A génmegőrzési alrendszer célja a fajtatiztán megőrzött haszonállatok továbbszaporítása és hasznosítása árutermelésre, adott esetben haszonállat-előállító keresztezésre, a fajtavédelem alapvető szempontjainak figyelembevételével. Magában foglalja az állomány eredetiségének megtartását, helyreállítását (ha szükséges), hasznosítását (pl. élelmiszer- vagy ruha alapanyag, igáztatás) és létszámának vagy minőségének fejlesztését termelés közben.

Megfelelő génbanki és génvédelmi-tenyésztési háttérrel régi haszonállatfajtáink kiemelten három területen hasznosíthatók a termelésben: (1) A fenntartható, ökológiai szemléletű gazdálkodásban, (2) a különleges minőségű, a Kárpát-medencére jellemző hungarikum termékek előállításában, valamint (3) a kulturális értékek hasznosításában és az idegenforgalomban (Bodó és Szalay, 2007; Szalay és Kovácsné Gaál, 2008). Mind a három területen többségében a nemzeti parkok és az erre kijelölt szakintézmények mellett elsősorban helyi vállalkozások és családi gazdaságok működnek, így ezek támogatásával az őshonos haszonállat-állományok termék-előállítási célú fejlesztése is megoldható. A támogatott programokba bevonhatók helyi önkormányzatok és kistérségi szervezetek, mellyel akár szociális, akár helyi vagy kistérségi szempontok is érvényesülhetnek a termékek előállítása és kereskedelmének kialakítása során.

### **Génmentés vagy fajtamentés (Gene rescue)/(Breed rescue)**

A génmentés (fajtamentés) a géntartalék-védelmi rendszer fontos kiegészítő eleme, melynek célja, hogy haszonállataink minden megőrzendő, értékes öröksége (kritikusan veszélyeztetett fajta, tájfajta, típus, ökotípus, változat, egyedi populáció, különleges tenyészállat vagy akár egy-egy rögzült, jellemző tulajdonság) eredeti formájában fennmaradjon a fajtavédelmi rendszer keretében, annak bármelyik szintjén. Módszerei:

- *Génbanki génmentés*: Magában foglalja a védelem alatt nem álló, veszélyeztetett, értékes génállományok felkutatását és bevitelét génbanki megőrzésbe.
- *Génvédelmi génmentés*: Magában foglalja az eredeti élőhelyen, természetes körülmények között még fellelhető parlagi állományok felkutatását, a helyszínen *in situ* védelmét és adott esetben bevitelét a tenyésztésben fenntartott, azonos fajtatizta állományokba (vérfrissítés) a jellemző, természetes tulajdonságok fenntartása érdekében.
- *Génmegőrzési génmentés*: Elősegíti, hogy a rendszerben nem szereplő, védelem alatt nem álló genetikai értékek – helyi fajta, tájfajta, fajtaváltozat, fajtatípus – köztenyésztésben maradjanak, önellátásra, illetve árutermelésre (elsősorban helyi piacokon) hasznosíthatók legyenek.

### **A génmegőrzés szükségessége és módszerei**

A *fajták vagy populációk (géntartalékok) védelmével* a köztenyésztésből kiszorult és veszélyeztetett fajták vagy populációk fenntartása a célunk, az eredeti fajtára vagy populációra

jellemző, genetikailag meghatározott tulajdonságok lehető legteljesebb körű megőrzésével. A génmegőrzési program tervezése során tisztázunk kell, hogy géneket vagy fajtákat kívánunk-e megőrizni, hiszen a génmegőrzés e két változatának kivitelezése sok esetben más-más eljárást igényel. Fejezetünkben a génbankok kialakításának fontosabb, hagyományos populációgenetikai elveit és módszereit ismertetjük. Az elmúlt évtizedekben szinte egyeduralgokká vált molekuláris genetikai módszerek génmegőrzési alkalmazásaival egy későbbi fejezet részletesen foglalkozik, megjegyezzük azonban, hogy a hagyományos és a DNS-alapú tenyésztési-génmegőrzési módszerek együttes alkalmazása lehet valóban hatékony egy kis létszámú génbanki populáció kialakításában és fenntartásában. A fejezet összeállításánál során több esetben támaszkodtunk *Henson (1992)* munkájára, ezért őt itt kiemelten idézzük.

### A populációméret szerepe a génmegőrzés gyakorlatában

A köztenyésztésből kiszorult, géntartalékként fenntartott haszonállatfajták veszélyeztettségét elsősorban a kiinduló populáció heterozigóta egyedeinek aránya (genetikai diverzitása), a populáció mérete, a populáció méretének változása, ezen belül a hím- és nőivarú tenyészállatok száma és aránya (ivararány) határozza meg. Minél nagyobb egy kiinduló populáció létszáma, minél szűkebb az ivararány, minél lassabb ütemű a populáció létszámának csökkenése, annál nagyobb a populációban a heterozigóták aránya és annál valószínűbb, hogy a populáció nagyobb genetikai változás nélkül, azaz az eredeti genetikai diverzitás nagyobb részének megőrzésével fenntartható. Ennek további feltétele bizonyos – elsősorban az additív génhatások által meghatározott – tulajdonságok populáció szintű változtatását előidéző szelekció kizárása és a fajtafenntartás során fellépő, véletlenszerű génsodródás (drift) minimális szintre csökkentése. Ez utóbbi a gyakorlatban több, egymástól független részpopuláció (tenyészet) kialakításával érhető el. Az említett feltételek figyelembevételével a beltenyésztés elkerülhető és a heterozigóták aránya fenntartható viszonylag kis létszámú populációkban is.

A populációméret és egy fajta veszélyeztettségének összefüggéseit Bodó Imre közleményei részletesen ismertetik (*Bodó, 1989; 2001; 2011; Bodó és Szalay, 2007*). A gyakorlatban a populációméret alábbi kategóriáit jó eredménnyel alkalmazhatjuk a fajtavédelem rendszerében:

- Ha egy fajta valamennyi részpopulációjának összesített egyedszáma meghaladja a 10 000-et, az effektív populációméret pedig a 200-at, továbbá az egyedszám és a részpopulációk (tenyészetek) száma nem csökken, a fajta *nem veszélyeztetett*.
- Ha egy fajta valamennyi részpopulációjának összesített egyedszáma 1000 és 10 000 közötti, az effektív populációméret 100 és 200 közötti és az egyedszám vagy a részpopulációk (tenyészetek) száma csökken, a fajta *sérülékeny* helyzetbe kerül.
- Ha egy fajta valamennyi részpopulációjának összesített egyedszáma 100 és 1000 közötti és az effektív populációméret 100 alá csökken, a fajta *veszélyeztetett*.

Ha egy fajta valamennyi részpopulációjának összesített egyedszáma 100 alá csökken, az effektív populációméret pedig nem éri el az 50-et, a fajta *kritikus helyzetű*.

A fenti kategóriák állandó és folyamatosan fenntartott populációméretekre vonatkoznak. Ha ugyanis a populációméret vagy a részpopulációk (tenyészetek) száma drasztikusan csökken (pl. nagyarányú keresztezések, mesterséges szelekció, állat-egészségügyi okok; illetve pl. rövid távú támogatási rendszerek), egy fajta a sérülékeny kategóriából 1–2 év alatt kritikus helyzetbe

kerülhet. Ugyanakkor a kritikus létszámú populáció is hatékonyan fenntartható és bármikor felszaporítható szakszerű génbanki eljárásokkal. Ez azt is jelenti, hogy egy fajta biztonságos megőrzésének legfontosabb és meghatározó eleme – a populáció létszámától függetlenül – a folyamatosan fenntartott génbanki állományok léte.

Az alábbiakban a kis létszámú génbanki populációk fenntartásában meghatározó és egy-mással szorosan összefüggő effektív populációmérettel, ivararányal és beltenyésztettséggel részletesebben foglalkozunk (*Szalay, 2008; Szalay és munkatársai, 2009 nyomán*).

### Effektív populációméret

Egy génbanki populáció létszáma és a két ivar létszáma alapján kiszámítható az effektív populációméret ( $N_e$ ). Az effektív populációméret a fajtavédelem gyakorlatában azoknak a tenyészegyedeknek a számát jelöli, amelyek részvétele a populáció fenntartásában, azaz a következő generáció létrehozásában teljes értékű. Az effektív populációméretet az alábbi képlettel határozhatjuk meg (*Wright, 1931*):

$$N_e = \frac{4N_f N_m}{N_f + N_m}$$

A képletben  $N_e$  az effektív populációméret,  $N_f$  a populáció fenntartásában résztvevő nőivarú,  $N_m$  a hímivarú egyedek számát jelöli. Az 1. táblázatban az effektív populációméret változását mutatjuk be a populáció génkészletéért felelős hímivarú és nőivarú tenyészállatok létszámának függvényében. Általánosan elfogadott vélemény szerint  $N_e > 100$  folyamatos fenntartása esetén a populáció biztonságosan megőrizhető, a bevezetőben említett tényezők

Hímivarú tenyészállatok száma	Nőivarú tenyészállatok száma											
	5	10	20	30	40	50	60	80	100	200	500	1000
	<b>Effektív populációméret</b>											
1	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
2	5	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8
3	7	9	10	10	11	11	11	11	11	11	11	12
4	8	11	13	14	15	15	15	15	15	16	16	16
5	10	13	16	17	17	18	18	18	19	19	19	19
10	13	20	27	30	32	34	36	36	36	38	39	40
20	16	27	40	48	53	57	60	64	67	72	77	78
30	17	30	48	60	68	75	80	87	92	104	113	116
40	18	32	53	68	80	89	96	106	114	133	148	153
50	18	33	57	75	89	100	109	123	133	160	182	190
100	19	36	67	92	114	133	150	178	200	267	333	363

1. táblázat. Kis létszámú populációk effektív mérete a hím- és nőivarú tenyészállatok számának változásával



egyidejű érvényesítése mellett. A táblázatból látható, hogy ez a feltétel a populáció fenntartása során legalább 50 hímivarú és 50 nőivarú tenyészállat teljes értékű részvételével érhető el, 1:1 ivararányban. A fajtavédelem gyakorlatában az  $N_e > 50$  a genetikai diverzitás mintegy 90%-ának biztonságos megőrzését jelentheti, ami legalább 20 hímivarú és 40–50 nőivarú tenyészállat fenntartását igényli.

### Beltenyésztettség és populációméret

A beltenyésztettségi koefficiens ( $F$ ) a populáció szintjén adja meg annak valószínűségét, hogy egy lókuszt két allélje azonos őstől származik. Azonos létszámú beltenyésztett és nem beltenyésztett populációk közül genetikai értelemben a beltenyésztett kisebb, hiszen a beltenyésztés a heterozigóta allélpárok számát, azaz a fajtafenntartáshoz és szelekcióhoz szükséges allélváltozatok számát csökkenti.

A beltenyésztettségi koefficiens változása (beltenyésztettségi ráta,  $\Delta F$ ) fordítottan arányos a populáció génkészletét adó effektív egyedek számával. Az effektív populációméret ismeretében kiszámítható az adott populáció beltenyésztettségének generációnkénti változása az alábbi képlet szerint:

$$\Delta F = \frac{1}{2N_e}$$

### Ivararány

A haszonállat-populációkban a legnagyobb effektív populációméretet eredményező 1:1 ivararány általában nem valósítható meg, ezért a kis létszámú populációk hosszú távú fenntartásának lényeges feltétele az adott populációban minimális génsodródást eredményező, lehető leghibásabb ivararány kialakítása és alkalmazása a tenyésztés során. *Bodó (1991)* nyomán a kis létszámú, megőrzött populációk különböző ivararányaira kalkulált effektív populációméretet és ennek alapján a populációk veszélyeztetettségének szintjeit (a populáció állapotát) a 2. táblázatban mutatjuk be.

A populáció állapota	A nőivarú tenyészállatok száma	Hímivar–nőivar aránya				
		1:5	1:10	1:30	1:50	1:1000
		Átlagos effektív populációméret				
Normális	>10 000	6666<	3333<	1289<	784<	40<
Sebezhető	5-10 000	3333<	1818<	645<	392<	20<
Bizonytalan	1-5000	667<	364<	129<	78<	4<
Veszélyeztetett	100-1000	67<	36<	13<	8<	-
Kritikus	<100	67>	36>	13>	8>	-
Kihalt	-	-	-	-	-	-

2. táblázat. A populáció állapotának meghatározása és az effektív populációméret az ivararány változásával (Bodó, 1991 nyomán)

Bizonyos esetekben az ivararány növelése lényegesen gazdaságosabbá teheti egy génmegőrzési programot a populáció veszélyeztetése nélkül. Tétélezzük fel, hogy egy megőrzött baromfiállomány 60 kakasból és 600 tojóból áll, tehát a tényleges populációméret  $N_f + N_m = 660$  egyed, az effektív populációméret 1:10 ivararány esetében:

$$N_e = \frac{4 \times 60 \times 600}{660} = 218$$

Hasonló effektív populációméret érhető el 65 kakas és 325 tojó szaporításával, azaz 1:5 ivararány mellett, ahol  $N_f + N_m = 390$  (az eredeti populációlétszám 59%-a).

### A veszélyeztetett fajták megőrzésének hagyományos, populációgenetikai szempontjai

Egy fajta vagy populáció veszélyeztetettségének mértéke végső soron hosszú távú fennmaradásának esélyein alapszik. A fennmaradás esélyeit populációgenetikai modellekkel jellemezhetjük, amelyek különböző változók függvényei. Ezek közül is kiemeljük a populációméret és az effektív populációméret csökkenési rátáját, ami magában foglalja a populáció ivararány- és korösszetételét, a beltenyésztettség fokát, a véletlenszerű génsodródást, az eredeti (kiinduló) populáció genetikai variációját és a génmegőrzési program tervezett hosszát. Nem követünk el nagy hibát, ha általában a 10 000 egyedszám alá csökkent populáció esetén fölvetjük valamilyen génmegőrzési beavatkozás szükségességét.

Egy kisméretű populáció megőrzésének legfontosabb szempontja a gén- és allélvesztés elkerülése, a populáció teljes génkészletének védelme. A homozigóta egyedek arányának növekedése az adaptációs képesség csökkenését, beltenyésztettségből eredő leromlást és végső soron a populáció kihalását okozza. Az említettek szerint a fenntartható életképes populációméret szoros kapcsolatban áll a genetikai diverzitással (a populáción belüli genetikai variancia) megőrzésének lehetőségével a génvédelmi program során. A megőrzendő populáció genetikai diverzitása az effektív populációméret mellett elsősorban a populációt alapító állatok számának és populációgenetikai diverzitásának függvénye.

### Szelekció

Általános vélemény, hogy szelekció a génmegőrzés során nem végezhető, hiszen az a populáció genetikai diverzitásának csökkenését eredményezi. Génmegőrzési, génvédelmi célból tartott állományok esetében a gyakorlatban ez a megszorítás természetesen nem valósítható meg, és bizonyos szelekcióra szükség is van egy populáció tulajdonságainak fenntartása érdekében.

*Természetes szelekció:* A vadon élő állatok populációit a természetes szelekció alakította ki és tartja genetikai egyensúlyban. Régi haszonállatfajtáink kialakulásában mind a folyamatosan érvényesülő természetes, mind az ember által évszázadokon keresztül, célirányosan végzett mesterséges szelekció lényeges szerepet játszott. A természetes szelekció hatásának fenntartása a génmegőrzésben sem hagyható figyelmen kívül, amennyiben az adott fajta vagy



populáció hosszú időn keresztül, adott élőhelyen és feltételek között kialakult tulajdonságait (pl. szélsőséges klíma, helyi takarmányozási feltételek vagy betegségekkel szembeni ellenálló képesség) kívánjuk megőrizni.

**Mesterséges szelekció:** A génmegőrzés során figyelembe kell vennünk, hogy tenyésztett állományokban a természetes szelekciót helyettesítő válogatás a tenyésztő feladatává válik, azaz az említett szempontok szerinti szelekció nem nélkülözhető a génmegőrzésben sem. A tenyésztőnek selejteznie kell azokat az egyedeket, amelyek a fajta természetes élőhelyének és tartási feltételeinek elviselésére nem alkalmasak, mert ellenkező esetben az eredeti populáció génkészlete lényegesen megváltozhat. Speciális tulajdonságokkal rendelkező állatfajták esetében (pl. különleges minőségű hús-, tej- vagy gyapjútermelés, igavonó erő) a génmegőrzés célja kibővül a tulajdonságok populációsztintű megőrzésével, ami szelekció nélkül nem valósítható meg. A génvédelemben alkalmazott mesterséges szelekció azonban az eredeti tulajdonságok megőrzését célozza komplex módon, nem pedig egyes kiválasztott tulajdonságok – legtöbb esetben más tulajdonságok kárára végzett – extrém javítását. A génvédelmi célú szelekció legfontosabb feltételei a következők:

- Szelekció nem végezhető kis létszámú populációkban a beltenyésztés veszélye nélkül, ezért a populáció létszámát a szelekciót megelőzően lényegesen növelni kell.
- Az állattenyésztési programok végrehajtásához általában lényegesen több nőivarú állat szükséges, így a génmegőrzés során is lehetővé válik kizárólag a hímivarú tenyészállatok szelekciója a szükséges létszámnak megfelelően.
- A szelekciót a fajta számára természetes környezetben kell végrehajtani, ami feltétele annak, hogy a fajta eredeti adaptációs és termelési tulajdonságait megőrizzük.

### **Beltenyésztés**

A beltenyésztés közeli rokonságban lévő egyedek párosításával a homozigóták arányát növeli a populációban, azaz végső soron bizonyos gének egyik alléljának populációsztintű elvesztését okozza és ezzel csökkenti a genetikai diverzitást. A beltenyésztés nagy létszámú populációban viszonylag könnyen elkerülhető, azonban a génmegőrzés a legtöbb esetben kis létszámú populációk fenntartását jelenti, ami szükségessé teszi a beltenyésztés tudatos alacsony szinten tartását. Ennek legfontosabb eleme a szükséges effektív populációméret ismerete és betartása, amiről korábban már esett szó.

Bizonyos esetekben, nagyon kis populációméret vagy nagyon kevés rendelkezésre álló egyed esetén, amikor a beltenyésztés elkerülhetetlen, inkább a testvérek párosítása javasolható a szülő-ivadék párosítás helyett. Bár a beltenyésztettségi koefficiens mindkét esetben azonos, testvérpárosítás esetén nagyobb a populációra jellemző allélgyakoriság szegregációjának valószínűsége.

### **Random drift (génsodródás)**

A drift olyan véletlenszerű folyamat egy populációban, amelynek során egy bizonyos gén alléljainak gyakorisága folyamatosan és egy irányba változik. Ennek eredményeként – egy allélpár esetében – az egyik allél gyakorisága folyamatosan csökken, majd eltűnik a populációból, míg

a másik allél gyakorisága nő és végeredményben homozigótává válik. Minél kisebb egy populáció létszáma és ezen belül minél kisebb az effektív populációméret, a drift annál gyorsabb folyamatként jelentkezik. Tekintettel arra, hogy a beltenyésztés végeredménye is a homozigóta egyedek kialakulása, ezek populáción belüli létszámnövekedése, a drift és a beltenyésztés erősítik egymást. A génmegőrzésben, különösen kis létszámú populációk esetében, fokozott figyelmet kell fordítanunk a véletlenszerű génsodródás okozta allélfrekvencia-változásokra, ami hagyományos tenyésztési módszerekkel és mai DNS-vizsgálati technikákkal jól kezelhető. A ritka (vagy a drift eredményeként ritkuló) alléleket hordozó egyedek pozitív szelekciójával az allélvesztés csökkenthető.

A génmegőrzésbe vont állományok alpopulációkra bontásával és ezek elkülönített tartásával a drift nem akadályozható meg az alpopulációkban sem, azonban a folyamat véletlenszerűsége folytán az egyes alpopulációkban a génsodródás más-más alléleket érinthet, ami nagyszámú alpopuláció esetén lehetővé teszi a teljes populációra vonatkozó génvesztés csökkentését.

### **Gén- és kromoszómamutációk**

A gének alléljainak spontán megváltozását egy populációban génmutációnak, a genetikai anyagot (DNS-t) hordozó kromoszómák megváltozását (átrendeződését) kromoszóma-mutációnak nevezzük. Mindkét mutációtípusnak meghatározó jelentősége volt a genetikai változatosság kialakulásában az évmilliók során.

Annak a valószínűsége, hogy egy gén egyik allélja mutációval megváltozik az adott generációban,  $10^{-6}$ , azaz minden millióból egy. A mutáció során megváltozott allél megjelenésének valószínűsége a populációban ennek is csupán töredéke, így egy új allél felszaporodása – még úgynevezett „pozitív” mutáció esetében is – természetes körülmények között és nagy populációban is igen hosszú folyamat. A génmegőrzésbe vont populációk létszáma általában kicsi, így a mutációk előfordulása az adott, véges számú állományban igen ritka jelenség. Ugyanakkor egy kis létszámú populációban egy spontán mutáció – különösen, ha szelekciós előnyt jelent a hordozó egyed számára a populáció többi egyedével szemben – gyorsan elszaporodhat. A génmegőrzésbe vont haszonállatfajták eredeti kialakulásában a spontán mutáció sok esetben játszott szerepet (pl. a különböző színváltozatok fajtákká alakítása), ezért a fajták védelme során feladatunk a mutációkból a populációkba bekerült és ott rögzült allélváltozatok gyakoriságának fenntartása.

A fajok kialakulásában döntő szerepet játszó, környezeti és genetikai tényezőkre egyaránt visszavezethető kromoszómamutációk (kromoszómán belüli vagy kromoszómák közötti DNS-szakasz átrendeződések, kicserélődések, kromoszómák szegregációjának hibája a meiózis során stb.) a genetikai örökítőanyagot általában sokkal drasztikusabban változtatják meg, mint a génmutációk, ezért a hordozók legtöbbje életképtelen, és természetes szelekcióval eltűnik, ami különösen kis létszámú populációk esetében a szaporaság csökkenését hozza magával. A kromoszómamutációk környezeti és genetikai okainak felderítése és a hajlamot, esetleg a konkrét kromoszómamutációt örökítő egyedek szelekciója bizonyos állományok génmegőrzésében kiemelt feladat lehet.

## Új génbanki populációk kialakítása hagyományos tenyésztési módszerekkel

### A fajtavédelem szükségességét meghatározó szempontok

Abban az esetben, ha fennáll egy fajta kihalásának veszélye, meg kell vizsgálni egy génmegőrzési program indításának lehetőségét. Számos információ begyűjtése szükséges ahhoz, hogy egy haszonállatfajtát génmegőrzési programba vonjunk. Ezek közül a legfontosabbak az alábbiak:

- A faj, fajta vagy típus általános leírása és élőhelyének meghatározása.
- A kérdéses populáció egyedeinek, ezen belül a hímivarú és nőivarú tenyészállatok számának becslése, és a populációméret változási trendjének meghatározása.
- A megmentendő fajtából más fajtával végtermék-előállító keresztezés céljából igénybe vett nőivarú tenyészállatok arányának meghatározása. A fajtatizta utódok keresztezések miatt bekövetkező csökkenése már rövid idő alatt visszafordíthatatlan folyamatokat okoz a populációban.
- A tenyészetek száma. A kevesebb, nagyobb létszámú tenyészettel rendelkező fajta vagy populáció általában veszélyeztetettebb, mint a több helyen, kisebb létszámban tartott fajta.
- A helyi fajtát vagy ökotípust fenyegető egyéb veszélyek felmérése (állat-egészségügyi, politikai, szociális, klimatikus, gazdasági stb.).
- A fajtára jellemző tulajdonságok meghatározása (méretek, külső bélyegek, termelési tulajdonságok, adaptációs képesség, ellenálló képesség, speciális tartásmódok).
- Amennyiben egy fajta fenntartása már meglévő génmegőrzési programok keretében folyik, annak meghatározása, hogy milyen további lépések szükségesek egy biztonságos, hosszú távú génmegőrzési, génvédelmi program kialakításához.

### Új génbanki populációk mérete

Egy génmentési program indulásakor egy 9–10 nőivarú egyedből álló effektív csoportból már életképes állomány alakítható ki, amennyiben lehetőség van a populációméret növelésére. A génbankba mentett minta állománylétszámának növelésekor is ügyelni kell arra, hogy a mentett állomány eredeti genetikai struktúrája megmaradjon, ami a beltenyésztettség tudatos minimalizálásával érhető el.

### Mintavétel induló génbanki program esetén

Induló génbanki populáció kialakítása során általános szabály, hogy minél nagyobb az alapító állomány genetikai változatossága, annál biztonságosabb a génmentési program. A gyakorlatban a javasolt legkisebb induló egyedszám 25 hímivarú és 50 nőivarú tenyészállat, ami lehetővé teszi, hogy az eredeti populáció genetikai diverzitásának kevesebb, mint 1%-át veszítsük el csupán a mintavételnek tulajdoníthatóan (*Smith, 1983*). Az optimális génmegőrzési stratégia ezt követően előírja a populáció létszámának minél gyorsabb növelését. A populációból vett minta végleges létszámának elérését követően a legfontosabb feladat az állományon belüli

genetikai diverzitás lehető legteljesebb fenntartása, azaz a beltenyésztés és a drift lehető legteljesebb kiküszöbölése.

### In vivo génbankok kialakításának mintavételi technikái

A lehetséges mintavételi technikák egy génbanki állomány kialakítása során a következők:

- *Random mintavétel (random sampling)*: az eredeti populáció valamennyi egyede azonos valószínűséggel és véletlenszerűen kerül kiválasztásra. Hátránya lehet, hogy a kiválasztó személy nem dönthet egyedileg a kiválasztásra kerülő állatokról, és nincs hatása arra sem, hogy tipikus vagy atipikus állatok kerülnek-e a kiválasztott populációba.
- *Pedigree alapján végzett mintavétel (maximum avoidance sampling)*: ha az egyedek ismert pedigreevel rendelkeznek, a mintavétel kizárólag az egyedek származása alapján is elvégezhető. Ennek során azokat az egyedeket kell kiválasztani, amelyek egymással nincsenek rokonságban, ami a gyakorlatban azt jelenti, hogy nincs közös szülő, nagyszülő és dédszülő a kiválasztott egyedek ősei között. Hátrányai megegyeznek a random mintavételnél említettekkel.
- *Csoportosított mintavétel (stratified sampling)*: az eredeti populációt típus vagy tulajdonság (tulajdonságcsoport) alapján csoportokba osztják, és a random mintavételt csoportokon belül végzik úgy, hogy minden csoportból arányos létszám kerüljön a kiválasztott állományba. Ezzel a módszerrel biztonságosabb az eredeti populációval genetikailag közel azonos minta kiválasztása. Kiinduló génbanki állomány kiválasztására a csoportosított mintavétel látszik a legmegfelelőbb technikának, amely – megfelelő kiinduló populációméret és az egyedi pedigree ismerete esetén – kombinálható az egyedek származásának ellenőrzésével.

### Kis létszámú génbanki populációk fenntartása

#### A génmegőrzés alapfeltételei

Egy kis létszámú populáció génbanki megőrzésének alapfeltételeit az alábbiakkal jellemezhetjük:

1. A génmegőrzésre elkülönített állomány nem lehet beltenyésztett, az eredeti populációjukból kiemelt egyedek nem rokonok, szaporodásra képesek és reprezentálják az eredeti populációra jellemző genotípusokat. Amennyiben lehetséges, minimum 25 hímivarú és 50 nőivarú, az említett feltételeknek megfelelő egyed szükséges egy génbanki program sikeres indításához.
2. A génbanki populációt a lehető leggyorsabban fel kell szaporítani úgy, hogy az effektív populációméret elérje legalább az 50-et. Az effektív populációméret növelhető:
  - az ivararány kiegyenlítésével,
  - a genotípusok kiegyenlítésével,
  - az élethossz kiegyenlítésével.
3. Lehetővé kell tenni az induló populáció valamennyi genotípusának lehető legteljesebb részvételét az új generációk kialakításában.

4. A beltenyésztés elkerülésére különböző tenyésztéstechnikai módszerek alkalmazása szükséges.
5. Elkülönített alpopulációk létrehozása szükséges, elsősorban egyes betegségek elterjedésének megakadályozására és a drift hatásának csökkentésére az alpopulációk közötti keresztezéssel.

### Kis létszámú populációk génbanki tenyésztési stratégiái

**Természetes tenyésztés:** A vadon élő állatok populációinak fenntartásához hasonlóan a haszonállat-populációk természetes tenyésztésére is lehetőség van, amennyiben az eredeti élőhely, a megfelelően nagy populációméret és a teljesen extenzív tartás feltételei rendelkezésre állnak. A szaporodásban a legerősebb és a környezethez legjobban alkalmazkodott hím állatok vesznek részt. Ezt az idősebb hímek kiemelésével megváltoztathatjuk, ami lehetőséget nyújt más populációkból tenyésztési célból behozott vagy helyi, fiatalabb hímek számára, hogy részt vegyenek a populáció fenntartásában.

**Random párosítás:** A random párosítás módszerével minden felnőtt egyed számára lehetővé válik, hogy azonos eséllyel azonos számú utódot adjon a populáció következő generációja számára, azaz génkészletét átörökítse. A random párosítás hátrányaként említik, hogy a módszer nem számol az egyedek közti szaporodás- és szaporaságbeli különbségekkel, ami elsősorban az egyedek reprodukciós képességében, relatív fertilitási rátájában és az utódok életképességében jelentkezik. Ezek a mutatók ugyanis lényegesen befolyásolhatják a genetikai anyag átörökítését, ami a drift felgyorsulását eredményezi.

A random párosítás jó génmegőrzési módszernek tekinthető olyan állatállományok csoportos fenntartása esetén, ahol az állatok egyedi nyilvántartása nem megoldható, azonban a csoportok jól elkülöníthetők és a csoportok közötti párosítások ellenőrzötten végezhetőek. A random párosítást a gyakorlatban alkalmazva Crawford professzor Kanadában jó eredményeket ért el különböző baromfifajok kis létszámú populációinak (köztük a sárga magyar tyúkfajta Kanadába származott változata) fenntartásában (Crawford, 1989; Szalay, 2008).

**Pedigrétenyésztés:** Egy génmegőrzésbe vont állományon belül a pedigré pontos ismerete lehetőséget nyújt arra, hogy minden egyed számára azonos esélyt adjunk a tovább szaporodásra. Ideális esetben, rögzített létszámú populáció fenntartásában valamennyi hímivarú állat 1 hímivarú utódja és valamennyi nőivarú állat 1 nőivarú utódja képezi a következő generációt. A pedigré alapján végzett szaporítás a beltenyésztés elkerülését és az állomány hosszú távú, génveszteség nélküli fenntartását teszi lehetővé. A módszer alkalmas nagyon kis létszámú populációk beltenyésztésének elkerülésére is, amennyiben a populációméretet egyidejűleg és gyorsan növeljük.

**Vonaltenyésztés:** Nagyobb létszámú populációk esetén hatékony génmegőrzési módszerként alkalmazható a populáció alpopulációkra (vonalakra) osztása, és ezt követően az alpopulációk közötti ciklikus tenyészállatcseréje. Ha egy populációt vonalakra osztunk, minden vonal egyedszáma lényegesen kisebb, mint az eredeti populáció létszáma. Ezért a vonalakon belül jelentősen megnő a beltenyésztettség és a drift által okozott génveszteség. Annak a valószínűsége azonban, hogy az egyes vonalak véletlenszerű allélgyakoriság-változása azonos irányú, nagyon kicsi, ezért a vonalakra osztás – megfelelő számú vonal esetén – a génmegőrzésben jól alkalmazható eljárás. A vonalakon belüli pedigrétenyésztéssel és a vonalak közötti ciklikus

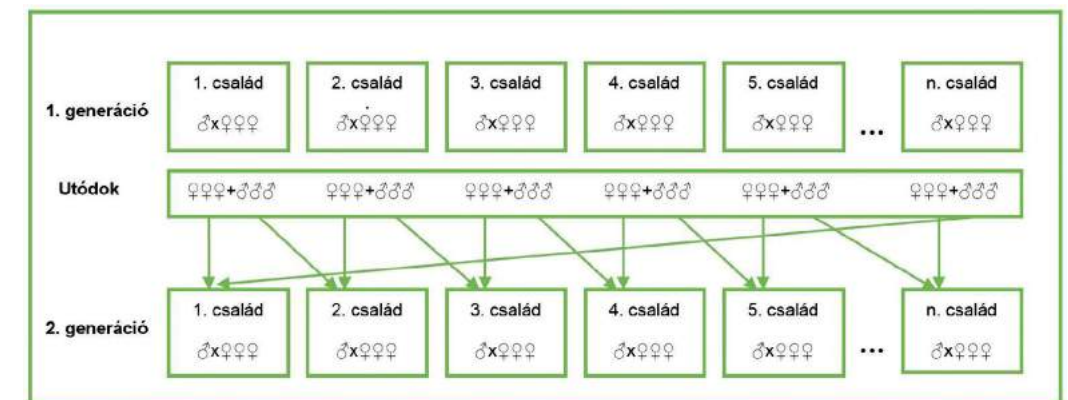
tenyészállatcserével a teljes populáció genetikai változatossága jó eredménnyel, hosszú távon fenntartható.

A vonaltenyésztés a gyakorlatban úgy is megvalósítható nagyobb génveszteség nélkül, hogy a vonalakon belül 8–10 generáción keresztül beltenyésztést végeznek, majd ezt követően átkeresztezik a különböző vonalakat. A módszer hátránya, hogy a beltenyésztés során a vonal szaporodó képessége csökken, ez pedig – szélsőséges esetben – egyes vonalak elvesztéséhez, ezáltal a teljes populáció genetikai változatosságának csökkenéséhez vezet.

A vonaltenyésztés nagyon kis létszámú populációk fenntartására nem alkalmas, mert a túlságosan kis létszámú vonalak nagyon gyorsan beltenyésztetté válnak, ami a vonalak szaporaságának gyors csökkenése révén az egész populáció fennmaradását veszélyezteti.

**Családtenyésztés:** Kis létszámú populációk fenntartására alkalmas módszer a családtenyésztés, amikor az egy (vagy több) hímivarú és a hozzá beosztott nőivarú tenyészállatoktól (családoktól) nyert, azonos számú utódok képezik a következő generációt úgy, hogy a család nőivarú egyedei az eredeti családban maradnak, míg a hímivar rotációszerűen a következő családba kerül át (2. ábra.). A módszer a hímivar családokon belüli, a szaporítási időszakban végzett, rotációszerű cseréjével és a minimálisan javasolt 10 család számának növelésével tovább javítható, az effektív populációméret növelése révén.

A fejezetben ismertetett tenyésztési eljárások a génmegőrzés alapeljárásainak tekinthetők. A gyakorlatban többféle eljárás és módszer kombinációját alkalmazva alakítják ki a fajra és fajtára legmegfelelőbb génmegőrzési eljárást. Azt sem szabad felednünk, hogy a legjobb génmegőrzési módszer a fajta hasznosítása, ebben az esetben azonban figyelembe kell vennünk az a tény, hogy a fajta bármilyen tulajdonságának javítását célzó, egyirányú szelekció egy nagy létszámú populációt is veszélybe sodorhat megfelelő génmegőrzési, fajtafenntartási program nélkül.



2. ábra. Családtenyésztéses génbanki fajtamegőrzési eljárás a hímivar rotációjával. A nőivarú utódok a következő generációban a szülőikkel megegyező számú családban maradnak, a hímivarú utódok egy része – a szükségszerű szelekciót követően – a sorszám szerinti következő családba kerülnek át. A HáGK-ban a régi magyar baromfifajták in vivo génbanki fenntartására alkalmazott módszer, ahol a családok száma legalább 10 ( $n \geq 10$ ) (Szalay és munkatársai, 2009 nyomán)

## Irodalomjegyzék

- Bodó I. (1991): A géntartalékok megőrzése az állattenyésztésben. MTA doktori disszertáció. MTA, Budapest
- Bodó I. (2001): Régi magyar haszonállatfajtáink – A genetikai sokféleség megőrzése. Magyar Tudomány 46(5): 535-555.
- Bodó I. (2011): Haszonállatok génvédelme. Debreceni Egyetemi Kiadó
- Bodó I., Szalay I. (2007): Génbázisok megőrzése a fenntartható állattenyésztésben. Állattenyésztés és Takarmányozás 56(5): 403-413.
- Crawford, R. D. (1989): Experience with *in situ* preservation of poultry breeds. FAO Animal Production and Health Paper 80: 142–153.
- Cserhátiné Kovács J., Bodó I., Koppány G., Szalay I. (2011): Hagyományos haszonállataink az új évezredben. Biokontroll 2(2): 23-27.
- Henson, E. L. (1992): In situ conservation of livestock and poultry. FAO Animal Production and Health Paper 99. FAO, Rome and UNEP
- Smith, C. (1983): Genetic aspects of conservation in farm livestock. Livestock Production Science 2: 37-48.
- Szalay I. (2008): Szelekciós lehetőségek a haszonállatok génmegőrzésében. In.: Tóth S., Szalay I. (szerk.) A haszonállatfajok szelekciója. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Szalay I., Kovácsné Gaál K. (2008): A baromfi géntartalékok és az alternatív baromfitenyésztés helyzete és jövője. Állattenyésztés és Takarmányozás 57(5): 425-438.
- Szalay I., Kiszé Do thi Dong Xuan, Virág Gy., Szentes K. Á., Bódi L. (2009): Prospects for conserving traditional poultry breeds of the Carpathian Basin. AWETH 5(2): 119-148.
- Szalay I., Kovács J., Bodó I. (2012): A hazai haszonállat géntartalékok védelmi rendszere. In Jávorka L. (szerk.) „Emberségről példát...” Válogatott közlemények Bodó Imre 80. születésnapjára. MSZTE kiadványa, Budapest. 306-309 p.
- Wright, S. (1931): Evolution in Mendelian populations. Genetics 16: 97-159.

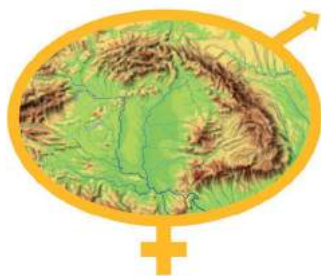
## ***In vivo, in situ* haszonállat-génmentés a Kárpát-medencében. A Géngyűrű program**

SZALAY ISTVÁN – BABAY GELLÉRT – BARTA ILDIKÓ – EMŐDI ANDREA –  
FÜGEDINÉ BERÉNYI ÁGNES – KISNÉ DO THI DONG XUAN – RÖVIDNÉ KOVÁCS KRISZTINA –  
THIEU NGOC LAN PHUONG – DOBOS ATTILA – GÁLL LEVENTE – KÁNYA FLÓRIÁN –  
KÖBÖLKÚTI LORÁND – MÁTÉFFY ESZTER – RÁKOSSY BOCSKOR BRIGITTA –  
RÁKOSSY ZSIGMOND – TAPUC LORÁND – KOPPÁNY GÁBOR





## Nukleusz- vagy magpopulációk rendszerének kialakítása a Kárpát-medencében

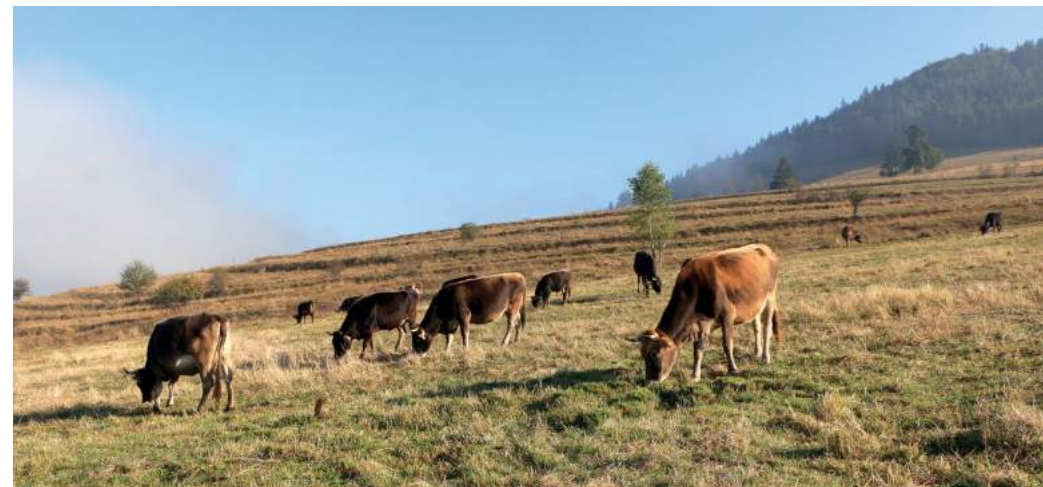


Mintegy 100 évvel ezelőtt bizonyos tájfajták és típusok nagy számban léteztek még a Kárpát-medencében, szerepük elsősorban a családok önellátásában volt meghatározó. A fajták egy töredék része a vidéki élőhelyek és a falusi életmód gyökeres átalakulása ellenére a mai napig fennmaradt. A megmenthető és tenyésztésbe vonható egyedek összegyűjtése, nukleusz (génbanki, mag-) állományaik kialakítása és génmegőrzési programjuk kidolgozása azonnali cselekvést igényel ahhoz, hogy a tájfajták és a bennük élő különleges és értékes tulajdonságok, a hozzájuk kapcsolható életmód és szokások ne tűnjenek el örökre, hiszen már ma is többnyire csak keverék (keresztezett) egyedek fordulnak elő az eldugott hegyi legelőkön és falusi portákon. A Haszonállat-génmegőrzési Központ kezdeményezésére, a Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete (MGE) közreműködésével, 2014-ben foglalmaztuk meg közösen a haszonállat fajtavédelemhez kapcsolódó GÉNGYŰRŰ Génmentési Programot, melynek célja a még megmenthető régi haszonállat-tájfajták, ökotípusok és változatok nukleusz (mag) populációinak kialakítása a Kárpát-medencén belül, elsősorban a jelenlegi vagy egykori eredeti élőhelyükön, másodsorban a Kárpát-medence más, a fajták tartására alkalmas területein (Szalay és munkatársai, 2015; 2016).

A program a felkutatott tájfajták génbanki szintű állományainak létrehozásával kezdődött a Székelyföldön, melyekből a fajták tenyésztési kialakíthatók, és így a fajtavédelmi rendszer többi szintjén is őrizhetők.

### A Géngyűrű program keretében indított haszonállat-génmentési programok

*Mokány szarvasmarha:* A „mokány” vagy románosan „mokanyica” elnevezés eredetileg a Kárpátokra jellemző, kistestű hegyi szarvasmarhát jelölte (1. kép). A Kárpátokban jelenlévő, kistestű, hegyi szarvasmarha típusokat (mokány, riska, busa) részben svájci borzderes szarvasmarhakkal keresztelték a XIX. század végén, kialakítva a kárpáti borzderest. A mokány marha Kovácsy Béla leírása szerint kicsi és sötét darvas színű. Főleg Erdély leghegyesebb vidékein terjedt el, azonban létszáma már a leírásakor is egyre apadt. Jó tulajdonságként emelte ki rendkívüli igénytelenségét és fáradhatatlanságát, mint igás állat. Évi tejhozama 1000–1200 literre tehető (Kovácsy, 1909). Az időjárás viszontagságaival szemben ellenálló, ridegtartásra alkalmas mokány típusú szarvasmarha a Kárpát-medence ősi fajtája (Tormay, 1905).



1. kép. Mokány szarvasmarha-állomány hegyi legelőn (Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila)

*Csángó (piros) tarka szarvasmarha (az erdélyi tarka korai, hegyi változata):* Az 1880-ban elrendelt állami marhaösszeírást követően, az apaállatok hiánya miatt tenyészbikákat hoztak nyugatról, így elsősorban az ún. pirostarka jellegű típusok (2. kép) száma növekedett ország-szerte, míg a hazai fajták létszáma lényegesen apadt (Tormay, 1904; 1905). A erdélyi tarka az ősi változatokból, a mokány, a riska és a „címeres magyar-erdélyi” fajta keresztezésével alakulhatott ki és a mai Romániában is csak Erdélyre jellemző (Matiuti, 2010). Kistestű hegyi változatai elsősorban az ősi hegyi szarvasmarhák és a nyugati pirostarkák keresztezéséből jöhettek létre. Különösen szép, régi típusú egyedek találhatóak a Kászonokban, a Gyimesekben és az Uz völgyében, ahol a legutóbbi időig fajtatisztán szaporították. A Kárpátokon túli területeken nem terjedt el, fajtamentése és tenyésztése csángó tarka szarvasmarhaként indokolt.



2. kép. Csángó (piros) tarka szarvasmarha-állomány hegyi legelőn (Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila)





3. kép. Hegyi berke nyáj havasi legelőn (Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila)

*Hegyi berke színváltozatok (sárga vagy vörös poszájú, fekete poszájú és fekete):* A cigája vagy berke (3. kép) a Kárpát-medencében az 1700-as években már biztosan jelen volt. Vándorló juhászok nyáron a hegyekben, télen a síkságokon tartották juhaikat. A történelmi változások, határzárások miatt a vándornyájak egy része nem mehetett át a szorosokon, ezért a cigája változatok egy része elkülönült egymástól. Így maradhatott fenn hegyi berke tájfajtaként az őshonos cigájánk kovásznai sárga és fekete fejű, esetenként a csóré hasú és a teljesen fekete színű változata elsősorban a Kászonokban és Csíkban. Kiváló tejelő és báránynevelő, jó alkalmazkodó képességű juh. Sajnos a keresztezések miatt ma már fajtatisztán alig szaporítják, fajtamentése nem halasztható.

*Erdélyi szálas kecske:* Erdélyben általában a havasi legelőkön, a juhokkal együtt tartják a kecskét (4. kép). Az erdélyi tájfajta székelyföldi változatának megőrzése és magpopulációinak kialakítása mindenképpen indokolt. Egyik viselkedésbeli jellegzetessége, ha teheti, a növények csúcshajtásait fogyasztja, vagy, ahogy a helyiek mondják „az esze az ágak hegyén jár”. A magyar parlagi kecskéhez hasonlóan az erdélyi szálas kecske is több színváltozatban fordul elő, a magpopulációk felszaporításával a fontosabb színváltozatok (fehér, fekete, szürke, barna) önálló fajtaként is továbbtenyészthetők.

A szarvasmarha, a juh és a kecske székelyföldi tájfajtái mellett pozitív példaként kell említenünk egyes baromfifélék génmentését, amit a gödöllői Haszonállat-génmegőrzési Központ (HÁGK) és a régi magyar baromfifajta tenyésztő szervezete, a Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete (MGE) hosszú évek óta végez. Léva környékén gyűjtött ludakból a HÁGK egy génbanki állományt hozott létre *garammenti lúd* néven (Szalay, 2015), melynek



4. kép. Erdélyi szálas kecske színváltozatok (Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila)



5. kép. Tarka erdélyi pulyka változatok (Fotó: Mátéffy Eszter és Dobos Attila)

fajtabejelentése folyamatban van. A Géngyűri programban jelenleg a tarka erdélyi pulyka génbanki állományának kialakítása folyik.

*Tarka erdélyi pulyka:* Erdélyben, a Mezőségeken és a Székelyföldön, egészen a Gyimesekig a mai napig jellemzően előfordul a magyar parlagi pulykák egy különleges változata, amely fehér alapon általában fekete vagy barnás tarka (5. kép). Feltehetően az intenzív tenyésztéssel



az alföldi területekről időközben eltűnt fehér és fekete színű magyar parlagi pulykák helyi változata (Szalay, 2015).

A Géngyűrű program folytatásaként tervezzük további tájfajták és ökotípusok génmentési programját is, elsősorban az erdélyi szálás juh fekete színváltozata, a régi típusú, kisebb testű erdélyi bivaly (Varga, 2011), az igavonó képességéről máig híres székely ló (Hankó, 1943), a régi fajták felhasználásával Erdélyben kialakított báznai sertés és a bánáti lúd (Matiuti, 2010) tapasztalataink szerint ma még megmenthető.

## Irodalomjegyzék

- Hankó B. (1943): Székely lovak. Nagy Jenő és Fia Könyvnyomdája, Kolozsvár
- Kovácsy B. (1909): A szarvasmarha tenyésztése. „Patria” Irodalmi Vállalat és Nyomdai Rt. Budapest
- Matiuti, M. (2010): Erdély régi és veszélyeztetett háziállat-fajtái és állományai. Állattenyésztés és Takarmányozás 59: 87-95.
- Szalay I. (2015): Régi magyar baromfifajták a XXI. században. Old Hungarian Poultry in the 21st century. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Szalay I., Barta I., Nagyné Kovács J., Lan Phuong, T. N., Zöld O. Zs., Fügediné Berényi Á. Dong Xuan, K. D. T., Koppány G. (2015): Integrating gene rescue programmes into the protection system of farm animal genetic resources of the Carpathian Basin – A Hungarian proposal. In: Hajas P., Gáspárdy A. (ed.) 25 years with DAGENE: The Jubilee Proceedings, which comprise the history of this international NGO in the field of preservation of rare domestic animal breeds in the Danube basin. 18-20 August, Debrecen, Hungary. Palatia Nyomda és Kiadó Kft, Győr. 134-140 p.
- Szalay I., Barta I., Emődi A., Koppány G., Lan Phuong T. N., Dong Xuan K. D. T. Kovács R. K., Babay G., Berényi F. A., Dobos A., Gall L., Kánya F., Köbölkuti L., Mátéffy E., Rákossy Zs. (2016): Gene rescue programmes to protect local farm animal breeds in the Carpathian Basin: The Gene Ring Project – A Géngyűrű Program. Proc. 9th VN-HU Conference, 20-24 September, Tra Vinh, Vietnam. 39-48 p.
- Tormay B. (1904): Nádudvari uram vasárnapi beszélgetései mezőgazdasági dolgokról. Franklin Társulat, Budapest
- Tormay B. (1905): Általános állattenyésztéstan. „Patria” Irodalmi Vállalat és Nyomdai Rt. Budapest
- Varga Gy. (2011): Bivalytenyésztés Mérában. Stúdió Könyvkiadó, Kolozsvár

## ***In vivo, ex situ* baromfi génmegőrzés. Délkelet-ázsiai mintaprogramok**

DO THI DONG XUAN – THIEU NGOC LAN PHUONG – BÓDI LÁSZLÓ – SZALAY ISTVÁN



Woolliams és munkatársai (2008) szerint minden eddigénél fontosabbá vált a háziállat-géntartalékok jövőjének biztosítása átfogó génmegőrzési programok segítségével. A fejlett országok génmegőrzési programjainak többsége az *in vitro* génmegőrzés, az *in situ* génmegőrzés és az állattenyésztési ágazat közötti együttműködések alapul (FAO, 2007a). Az *in vitro* és az *in situ* génmegőrzés azonban sok esetben nem elég a géntartalékok helyreállításához. Ha egy fajta földrajzilag elszigetelt, véglegesen eltűnhet egy helyi katasztrófa következtében (Carson és munkatársai, 2009). Éppen ezért lehet fontos az *ex situ* populációk kialakítása génmegőrzésre. Tanulmányunk ismerteti a magyar baromfi-géntartalékok Haszonállat-génmegőrzési Központ (HáGK) által indított *ex situ*, *in vivo* génmegőrzési programját Délkelet-Ázsiában, és bemutatja a program részét képező adaptációs kutatások eredményeit.

### Az *in vivo*, *ex situ* génmegőrzési program alapelvei

A baromfi-géntartalékok megőrzésének három módszere ismeretes. Az első két módszer a genetikai anyag élő peték, embriók, sperma, illetve a genetikai információ DNS formájában való megőrzése, a harmadik pedig az élő populációk fenntartása. Baromfi esetében ugyanakkor az *in vitro* génmegőrzés sokkal bonyolultabb, mivel a teljes élő petesejt vagy embrió közvetlenül nem megőrizhető *in vitro* módon, ezért különböző technikákat tanulmányoznak az *in vitro* konzerváció megoldására, pl. a mélyhűtött őscsírasejtek (PGCs) vagy a naposkori ivarszervszövetek felhasználását az élő egyedek előállítására (Liptói és munkatársai, 2013; Barna és munkatársai, 2016; Patakiné Várkonyi és munkatársai, 2016). Az *in vivo* génmegőrzés során a fajták hozzáférhetők, vizsgálhatók és felhasználhatók jelen agroökológiai viszonyaink között és a jövő tenyésztési stratégiái számára egyaránt. Az élő populációk *ex situ* génmegőrzése alatt őshonos fajtáknak a természetes élőhelyükön kívüli tenyésztését értjük (FAO, 2015). *Ex situ* tenyészpopulációk kialakítása előtt szükséges a célok pontos megfogalmazása, különös tekintettel arra, hogy a program célja egyes gének vagy a populáció megőrzése, továbbá arra, hogy a tenyésztési kívánt állatok képesek-e megfelelően alkalmazkodni az eltérő környezethez. Fontos szempont az is, hogy a populációnak lehet-e bármilyen negatív hatása a helyi biodiverzításra, különösen földrajzilag távol eső területeken. Az alapító populáció mérete rendkívül fontos. Minél nagyobb az alapító populáció, annál nagyobb genetikai variációval indul a génmegőrzési program. Az alapító populáció nukleusz tenyésztetté válhat, amely kapcsolatban lesz egyéb gazdaságokkal és tenyészetekkel a programon belül.

A baromfi *in vivo*, *ex situ* génmegőrzési programok megvalósításának ajánlott lépései:

1. Megfelelő földrajzi régió és partnerek keresése.
2. Az élő *ex situ* baromfi populáció kialakítására kiválasztott régió biodiverzitásának vizsgálata.
3. Megfelelő méretű *ex situ* nukleuszpopuláció, amely nem beltenyésztett, és megfelelő szaporasággal rendelkezik. Fontos, hogy a megőrizni kívánt populáció/fajta genetikai sokszínűségét a kiinduló populáció reprezentálja.
4. Adaptációs vizsgálatok végzése a kiválasztott élőhelyen.

5. A populáció növelése az elfogadható effektív populációméretig ( $N_e > 100$ ), az alapító populáció megfelelő reprezentálásával minden generációban (szándékos és véletlen szelekció kizárása).
6. A nukleuszpopuláció tenyésztésben tartása és a fajta ellenőrzött bevonása a helyi állattenyésztési gyakorlatba.

A valós termelési paraméterek az új környezetben felkelthetik az érdeklődést a fajta iránt. Még fontosabb, hogy a megőrzött fajta új szerepét ismerhetjük fel az új élőhelyen, valamint új helyi piac alakulhat ki a termékek iránt. Kiváló példa erre a gyöngytyúk, ami Afrikán kívül is gyorsan elterjedt (Romanov és munkatársai, 1996; Baeza és munkatársai, 2001; Dong Xuan és munkatársai, 2014; Szalay és munkatársai, 2015).

### Délkelet-Ázsia – egy lehetséges régió az *ex situ* baromfi génmegőrzésre

A délkelet-ázsiai országokban, a világ földterületének kb. 4 százalékán (Kambodzsa, Indonézia, Laosz, Fülöp-szigetek, Vietnam) él a világ mezőgazdasági népességének kb. 10 százaléka (FAO, 2007b). Ezek az országok a népességük, a földterületük nagysága, az egy főre jutó GDP, a kormányzati rendszer és a vallás tekintetében rendkívül sokszínűek, de hasonlóak abban, hogy gazdag a biodiverzitásuk és jelentős baromfigenetikai erőforrásokkal rendelkeznek. Alders és Pym (2009) szerint Délkelet-Ázsiából más országokba is elterjeszthetők baromfi-fajták. A világ pulykafajtáinak 3, a tyúk- és lúdajták 5 és a kacsafajták 14 százaléka található meg Délkelet-Ázsiában. A régióban leírt 163 őshonos baromfi-fajtából 2 fajta a kritikus/kritikus-megőrzött, 6 fajta a veszélyeztetett kategóriába tartozik, míg 90 fajta státusza ismeretlen (FAO, 2007b). A közölt adatok azonban valószínűleg alábecsülik a valós helyzetet, elsősorban az információhiány miatt. Vietnamban 37 őshonos tyúkfajta státusza veszélyeztetett (Lan Phuong és munkatársai, 2015b).

A legtöbb délkelet-ázsiai ország trópusi éghajlatú. A monszun alakítja a klímát, jellemző a magas hőmérséklet, a nagy páratartalom és a sok csapadék egész évben. A baromfitenyésztés számára ez az éghajlat kedvezőbb a kontinentális klímánál (mint pl. a magyarországi éghajlat). Korábbi vizsgálatok szerint a magyar fajták tojói Vietnamban több tojást tojnak, mint az eredeti élőhelyükön, Magyarországon, lényegesen vastagabb tojánhéjjal, ami védelmet nyújt a trópusi éghajlati hatásokkal szemben (Dong Xuan és munkatársai, 2017a).

Délkelet-Ázsiában a baromfi a legjelentősebb állati fehérjeforrás, ami az alacsony termelési költségeknek, a helyi életstílusnak, a népességnek, a kereskedelmi és kommunikációs viszonyoknak köszönhető. A régióról azt tartják, hogy a világon a legnagyobb fejlődési potenciállal rendelkezik az állattenyésztés területén (Tangendjaja, 2010). Bár Délkelet-Ázsia baromfitermelésének nagyobb része iparszerű termelésből származik, párhuzamosan léteznek a kisgazdaságok és a családi gazdálkodás is, melyek évszázadok óta szerves részei a helyi baromfitenyésztésnek (Wilson, 2007; Bett és munkatársai, 2014). Ez az együttélés előreláthatólag a jövőben is működni fog, az őshonos fajták pedig nagy szerepet játszhatnak a kisüzemi termelésben.

Az ázsiai gazdasági válság ráadásul több délkelet-ázsiai országot a hagyományos fajták hasznosításának újragondolására sarkallta, pl. az ipari fajtákkal való keresztezésben (FAO/UNEP, 2000). Egyre több kormányzat és intézmény hozott politikai döntéseket és kezdett gén-



megőrzési programokba, valamint támogat olyan kutatásokat, amelyek az őshonos genetikai erőforrások jobb megismerését szolgálják (FAO, 2003a; FAO, 2003b; FAO, 2003c; FAO, 2004). A fentiekben vázolt kedvező feltételek miatt Délkelet-Ázsia ígéretes választás lehet az *ex situ* baromfi-génmegőrzés célterületeként.

### Magyar-vietnami-laoszi együttműködés a „Kutatás a Fejlesztésért” (R&D) területén

Az utóbbi két évtizedben hagyományossá vált Magyarország, konkrétan a HáGK (korábbi nevén Kisállattenyésztési Kutatóintézet, KÁTKI) és a Magyar Kisállattenyésztők Génmegőrző Egyesülete (MGE) baromfikutatói együttműködése egyes délkelet-ázsiai országokkal, különösen Vietnammal: Állattudományok Nemzeti Intézete (NIAH, majd NIAS); Thuy Phuong Baromfikutató Központ (POREC); Can Tho Egyetem (CTU), Tra Vinh Egyetem (TVU), 1. számú Akvakultúra Kutatóintézet (RIA1) és Laoszal: Nemzeti Mezőgazdasági és Erdészeti

Év	Helyszín	A rendezvény címe
1999	Thu Duc Egyetem Vietnam	1. Vietnami-Magyar Szimpózium: Kisállattenyésztési Kutatások és Fenntartható Mezőgazdasági Fejlesztés Integrált Gazdálkodási Rendszerekben
2001	KÁTKI Gödöllő HAKI Szarvas Magyarország	2. Magyar-Vietnami Szimpózium: Kisállattenyésztési Kutatások és Fenntartható Mezőgazdasági Fejlesztés Integrált Gazdálkodási Rendszerekben
2003	NIAH Hanoi Vietnam	3. Vietnami-Magyar Szimpózium: Állattenyésztés és Akvakultúra – Minőség és Vidékfejlesztés
2004	KÁTKI Gödöllő HAKI Szarvas Magyarország	4. Magyar-Vietnami Szimpózium: Állattenyésztés és Akvakultúra – Minőség és Vidékfejlesztés
2007	Can Tho Egyetem Vietnam	5. Vietnami-Magyar Nemzetközi Konferencia: Állattermék-előállítás és Akvakultúra a Fenntartható Gazdálkodásért
2008	Hanoi Vietnam	7. RBI Világkonferencia: A Genetikai Erőforrások Megőrzése – „A Globalizáció Hatása a Haszonállatgenetikai Erőforrásokra”
2009	KÁTKI Gödöllő Magyarország	6. Magyar-Vietnami Konferencia: Kooperáció a Fenntartható Állattermék-előállításban és Akvakultúrában
2012	Can Tho Egyetem Vietnam	7. Vietnami-Magyar Nemzetközi Konferencia: Mezőgazdasági Kutatás a Fejlesztésért
2015	HáGK Gödöllő OMÉK Budapest Magyarország	8. Magyar-Vietnami Konferencia: Az Agrobiodiverzitás Védelme és Kutatása
2016	Tra Vinh Egyetem Vietnam	9. Vietnami-Magyar Nemzetközi Konferencia: Kutatás a Fenntartható Mezőgazdaság Fejlesztéséért

3. táblázat. A HáGK és délkelet-ázsiai partnerei által szervezett nemzetközi konferenciák felsorolása

Kutatóintézet (NAFRI). A közös programokban résztvevő szakemberek egy része Magyarországon szerzett diplomát vagy vett részt képzésben.

A magyar és a vietnami kormányok által támogatott nemzetközi projektek révén Magyarország, Vietnam és Laosz szakintézményei kidolgoztak egy háromoldalú együttműködést, a „Mezőgazdasági Kutatás a Fejlesztésért (ARD)” programot. A program olyan optimális körülmények kialakítását jelenti, ami segíti a fenntartható mezőgazdaság megőrzését a fejlődő országokban (Dong Xuan és Szalay, 2007). A sokrétű együttműködési program keretében a HáGK és délkelet-ázsiai partnerei 10 nemzetközi konferenciát szerveztek az elmúlt 20 évben (3. táblázat), valamint 5 magyar őshonos baromfifajta eredményes honosítása történt meg Vietnamban és Laoszban.

A közös adaptációs kutatások eredményei szerint a régi magyar baromfifajták kiválóan alkalmazkodtak a délkelet-ázsiai körülményekhez, extenzív tartási körülmények között termelésük meghaladta a várakozásokat. Magyar szakemberek segítettek a technológia kidolgozásában és a helyi gazdálkodók oktatásában. A kutatási eredmények és termelési tapasztalatok kiváló alapot szolgáltatnak további együttműködések kialakítására a régió más országaiban is.

### A magyar baromfifajták délkelet-ázsiai *ex situ*, *in vivo* génmegőrzési programjainak eredményei

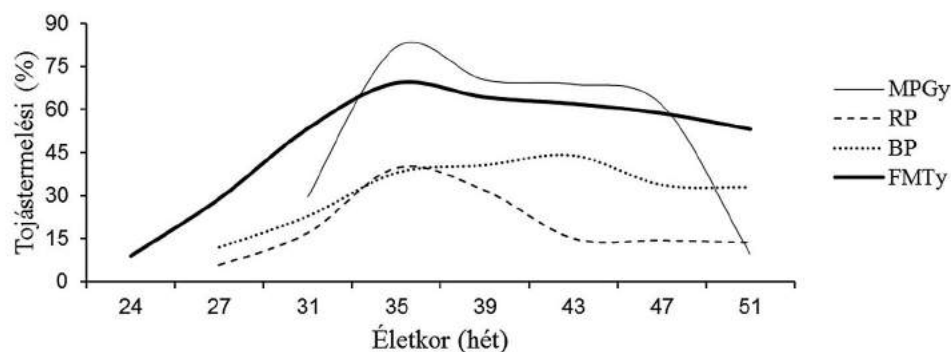
Az őshonos magyar tyúkfajták nemcsak kiváló húsminőséggel rendelkeznek mind forró, mind hűvös időjárás mellett (Báldy, 1954; Szalay, 2015), de viszonylag jó tojástermelési képességgel is (Lan Phuong és munkatársai, 2014; Bódi és munkatársai, 2015). A magyar parlagi gyöngytyúk (MPGy) volt az első, Vietnamban honosított magyar baromfifajta a délkelet-ázsiai *ex situ* génmegőrzési program keretében. A gyöngytyúk nem jelenthetett veszélyt a helyi tyúkfajtákra, mivel az azokkal való esetleges véletlen kereszteződésből származó utódok nem termékenyek (Szalay és Dong Xuan, 2007). A MPGy sikeres adaptációja után a magyar rézpulyka (RP), a magyar bronzpulyka (BP) és a fogolyszínű magyar tyúk (FMTy) exportjára került sor néhány évvel később. A magyar baromfifajták tojásait repülőgépen szállították Észak-Vietnamba, és a Thuy Phuong Baromfikutató Központban (POREC) keltették ki. A vizsgálatok során az állatokat a POREC szigorúan elkülönített kísérleti telepén nevelték és tartották. Az életképességet, a növekedési erélyt, a vágási paramétereket, a termelt tojás mennyiségét és a tojástermelési százalékot (a honosított tojók százalékában kifejezve) a 4. táblázatban és a 3. ábrán mutatjuk be. A Vietnamban vizsgált magyar baromfifajták jó életképessége (nagy túlélési aránya), megfelelő termelési és szaporasági tulajdonságai igazolják kiváló alkalmazkodó képességüket Észak-Vietnam szubtrópusi klímájához.

Az észak-vietnami sikeres adaptációs vizsgálatok eredményei alapján a HáGK az MGE-vel, a POREC-kel, a CTU-val és a TVU-val együttműködve Délnyugat-Vietnamba, trópusi körülmények közé (Dong Nai-ba és a Mekong-deltába) is szállított magyar gyöngytyúkot és fogolyszínű magyar tyúkot adaptációs vizsgálatokra. A helyi állattartókat a POREC képezte ki, és az egész vizsgálatot a HáGK és az MGE szakemberei felügyelték. Az eredmények szerint a MPGy túlélési aránya 97,8, a FMTy-é pedig 99,8% volt (Dong Xuan és munkatársai, 2015; 2017a). Az eredmények Dong Nai-ban elmaradtak a Mekong-deltában megfigyelt eredmé-

Tulajdonságok	MPGy	RP	BP	FMTy
*Túlélési arány (%)	98.6	97.1	97.1	96.3
*Testsúly (g)	1295	4015	4906	1301
*Takarmányértékesítés (kg/kg)	2.62	3.97	3.27	3.48
*Vágott test aránya az élősúly %-ában	76.9	71.9	74.5	77.7
*A mell és a comb aránya a vágott test súlyának %-ában	51.4	60.3	61.9	51.5
Életkor az első tojás megtojásakor (nap)	199	193	190	168
Tojástermelés (%)	45.5	23.9	33.4	49.9
Keltethetőség (%)	82.3	78.1	71.6	81.9
Tojássúly (g)	43.2	72.5	75.6	54.9

\*MPGy: 13 hetes kor, FMTy: 12 hetes kor, RP és BP: 20 hetes kor

4. táblázat. Az Észak-Vietnamban (Thuy Phuong Baromfikutató Központ) nevelt magyar parlaji gyöngytyúk (MPGy), magyar rézpulyka (RP), magyar bronzpulyka (BP) és fogolyszínű magyar tyúk (FMTy) életképessége, testsúlya, vágóarányai és tojástermelése (Tien és munkatársai, 2007a és 2007b; Tien és munkatársai, 2010; Dong Xuan és munkatársai, 2017a nyomán)



3. ábra. Az Észak-Vietnamban (Thuy Phuong Baromfikutató Központ) nevelt magyar parlaji gyöngytyúk (MPGy), magyar rézpulyka (RP), magyar bronzpulyka (BP) és fogolyszínű magyar tyúk (FMTy) tojástermelésének alakulása a szaporodási időszakban (Tien és munkatársai, 2007a és 2007b; Tien és munkatársai, 2010; Dong Xuan és munkatársai, 2017a adatai alapján)

nyektől. Ez a különbség elsősorban a tartási különbségeknek tulajdonítható. A továbbiakban a FMTy és a vietnami helyi Mia fajta keresztezéses vizsgálatait végeztük el. Pozitív heterozist tapasztaltunk a testsúly tekintetében és negatív a takarmányértékesítésben. A keresztezett utódok, különösen a tojók jobb teljesítményt nyújtottak félszabad tartásban, mint félintenzív körülmények között (Dong Xuan és munkatársai, 2017b).

Több mint egy évtizeddel a vietnami adaptációs vizsgálatok megkezdése után a magyar baromfifajták kísérleti állományai jelen vannak az országban, északról délre, beleértve a hegyi területeket is (Hien, 2011; Phuong, 2013; Thong és munkatársai, 2013; Dieu, 2015; Vy és munkatársai, 2016). A helyi média és a kutatási jelentések szerint a magyar pulykák (HUBA pulykáknak nevezik) húsa nem túl puha és ezért kedvelt a helyi piacokon, a MPGy pedig nagyobb mell- és combarányal és sokkal kevesebb abdominális zsírral rendelkezik, mint

a helyi tyúkfajták (Hung, 2008; Dieu, 2015). A magyar baromfira úgy tekintenek, mint egy lehetőségre Vietnam jövőbeni baromfitenyésztésének továbbfejlesztésében (Tien és munkatársai, 2007b). A vietnami szakemberek mindezek mellett lehetőséget látnak a takarmánykeverékek helyettesítésére helyi, olcsó takarmányfélések felhasználásával, a magyar szakemberek által megismertetett tartástechnológiára alapozva, ezzel is csökkentve a tartási költségeket (MGE, 2014; Dong, 2016; Dong és Thu, 2016; Vy és munkatársai, 2016). A jó alkalmazkodó képesség (Hien, 2011; Thong és munkatársai, 2013; Lan Phuong és munkatársai, 2015a), a kiváló húsminőség (Dong és Thu, 2016), a gazdasági versenyképesség (Tien és munkatársai, 2007b; FARMVINA, 2014) azok a tulajdonságok, amelyek életképessé teszik a régi magyar baromfifajtákat Délkelet-Ázsia helyi piacain is.

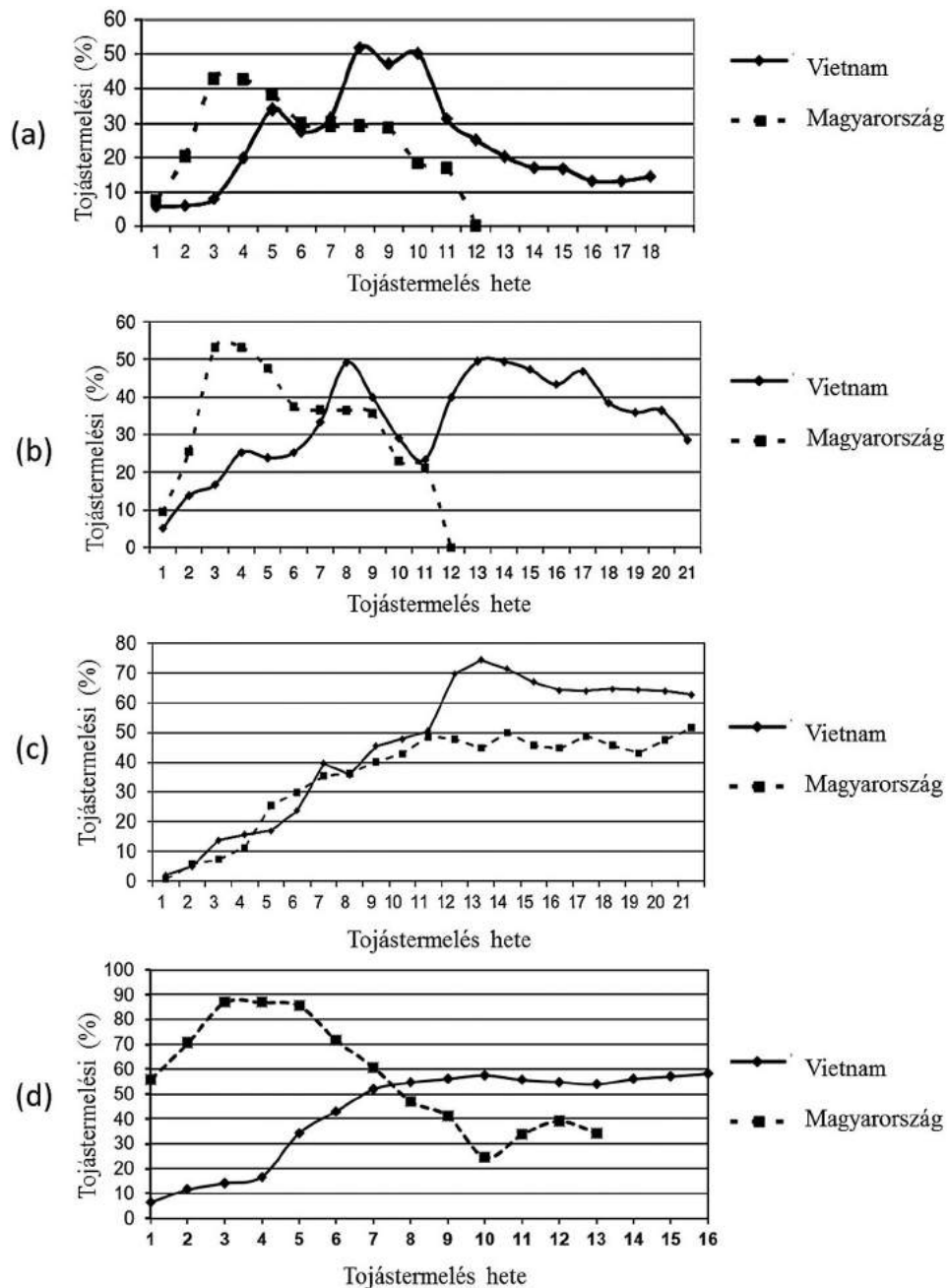
## Az adaptációs eredmények értékelése és tanulságai

Az *ex situ* génmegőrzés jelentőségét haszonállatfajták fejlődő országokban való honosításával – mint mellőzött kutatási területet – Marshall (2014) is említi tanulmányában. Ezzel összhangban eredményeink azt mutatják, hogy komoly lehetőségek kínálóznak a fejlődő országokkal való hasonló együttműködésben, legalábbis egyes baromfifajok esetében.

A HÁGK magyar baromfi génbankjában tartott állományokkal összehasonlítva, a Vietnamban nevelt MPGy, az RP, a BP és a FMTy jobb életképességet és alacsonyabb (kedvezőbb) takarmányértékesítést mutat (Tien és munkatársai, 2007a és 2007b; Tien és munkatársai, 2010; Dong Xuan és munkatársai, 2017a). A két különböző élőhelyen tartott fajták tojástermelését a 4. ábrán mutatjuk be. A magyar pulykafajták hosszabb időszakban termeltek tojást Vietnamban, mint Magyarországon. A FMTy szintén több tojást termelt Vietnamban, mint Magyarországon, ugyanakkor a tojások kisebbek és könnyebbek (valamint hosszabb formájúak) voltak. A kisebb méretet azonban teljesen ellensúlyozta a nagyobb számú tojás, miközben a vastagabb és nehezebb tojáshéj azt jelzi, hogy ezek a tojások védettebbek a káros környezeti hatásokkal szemben (Dong Xuan és munkatársai, 2016).

A programok fenti eredményei igazolják, hogy megfelelő agroökológiai szemlélettel (Archimede és munkatársai, 2014) integrálhatók a Kárpát-medencében őshonos baromfifajták Délkelet-Ázsia trópusi és szubtrópusi viszonyai között. Különböző eredetű, „őshonos és ritka” tyúkfajta keresztezésével bevonhatók külföldi baromfifajták a délkelet-ázsiai termelési gyakorlatba. A jelenlegi klímaváltozás mellett a magasabb hőmérsékletre és extenzívebb takarmányozáshoz jól alkalmazkodó baromfifajták szélesebb körben felhasználhatók (Hoffmann, 2010). Keresztezéssel két helyi fajta hasznos tulajdonságai – alkalmazkodó képesség, betegség-ellenállóság – kombinálhatók eredményesen (Szalay és munkatársai, 2016). Még fontosabb, hogy távoli fajták keresztezésével új minőségi tulajdonságokat hozhatunk létre, amelyek kiegészíthetik az adaptációs előnyöket (Dong Xuan és munkatársai, 2017b).

A régi magyar baromfifajták génmegőrzése mellett a délkelet-ázsiai *ex situ, in vivo* génmegőrzési programok fejlesztették és erősítették az együttműködést a fejlődő országok és Európa kutatóintézetei között, valamint a fejlődő országok intézményeinek kutatási és saját fajtaik génmegőrzési kapacitását. Az ismertetett program eredményei a szegénység csökkentésében is hasznosíthatók (Szalay és Dong Xuan, 2007). A vidéki emberek a program segítségével



4. ábra. Az Észak-Vietnamban (Thuy Phuong Baromfikutató Központ), illetve Magyarországon, a HÁGK telepén nevelt magyar rézpulyka (RP), magyar bronzpulyka (BP), fogolyszínű magyar tyúk (FMTy) és magyar parlagi gyöngytyúk (MPGy) tojástermelésének összehasonlítása (Tien és munkatársai, 2007a és 2007b; Dong Xuan és munkatársai, 2008; Tien és munkatársai, 2010; Dong Xuan és munkatársai, 2017a adatai alapján)

kiváló minőségű termékeket termelhetnek saját felhasználásra vagy piaci céllal anélkül, hogy életmódjukat vagy az őket körülvevő agrárökológiai rendszert kényszerűen megváltoztatnák.

A régi magyar baromfifajták délkelet-ázsiai adaptációs vizsgálatának eredményei azt is sugallják, hogy a Kárpát-medencében kialakult haszonállatfajták a világ legtöbb helyén, szélsőséges klimatikus viszonyok között is életképesek és termelésre alkalmasak maradnak, míg fordítva ez általában nem mondható el. Ez a tény a magyar génmegőrzési programokat különösen értékesé és hasznossá teheti nemcsak hazai, hanem nemzetközi viszonylatban is (Dong Xuan és munkatársai, 2017a).

A baromfi génmegőrzésben az *ex situ* megőrzést biztonsági tartaléknak tekinthetjük, ami az elterjedt *in situ* fajtafenntartás biztonságát növeli és hosszú távú védelmet nyújt. Az a tény, hogy a vizsgálatok során a magyar baromfifajták jobb teljesítményt nyújtottak idegen környezetben, mint saját eredeti élőhelyükön, azt igazolja, hogy a magyar baromfi génmegőrzési programok nemzetközi szinten is megállják a helyüket, és fontos szerepet játszhatnak a „Mezőgazdasági Kutatás a Fejlesztésért” programok tudományos együttműködéseiben és a helyi termelési gyakorlatban egyaránt.

## Irodalomjegyzék

- Alders, R. G., Pym, R. A. E. (2009): Village poultry: still important to millions, eight thousand years after domestication. *World's Poultry Science Journal* 65(2): 181-190.
- Archimede, H., Gisele, A., Mahieu, M., Fleury, J., Petro, D., Garcia, G. W., Fanchone A., Bambou, J. C., Magdeleine, C. M., Gourdine, J. L., Gonzalez, E., Mandonnet, N. (2014): Agroecological resources for sustainable livestock farming in the humid tropics. In 'Sustainable Agriculture Reviews 14'. Eds. H. Ozier-Lafontaine, M., Lesueur-Jannoyer. Springer, Switzerland. 299-330 p.
- Baeza, E., Juin, H., Rebours, G., Constantin, P., Marche, G., Leterrier, C. (2001): Effect of genotype, sex and rearing temperature on carcass and meat quality of guinea fowl. *British Poultry Science* 42(4): 470-476.
- Báldy B. (1954): Baromfitenyésztés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Barna J., Liptói K., Patakiné Várkonyi E. (2016): Mentsük a menthetőt – új lehetőségek baromfifélék *in vitro* génmegőrzésének terén: Irodalmi áttekintés. Save what can be saved – new possibilities in *in vitro* gene preservation of poultry species. Literature review. *Magyar Állatorvosok Lapja* 138: 621-630.
- Bett, R. C., Bhuiyan, A. K. F. H., Khan, M. S., Silva, G. L. L. P., Thuy, L. T., Sarker, S. C., Abeykoon, M. N. D., Nguyen, T. T. H., Sadeq, S., Kariuki, E., Baltenweck, I., Poole, J., Mwai, O., Ibrahim, M. N. M. (2014): Indigenous chicken production in the South and Sout East Asia. *Livestock Research for Rural Development* 26: article 229.
- Bódi L., Thieu Ngoc Lan Phuong, Kovácsné Gaál K., Konrád Sz., Barta I., Kisé Do thi Dong Xuan, Szentes K. Á., Szalay I., Lencsés Gy. (2015): A tojások fizikai minőségének összehasonlító vizsgálata különböző típusú tyúkfajtaállományokban. *Animal welfare, etológia és tartástechnológia* 11(2): 70-77.
- Carson, A., Elliot, M., Groom, J., Winter, A., Bowles, D. (2009): Geographical isolation of native sheep breeds in UK – evidence of endemism as a risk factor of genetic resources. *Livestock Science* 123: 288-299.
- Dieu, N. D. (2015): Ky thuat chan nuoi ga Tay Huba thit 1 & 2. *Trung Tam Khuyen Nong Quoc Gia, Vietnam*
- Dong, N. T. K. (2016): Study of replacing coconut meal protein for dietary protein on growth rate and meat performance of growing Guinea fowls. *Tap chi Khoa hoc Truong Dai hoc Can Tho, so chuyen de Nong nghiep* 2: 106-112.
- Dong, N. T. K., Thu, N. V. (2016): Effect of supplementation of soya waste in diets on growth rate, carcass quality and economic returns of Guinea fowls. *Tap chi Khoa Hoc va Cong Nghe Chan Nuoi* 68: 83-94.



- Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I. T. (2007): Agricultural research for Development (ARD) – Trilateral Hungarian-Vietnamese-Lao sample to develop poultry breeding in South-East Asia. Proceedings of 5th Vietnamese-Hungarian International Conference on Animal Production and Aquaculture for Sustainable Farming, Can Tho University, 11-15 August, Can Tho, Vietnam. 1-5 p.
- Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I. T., Duc Tien, P., Minh Thu, P. T., Dang Vang, N. (2008): Adaptation of old Hungarian poultry breeds in Southeast Asia - An alternative way of conservation. Proceedings of 7th RBI Global Conference on the Conservation of Animal Genetic Resources “Impact of the Globalisation on the Animal Genetic Resources”, 14-18 September, Hanoi, Vietnam. 13-18 p.
- Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I., Tien, P. D., Thu, P. T. M., Lan Phuong, T. N. (2014): Production studies of a guinea fowl variety of Hungarian origin in the tropical regions of Vietnam. Athens Journal of Sciences 2(3): 203-211.
- Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I., Lan Phuong, T. N. (2015): Adaptation of Hungarian guinea fowl to tropical underprivileged regions of South Vietnam. Emerging innovations in agriculture: from theory to practice (edited by Rakshit, A.), ATINER, Athens, Greece. 197-204 p.
- Dong Xuan, K. D. T., Lan Phuong, T. N., Minh Thu, P. T., Tien, P. D., Szalay, I. T. (2016): Status of old Hungarian poultry breeds adapted to the subtropics and tropics of Vietnam. Proc. 9th VN-HU Conference, 20-24 September, Tra Vinh, Vietnam. 49-57 p.
- Dong Xuan, K. D. T., Lan Phuong, T. N., Tien, P. D., Thu, P. T. M., Khiem, N. Q., Nhung, D. T., Muoi, N. T., Oanh, N. T. K., Thanh, P. T. K., Szalay, I. T. (2017a): In situ and *ex situ* assessment of a native Hungarian chicken breed for its potential conservation and adaptation in the subtropics. Animal Production Science 57(5): 975-980.
- Dong Xuan, K. D. T., Lan Phuong, T. N., Minh Thu, P. T., Tien, P. D., Khiem, N. Q., Szalay, I. T. (2017b): Productivity studies and crossbreeding of two geographically distant native chicken breeds for enhanced conservation. Kézirat. HáGK, Gödöllő
- FAO (2003a): Country report on status of the Philippines’ animal genetic resources.
- FAO (2003b): Indonesia national report on animal genetic animal genetic resources.
- FAO (2003c): Vietnam national country report on animal genetic resources.
- FAO (2004): Lao People’s Democratic Republic country report on animal genetic resource management.
- FAO (2007a): The State of the World’s Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Rischkowsky, B. and Pilling, D. FAO, Rome
- FAO (2007b): Sub regional report on animal genetic resources: Southeast Asia. Annex to the State of the World’s Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Rome
- FAO (2015): The Second Report on the State of the World’s Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Scherf, B. D. and Pilling, D. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments, Rome.
- FAO/UNEP (2000): World watch list for domestic animal diversity. 3rd edition. Edited by Scherf, B. D. FAO, Rome
- FARMVINA (2014): Tim hieu giong ga tây HUBA. <https://farmvina.com/giong-ga-tay-huba/>
- Hien, N. T. T. (2011): Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái của loài gà Sao (Helmeted Guinea fowl) trong điều kiện nuôi thả vườn tại thị xã Thang Bình tỉnh Quảng Nam. Luận văn thạc sĩ, đại học Đà Nẵng.
- Hoffmann, I. (2010): Climate change and the characterization, breeding and conservation of animal genetic resources. Animal Genetics 41: 32-46.
- Hung, N. D. (2008): The adaptable, growth and meat production of large strain guinea fowl keeping at chicken farm in Thai Nguyen. Tạp chí Khoa Học Công Nghệ 1(45): 107-110.
- Lan Phuong, T. N., Barta, I., Bódi, L., Dong Xuan, K. D. T., Kovács, J. N., Ferencz, T. R., Szalay, I. T. (2014): Egg production profiles of seven traditional Hungarian chicken breeds. European Poultry Science 78: paper 10.1399/eps.2014.69.9p.
- Lan Phuong, T. N., Dau, N. T., Thuy Linh, N., Thanh My, N., Minh Thu, P. T., Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I. (2015a): Introduction and technical figures on adaptation of Partridge Coloured Hungarian chicken breed in the Mekong Delta, Vietnam. Proceedings of the 8th Hungarian-Vietnamese Symposium on Agrobiodiversity Protection and Research. Budapest, Hungary. 14. p.
- Lan Phuong, T. N., Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I. T. (2015b): Traditions and local use of native Vietnamese chicken breeds in sustainable rural farming. World’s Poultry Science Journal 71(2): 385-396.
- Liptói, K., Horváth, G., Gál, J., Váradi, E., Barna, J. (2013): Preliminary results of the application of gonadal tissue transfer in various chicken breeds in the poultry gene conservation. Animal Reproduction Science 141(1-2): 86-89.
- Marshall, K. (2014): Optimizing the use of breed types in developing country livestock production systems: a neglected research area. Journal of Animal Breeding and Genetics 131: 329-340.
- MGE (2014): NEFE report on the establishment of an adaptation experiment of Partridge Coloured Hungarian chicken (PHc) in the Mekong Delta, Vietnam.
- Phuong, P. T. T. (2013): Kha nang san xuat cua ga tay Huba nuoi tai trai nghien cuu gia cam Cam Binh. Luận văn thạc sĩ, trường đại học nông nghiệp Hanoi.
- Patakiné Várkonyi E., Molnár M., Sztán N., Váradi Éva, Végi B., Pusztai P. (2016): Egy értékes hazai baromfifajtánk, a Magyar parlagi gyöngytyúk (*Numida meleagris*) embrionális blasztoderma sejtjeinek mélyhűtése génmegőrzés céljából. Magyar Állatorvosok Lapja 138(11): 673-680.
- Romanov, M. N., Wezyk, S., Cywa-Benko, K., Sakhatsky, N. I. (1996): Poultry genetic resources in the countries of Eastern Europe – History and current state. Poultry and Avian Biology Reviews 7(1): 1-29.
- Szalay I. (2015) Régi magyar baromfifajták a XXI. században. Old Hungarian Poultry in the 21<sup>st</sup> century. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Szalay, I., Dong Xuan, K. D. T. (2007): Sustainability and gene conservation as guiding principles of the Hungarian-Vietnamese poultry research for development. Proceedings of the 5th Vietnamese-Hungarian International Conference on Animal Production and Aquaculture for Sustainable Farming. 11-15 August, Can Tho University, Can Tho, Vietnam. 21-25 p.
- Szalay I., Barna J., Barta I., Bodó I., Ferencz T. R., Kisné Do thi Dong Xuan, Koppány G., Nagyné Kovács J., Thieu Ngoc Lan Phuong (2015): A gyöngytyúk tenyésztése és fajtavédelme Magyarországon. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Tangendjaja, B. (2010): Global Competitiveness of Poultry Production in South East Asia Countries. Wartazoa 20(4): 161-171.
- Thong, H. T., Duc, H. T., Nha, P. T., Ueru, T., An, L. V., Lien, T. N. (2013): Ky thuat nuo ga sao trong nong ho doi nui, NXB Dai hoc Hue.
- Tien, P. D., Thu, P. T. M., Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I., Dung, N. N., Dan, B. T. T., Loc, H. V., Lanh, N. T., Phuong, P. T. T. (2007a): Some observation on eco-technical parameters of turkey imported from Hungary. Proceedings of the 5th Vietnamese-Hungarian International Conference on Animal Production and Aquaculture for Sustainable Farming. 11-15 August, Can Tho University, Can Tho, Vietnam. 26-32 p.
- Tien, P. D., Thu, P. T. M., Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I., Oanh, N. T. K., Loc, H. V., Huong, T. T. T. (2007b): Study on selection for improvement of three guinea fowl lines’ production through three generations. Proceedings of the 5th Vietnamese-Hungarian International Conference on Animal Production and Aquaculture for Sustainable Farming. 11-15 August, Can Tho University, Can Tho, Vietnam. 66-74 p.
- Tien, P. D., Thu, P. T. M., Dung, N. N., Nga, N. T., Dan, B. T. T., Dong Xuan, K. D. T., Szalay, I. (2010): Régi magyar pulykafajták Délkelet-Ázsiában: A vietnami adaptációs vizsgálatok áttekintése. Animal welfare, etológia és tartástechnológia 6(1): 49-68.
- Vy, N. T. T., Dung, D. V., Sen, T. T. B., Mai, T. T. H., Huyen, H. T. N. (2016): Study of characteristic of guineafowl’s appearance and meat productivity in household of Huong Tra town, Thua Thien Hue province. Tạp chí khoa học DHSP TPHCM 3(81): 78-87.
- Wilson, R. T. (2007): Status and prospects for livestock production in the Lao People’s Democratic Republic. Tropical Animal Health and Production 39(6): 443-52.
- Woolliams, J. A., Matika, O., Pattison, J. (2008): Conservation of animal genetic resources: approaches and technologies for in situ and ex situ conservation, Animal Genetic Resources Information 42: 71-85.



# Az *in vitro* génmegőrzés tudományos alapjai

## Génmegőrzés a hím szaporítóanyag hosszú távú tárolásával

VÉGI BARBARA – VÁRADI ÉVA – BARNA JUDIT



## Sejtek, szövetek, szervek mélyhűtéses konzerválásának alapjai

Az igen alacsony hőmérséklet élő szervezetekre, szervekre, szövetekre, illetve sejtekre gyakorolt hatásának vizsgálatával a kriobiológia tudománya foglalkozik. Ez a tudományág az utóbbi 60 évben óriási fejlődésen ment keresztül, ami az új technikák/technológiák megjelenésének köszönhető.

Sejtek, szövetek, szervek mélyhűtéses tartósításának nevezzük, amikor azokat hosszabb ideig 0 °C alatti hőmérsékleten tartjuk életképességük és funkciójuk megtartása mellett. A sejtek mélyhűtéssel történő tárolásának úttörője Lazzaro Spallanzani volt, aki 1776-ban ló ondóját „fagyasztotta” hóban és a felmelegítés után motilis sejteket talált. Ezt követően 1897-ben Molisch azonosította először, hogy alacsony hőmérsékleten a sejteken belüli jégképződés által okozott sérülések miatt halnak el a sejtek, így alapozva meg a kriobiológia tudományát. Ezt követően majd fél évszázadig nem történt jelentősebb előrehaladás a témában. *Luyet és Hodap (1938)* fagyasztott először sikeresen – vitrifikációs technikával – békaspermiumokat védőanyag nélkül. Egy véletlennek köszönhetően fedezték fel 1951-ben a glicerol sejtvédő hatását a fagyasztás során, ami megnyitotta az utat a kriobiológiai kutatások gyors fejlődése felé (*Polge, 1949*).

Legyen szó akár a sejtek, szövetek, szervek rövid távú vagy hosszú távú konzerválásáról, első lépésben szükséges azok hígítása, illetve ún. „védő” tápoldatba helyezése. A hígítók, tápoldatok olyan pufferelt sóoldatok, amelyek jótékony hatással vannak az adott sejtek, szövetek, szervek életképességének fenntartására mind rövid-, mind hosszú távú tárolás során. A jó hígítóval, tápoldattal szembeni követelmény, hogy izotóniás legyen, megfelelő puffer-rendszerrel rendelkezzen a szükséges pH fenntartásához, ellenkező esetben egyes sejtalkotók sérülhetnek. Az is követelmény, hogy kielégítő mennyiségben tartalmazzon tápanyagokat, esetleg fékezze a káros mikroorganizmusok elszaporodását (*Donoghue és Wishart, 2000*).

Lényegében a kriobiológia alapja a víz halmazállapot-változása és annak biológiai hatásai (*Liu és munkatársai, 2013*). A sejteket határoló sejtmembrán féligáteresztő hártaként működik, mely néhány molekulát gyorsan (pl. vízmolekula), más molekulákat lassabban (pl. enyhén poláros molekulák, mint a glicerol), míg megint másokat egyáltalán nem engedi át (pl. ionizált sókat, nagy molekulákat). Az oldott molekulák kiegyenlített eloszlása következtében a sejtek külső és belső tere között ozmózis nyomáskülönbség lép fel. Ez a különbség az oldószer ki- és beáramlásához vezet, mely mindaddig tart, míg a koncentrációkülönbség ki nem egyenlítődik. Ha az extracelluláris, azaz a sejten kívüli térben megnő az oldott anyagok mennyisége, akkor az intracelluláris, azaz a sejten belüli térből azonnal megkezdődik az oldószer kiáramlása, a sejt zsugorodni kezd. Az extracelluláris tér oldószertúlsúlya esetén ellentétes irányú áramlás indul meg, mely során a sejtek megduzzadnak (*Holt, 2000*).

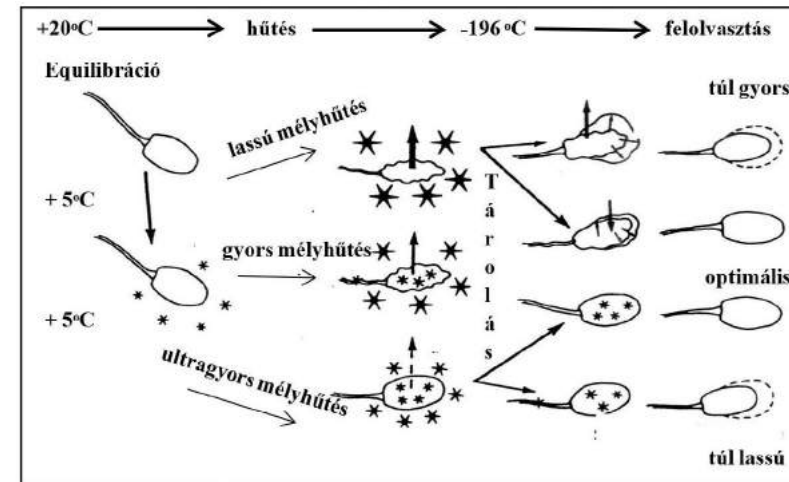
Az előzőekben említett glicerol sejtvédő hatásának felfedezése mérföldkönek számított a hosszú távú tárolásban. Ezt követően több olyan anyagot is találtak, melyek a sejteket határoló membránok lipid- és fehérjemolekuláinak átrendeződését okozzák, így fokozva a membrán áteresztőképességét, a dehidrációs képességet, melyen keresztül csökkenthetőek a fagyasztás káros hatásai (*Barbas és Mascarenhas, 2009*). Ezeket az anyagokat összefoglalóan krioprotektánsoknak hívjuk. A krioprotektív anyagokat két nagy csoportba oszthatjuk aszerint, hogy hol fejtik ki védőhatásukat. A kis molekulású krioprotektánsokat, melyek a sejtbe jutva védik

a sejteket, intracelluláris krioprotektánsoknak, míg azokat a nagy molekulású vegyületeket, melyek a sejten kívüli térben fejtik ki hatásukat, extracelluláris krioprotektánsoknak nevezzük. A penetráló, azaz intracelluláris védőanyagok az ozmózis nyomáskülönbség miatt eltávolítják a sejt belsejéből a vizet és csökkentik az oldat fagyáspontját. A nem penetráló, extracelluláris védőanyagok a sejtek közötti térben dehidrációt okozva védik a sejteket. Utóbbiakat újabb ozmoprotektánsoknak is nevezik.

A mélyhűtés során a sejtek két lépcsőben zsugorodnak össze. Először a krioprotektáns hozzáadásakor, majd a folyékony-szilárd átalakulás alatt, amikor az intercelluláris térben az oldott anyagok koncentrációja akár tízszeresre is nőhet (Hammerstedt, 1995). A mélyhűtés során a sejtek jelentős stressznek vannak kitéve (Amann és Picket, 1987; Hammerstedt és munkatársai, 1990), ami a krioprotektánsok alkalmazásából, a hiperozmotikus viszonyok miatti térfogatváltozásokból és membránfeszülésekből, valamint az intracelluláris jégkristályképződésből adódik (Parks és Graham, 1992). A mélyhűtést követő szerkezeti károsodás során elsősorban a sejtmembrán és a sejtszervecskék membránja károsodik (Harris és munkatársai, 1973). Az egyes hőmérsékleti tartományokban más és más típusú sérülések keletkeznek. A +15 és -5 °C közötti tartományban azok a fagyási sérülések dominálnak, melyek irreverzibilisen károsítják a citoplazma zsírcseppjeit és mikrotubulusait (Leibo és munkatársai, 1996). A legkritikusabb pontnak a 0 és -5 °C közötti tartományt tekintjük, amikor elsősorban extracelluláris jégkristályok képződnek (Buss, 1993). Jóllehet, -5 és -80 °C között szintén képződnek intra- és extracelluláris jégkristályok, ezek döntő többsége reverzibilis sérüléseket okoz. A mélyhűtés legkevésbé veszélyes szakasza a -150 °C alatti hőmérsékleti tartomány (Vajta és Nagy, 2006).

A hűtési sebesség alapján megkülönböztetünk lassú, egy lépcsős és lassú, több lépcsős programozott, ún. dinamikus hűtést, gyors nitrogéngőzös statikus hűtést, ultragyors pellet-módszert és a vitrifikációs eljárást. A programozott eljárás alapfeltétele egy programozható mélyhűtő berendezés, melyben a hűtés sebessége folyamatában ellenőrizhető. A nitrogéngőzös technikánál az adott sejt-, szövet- vagy szervmintákat a folyékony nitrogén gőzében azonos hőmérsékleten hűtjük. A hűtés sebessége a nitrogén szintjének távolságától függ, így a hűtés sebessége nehezebben kontrollálható. A pellet módszernél közvetlenül a folyékony nitrogénbe vagy szárazjég-tömbre cseppentjük a hígított mintákat. A vitrifikációs eljárás során a nagymértékben megnövelt viszkozitásnak és hűtési sebességnek (2500 °C/perc-től akár 600 000 °C/percig) köszönhetően az oldat üvegszerűen szilárdul meg, jégkristály képződése nélkül (Palasz és Mapletoft, 1996; Nawroth és munkatársai, 2002). A módszer alkalmazásához nagy mennyiségű krioprotektánsot tartalmazó vitrifikációs oldatot kell használni, illetve a minta mennyiségét extrém mértékben kell csökkenteni. Ez egyetlen petesejtet tartalmazó oldatnál vagy korai osztódó stádiumban lévő embriónál viszonylag könnyen megvalósítható (Vajta, 2000), azonban spermiumok esetében nehezebben kivitelezhető. A vitrifikáció alkalmazását nehezíti, hogy egy olyan rendszert igényel, amivel a hűtési sebességet maximalizálni lehet. Továbbá problémát okozhat a magas krioprotektáns tartalom miatt fellépő toxikus, illetve ozmotikus hatás minimalizálása (Vajta és Nagy, 2006). Ezért újabb a krioprotektáns nélküli vitrifikációs eljárások alkalmazhatóságát is kutatják (Isachenko és munkatársai, 2003; 2004).

A mélyhűtési eljárások különböző hűtési sebességei során a sejtekből való vízkiáramlás eltérő ütemben történik (5. ábra) (Hammerstedt és munkatársai, 1990). Lassú mélyhűtésekor a sejteken kívül nagy jégkristályok képződnek, melynek hatására a sejtől víz áramlik ki, így



5. ábra. A mélyhűtés folyamata (Hammerstedt és munkatársai, 1990)

a sejtekben nem vagy csak csekély mennyiségben képződik jégkristály. Azonban, ha a hűtési sebesség túl gyors, akkor nincs elég idő a vízkiáramlásra, így az intracelluláris jégkristályképződés miatt a sejtek irreverzibilisen károsodnak (Amann és Picket, 1987.). Egyes megállapítások szerint ultragyors hűtés (vitrifikáció) esetén a sejten belüli folyadék vitrifikálódása miatt nem képződnek jégkristályok, ezért a sejtek nem a fagyasztás során károsodnak, hanem sokkal inkább a felolvasztásnál jelentkező ozmotikus változások miatt (Morris és munkatársai, 2012).

A kriokonzerválás sikeressége nemcsak a mélyhűtés hatékonyságától függ, hanem hasonló fontosságú a mélyhűtött sejtek felolvasztása. A felolvasztás folyamata során a sejtekből eltávolított oldószer visszaáramlik a sejtekbe, ami szintén membránsérüléshez vezethet (Holt, 2000). A felolvasztás optimális sebessége függ a hűtési sebességtől. Általános megállapításként elmondható, hogy a lassú eljárással konzervált sejtek, szövetek, szervek lassú felolvasztást igényelnek, míg a gyors eljárással mélyhűtötték gyorsabb felolvasztást.

A fentiek alapján jól látható, hogy a mélyhűtési konzerválás bonyolult biokémiai és biofizikai folyamatok összessége. Eredményességét ezért számos tényező befolyásolja (optimális hígító-összetétel és krioprotektáns kiválasztása, a hűtés és felengedés ütemének és módjának megválasztása), melyek faj-, fajta-, illetve egyedi specifikussággal rendelkeznek.

## A hím szaporítóanyag hosszú távú tárolása

Az *in vitro* génmegőrzés leggyakorlatiasabb és sok faj esetében rutinszerűen alkalmazható módja napjainkban is az ondómélyhűtés. Az ondó mélyhűtésének, a genetikai sokszínűség megőrzésén túl szerepe van a mezőgazdasági termelésben, az akvakultúra vagy a biotechnológia területein is (Holt, 1997; Andrabi és Maxwell, 2007). A spermiumok mélyhűtése hozzájárul az asszisztált reprodukciós eljárások fejlődéséhez is.

A spermiumok legfőbb sajátosságai, hogy kevés citoplazmát tartalmazó haploid sejtek. A spermiumfej legnagyobb részét a sejtmag képezi, mely kondenzált formában a kromoszó-

mákat tartalmazza. A fej részében az akroszóma található, mely lehetővé teszi a spermiumok kapcsolódását a petesejthez és az akroszómából kiszabaduló enzimek segítségével a megtermékenyülést. A spermiumok nyaki részében található a mozgásért és energiaellátásáért felelős sejtközpont és a mitokondriumok, melyek szerepe, hogy a spermiumok a megtermékenyülés helyszínére jussanak (*Eddy és O'Brien, 1994*). A spermiumok fejének alakja és mérete is jelentősen befolyásolja a spermiumok fagyaszthatóságát. Több állatfajban és emberben is megállapították, hogy a spermiumok mélyhűhetősége negatív korrelációban áll a fej méretével (*Barbas és Mascarenhas, 2009*). A spermiumot kívülről a plazmamembrán határolja, mely speciális glikoproteineket és lipideket tartalmaz. A hőmérséklet-csökkenés hatására a plazmamembrán lipidjei átrendeződnek, ennek hatására történik a folyékony állapotból gél állapotba való fázisátalakulás. A hűtés hatására változik a membrán áteresztőképessége, specifikus proteincsatornák nyílnak meg. Többek között változik a kalciumszabályozás, mely számos sejtfunkciót befolyásol, mint pl. a kapacitációt vagy akár a programozott sejthalált is. Igazolódott, hogy a mélyhűtés során elsősorban a sejtmembrán, másodsorban a spermiumok mitokondriumai és az akroszóma sérülnek. A hűtés és fagyasztás során a membrán ellenállósága függ a membrán koleszterol/foszfolipid arányától, a lipidösszetételtől, valamint a hidrokarbon lánc telítettségétől. A membrán sérülékenységére vonatkozóan szintén faji különbségeket mutattak ki. A sertés spermiumai a legérzékenyebbek, a bika, a kos és a csődör spermiumai nagyon érzékenyek, a kutya és a macska spermiumai érzékenyek, míg a nyúl, az ember és a kakas spermiumai a legkevésbé érzékenyek a hűtés okozta sokkhatásokkal szemben (*Parks, 1997*). Azt is feltételezik, hogy a spermiumok fagyaszthatósága nemcsak a fajok között tér el, hanem különbség lehet az egyes hím egyedek között is e tekintetben, amit a genetikai háttér befolyásolhat (*Shamsuddin és Larsson, 1993; Watson 2000*).

Az ondó minőségi tulajdonságainak ellenőrzése mélyhűtés előtt és után nemcsak a mélyhűtés sikerének megállapítása miatt, hanem elsősorban a megtermékenyítés sikerességének szempontjából fontos. Az ondó minősítése minden esetben a mélyhűtés első lépése. Az ondó tárolásához célszerű csak kiváló minőségű mintákat használni. Az ondó minősítése, makroszkópos és mikroszkópos vizsgálatból áll. Makroszkópos vizsgálat során bíráljuk el az ondó színét, szagát, állagát, tisztaságát. Mikroszkópos vizsgálattal állapítjuk meg a spermiumok koncentrációját, motilitását és morfológiáját. Számos sejtanyagcserén és membránintegritáson alapuló vizsgálati módszert és *in vitro* tesztek fejlesztettek ki a sejtek életképességének meghatározására (*Nagy, 2001*). Napjainkban legkorszerűbbnek a számítógép által vezérelt spermiumanalizáló szoftverek számítanak (CASA rendszerek).

A mélyhűtés második lépése az ondóminták hígítása. Általánosságban elmondható, hogy az ondóhígítók extracelluláris (tej, tojássárgája) és intracelluláris (glicerol, etilén-glikol, dimetil-szulfoxid) védőanyagokat, ún. krioprotektánsokat, pufferrendszert (TRIS, TES), sókat (nátrium-citrát, citromsav), egy- vagy többféle cukrot (glukóz, szacharóz, laktóz, trehalóz, raffinóz) és esetleg antibiotikumot (penicillin, streptomycin) tartalmaznak (*Evens és Maxwell, 1987*). A hígító pH-ja legtöbb esetben 6,75 és 7,2 között változik. Az elmúlt évek során számos ondóhígítót dolgoztak ki, melyek közül több kereskedelmi forgalomban is beszerezhető. A hígítók fő összetevője szerint – a teljesség igénye nélkül – a következő ondóhígító típusokat különböztetjük meg: citrát-cukor-, tej-, laktóz-, szacharóz-, TRIS-alapú és egyéb hígítók (*Barbas és Mascarenhas, 2009*).

A hígítóban található mono- és diszacharidok extracelluláris krioprotektánsként is funkcionálnak. A sejtmembrán számukra nem permeábilis, azonban a sejt közötti térben növelik az ozmózis nyomást, ami hozzájárul a sejtek vízvesztéséhez, így akadályozva az intracelluláris jégkristályképződést, és ezen keresztül javítják a sejtek túlélését (*Aisen és munkatársai, 2002*). Korábbi vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy a monoszacharidoknak erőteljesebb védőhatása van, mint a diszacharidoknak, ha TRIS pufferrel kombinálják (*Molinia és munkatársai, 1994*). Ahogy azt a korábbiakban láthattuk, a glicerol sejtvédő hatásának felfedezésével nyílt meg a sikeres ondómélyhűtés lehetősége. Azóta számos anyag sejtvédő hatását vizsgálták, de napjainkban is a glicerol a legszélesebb körben elterjedt krioprotektív anyag. Azonban sejtvédő hatása mellett, túl nagy mennyiségben alkalmazva számolnunk kell sejtkárosító hatásával és ennek következtében alacsonyabb túlélési rátával is. Hagyományos lassú mélyhűtés esetén a leggyakrabban 6–8%-ban tartalmaz az ondóhígító krioprotektáns (*Anel és munkatársai, 2003*). A fajok között különbség mutatkozik a glicerollal szembeni érzékenység tekintetében is. Sertés esetén alacsony glicerolkoncentrációnál is akroszóma-sérülések keletkeznek (*Curry, 2000*), ezzel szemben az erszényesek spermiumai a magas glicerolkoncentrációt is jól tolerálják (*Taggart és munkatársai, 1996*). Madarak esetében a glicerolnak a petevezetőben kontraceptív hatása van, ezért azt a megtermékenyítés előtt el kell távolítani. A nyúl és az elefánt viszont azon kevés fajok közé tartoznak, melyek ondójának mélyhűtése során sokkal jobb eredményeket érnek el a DMSO (dimetil-szulfoxid) alkalmazásával, mint a glicerollal. Számos törekvést ismerünk arra nézve, hogy a glicerolt hogyan és mivel lehetne csökkenteni, illetve kiváltani a mélyhűtés során. Egyes szerzők azt javasolják, hogy a tojássárgája mennyiségét növelve csökkenthető a glicerol mennyisége (*Evans és Maxwell, 1987*). A glicerol használatkor két lépésben hígítják az ondót. Ez azt jelenti, hogy első lépésben az alaphígítót adják az ondóhoz, majd ezt követően a glicerolt tartalmazó hígítót (*Barbas és Mascarenhas, 2009*), vagy a két hígító növekvő koncentrációban tartalmazza a glicerolt.

A mélyhűtés harmadik lépését, azaz magát a mélyhűtést megelőzően az ondót úgymond „csomagolni” kell, ami történhet 0,25 ml-es vagy 0,5 ml-es műszalmában, illetve fagyasztásra kifejlesztett műanyag csövecskékben (kriocső vagy ampulla). A műszalmákat, illetve az ampullákat általában egyedi jelöléssel látják el. Mint már az előzőekben ismertettük, a mélyhűtés történhet dinamikus módon, programozott fagyasztógépben, statikus módon, folyékony nitrogéngőzben, pelletmódszerrel, közvetlenül a folyékony nitrogénbe cseppentve, illetve vitrifikációval. Az optimális hűtési sebesség az egyes fajok spermiumainál más és más, egyes vizsgálatok szerint humán spermiumok esetében pl. 1–10 °C/perc, bikánál 50–100 °C/perc mutatkozott a legmegfelelőbbnek (*Woelders, 1997*). Génmegőrzési célból a FAO által javasolt hűtési eljárásokat az egyes fajokban az 5. táblázat mutatja.

A klasszikus vitrifikációs eljárás, mely során a hígító túlzottan nagy mennyiségben tartalmaz krioprotektánsokat, kevésbé eredményesen alkalmazható a spermiumoknál (*Isachenko és munkatársai, 2003*). Ennek ellenére az elmúlt években sokan foglalkoztak a különböző állatfajokban hatékony vitrifikációs eljárás kidolgozásával, akár krioprotektáns nélkül a hűtési sebességet oly mértékben növelve, amely hatására már nem tudnak jégkristályok képződni a sejten belül, hanem az üvegszerű állapotban fagy meg. *Arav és munkatársai (2002)* egy olyan hűtési eljárást dolgoztak ki, melynek alapja a folyadékok túlhűtése. Ez azt jelenti, hogy az oldatot a fagyáspontja alá hűtjük anélkül, hogy megfagyna. Ilyenkor az oldat instabil állapotba kerül



Faj	Hígítás	Hígító összetétele	Végő sejt-koncentráció	Equilibráció	Csomagolás	Mélyhűtés	Felolvasztás
Szarvasmarha	egy lépcsős	tej, 20% tojássárgája, 7% glicerol, antibiotikum	≥100×10 <sup>6</sup> /ml	2 óra +5 °C	0,25 ml műszalma	N <sub>2</sub> gőz -70 °C–-100 °C 9 perc	+37 °C 30 sec
	két lépcsős	A hígító: tej, 10% tojássárgája, 3% glicerol, antibiotikum B hígító: tej, 10% tojássárgája, 11% glicerol, antibiotikum					
Bivaly	két lépcsős	A hígító: tej, 10% tojássárgája, 3% glicerol, antibiotikum B hígító: tej, 10% tojássárgája, 11% glicerol, antibiotikum	100–120×10 <sup>6</sup> /ml	4 óra +4 °C	0,5 ml műszalma	N <sub>2</sub> gőz -140 °C-ig 5 perc alatt	+35 °C 30 sec
Juh	egy lépcsős	300mMTris, 28mM glükóz, 95 mM citromsav, 2% glicerol, 15% tojássárgája, 1 mg/ml sztreptomycin szulfát, 0,06 mg/ml benzylpenicillin	400×10 <sup>6</sup> /ml	90 perc +4 °C	0,25 ml műszalma	N <sub>2</sub> gőz -75 °C 8 perc	+37 °C 30 sec
	két lépcsős	A hígító: 25,75 g laktóz, 250 ml bidesztillált víz, 20% tojássárgája B hígító: tej, Tris, 11% glicerol					
Kecske	egy lépcsős	300mMTris, 28mM glükóz, 95 mM citromsav, 2% glicerol, 2,5% tojássárgája, 1mg/ml sztreptomycin szulfát, 0,06 mg/ml benzylpenicillin	≥200×10 <sup>6</sup> /ml	30 perc +4 °C	0,25 ml műszalma	N <sub>2</sub> gőz 5 perc	+37 °C 30 sec
	két lépcsős	A hígító: 80 ml Na-citrát oldat, 20 ml tojássárgája B hígító: 80 ml Na-citrát oldat, 20 ml tojássárgája 14% glicerol					
Ló	egy lépcsős	különböző forgalomban lévő hígító, pl. SMED centrifugálás után SME+4% glicerol	400×10 <sup>6</sup> /ml	2 óra +5 °C	0,25 ml műszalma	4,5 cm-rel N <sub>2</sub> gőz felett 10 perc	+37 °C 30 sec
Sertés	három lépcsős	A hígító: 1 l bidesztillált vízben 37 g dextróz, 6 g tri-Na-citrát, 1,25 g NaHCO <sub>3</sub> , 1,25 g EDTA diNA, 0,75 g KCl	1,5×10 <sup>9</sup> /ml	90 perc +5 °C	0,5 ml műszalma	5 cm-rel N <sub>2</sub> gőz felett 15 perc	+38 °C 20 sec
		B hígító: 116 ml bidesztillált vízben 8,5 g fruktóz, 0,15 NaHCO <sub>3</sub> , 0,015 g cisztein, 34 ml tojássárgája, 1,69 STM					
		C hígító: B hígító + 6% glicerol					
Nyúl	két lépcsős	A hígító: 100 ml bidesztillált vízben 3,028 g Tris, 1,25 g glükóz, 1,62 g citromsav-monohidrát, 5 ml DMSO, ¼ rész tojássárgája B hígító: 100 ml bidesztillált vízben 8,25 g laktóz, 1,3 ml glicerol, 20% tojássárgája		10 perc +5 °C	0,5 ml műszalma	N <sub>2</sub> gőz -120 °C 3 perc	+37 °C 60 sec

5. táblázat. A FAO által ajánlott mélyhűtési módszerek a különböző állatfajok spermabankjának kialakítására (a FAO ajánlás III.2.1. melléklete)

és ún. kristálycsírák jelennek meg benne, majd ezt követően a hűtési sebesség változtatásával kontrollálható a jégkristályképződés. A módszerrel több faj esetében jó motilitási értékeket kaptak a felolvasztást követően (6. táblázat).

Napjainkban egyre több erőfeszítés történik néhány emlős háziállatfajban az ivarspecifikus spermium mélyhűtésére, amelyet egy szexuális folyamat előz meg. Ennek sikeressége számos

Faj	Védőanyagok	Pellet méretek	Eredmények	Referenciák
Nyúl, kos, bika, mén, kan (sertés)	nincs	50–100 µl	1947 és 1950 között Smirnov először vitrifikált spermiumokat és sikerült élő utódokat nyerni nyúlfajban. Egyéb fajoknál sikertelen volt.	Citálta: Salamon és Maxwell, 1995
Kos	tojássárgája, citrát és laktóz	30 µl	9% a motilis spermiumok aránya.	Salamon, 1968
Bika	olajszármazékok, etilén-glikol, glicerol, inozit	15 µl	40% a motilis sejtek aránya.	Nagase és Tomizuka, 1968
Kos	tojássárgája, citrát és laktóz	30 µl	17% spermium-motilitás –150 °C-os pelletálást követően; 5% motilis spermium közvetlenül folyékony nitrogénbe csöpögtetés után.	Salamon, 1970
Kos	raffinóz, glükóz és glicerol	30 µl	15% spermium-motilitás.	Visser, 1974
Humán	nincs	30 µl	54% spermium-motilitás és 63% ép mitokondrium.	Schulz és munkatársai, 2006
Humán	szacharóz	30 µl	57% motiliás és 65% ép mitokondrium.	Isachenko és munkatársai, 2008
Hal	nincs	20 µl	Motilitás és membránintegritás 70–90%.	Merino és munkatársai, 2011

6. táblázat. Vitrifikációs eljárások a különböző állatfajokban és humánban (a FAO ajánlás III.2.2. melléklete)

kihívást rejt magában, mivel sok spermium már a szexuális folyamán elvesz, ezért a mélyhűtés/felengedés eredményessége is alacsonyabb lesz (Garner és munkatársai, 2008).

A spermiumok konzerválása során a sejtek túlélését a felolvasztás módja legalább olyan mértékben befolyásolja, mint a mélyhűtés technikája. Felolvasztás során a sejtek szintén kritikus hőmérsékleti tartományba kerülnek. Azonban a felolvasztás sebességének helyes megválasztásával elkerülhető a sejteken belüli ismételt jégképződés, illetve a sejtek károsodása nélkül rendeződnek az ozmotikus viszonyok az oldatban. A gyakorlatban a felolvasztást, főként bikánál és kosoknál 38–42 °C-os vízfürdőben, 30 másodperc alatt végzik (Barbas, 2009). Összességében elmondható, hogy az emlős háziállatfajoknál a mélyhűtést/felengedést követően ±50% körüli a motilis sejtek aránya, madarak esetében ennél alacsonyabb, 20–30%-os motilitás érhető el.

A pázás/termékenyítés és az ovuláció eltérő ideje miatt, akár több napig is életképesnek és termékenyítőképesnek kell a spermiumoknak maradniuk a petevezetőben. Emiatt az ondó heterogén spermiumokat tartalmaz, ami azt jelenti, hogy a spermiumok eltérő érési fázisban vannak, így biztosítva azt, hogy legyen olyan spermium az ovulációkor a petevezetőben, amely képes a petesejtet megtermékenyíteni. Ez nyilvánvalóan fontos természetes pázaskor, de lényeges tényező a mélyhűtött/felengedett spermiumokkal való termékenyítéskor is. Megvizsgálva a mélyhűtést/felengedést követően az egyes érési fázisokban lévő spermiumok mennyiségét, azt találták, hogy nagymértékben csökkent az ondó heterogenitása. Ez a csökkenés abból adódhat, hogy a spermiumok egyes szubpopulációi eltérő mértékben érzékenyek a mélyhűtés/felengedés folyamatára vagy a folyamat során több sejt kerül azonos érési fázisba. Ennek tisztázására további vizsgálatok szükségesek (Curry, 2000).

Az már bizonyított, hogy a mélyhűtés/felengedés folyamata fokozza a spermiumok érést, a kapacitáción átesett spermiumok mennyiségét. Ez a körülmény talán nem befolyásolja a spermiumok motilitását, azonban csökkenti azok élettartamát, a spermiumok termékenyítő képességét (*Medeiros és munkatársai, 2002*). A vagina és méh határán található méhnyak, valamint a méh és a petevezető határán található utero-tubális szakasz nem csak egy gátat képez, amelyen át kell haladniuk a spermiumoknak, hanem egyfajta szelekciós feladatot is ellát, melyen csak az életképes spermiumok juthatnak át. Számos emlősfajnál a nemi utakba jutó spermiumok ún. spermiumtárolókban gyűlnek össze, a tárolás tartama faji sajátosság. A spermiumtárolók elhelyezkedhetnek intravaginálisan (tehén) vagy intrauterin kriptákban (sertés) (*Curry, 2000*). Több állatfajban azt is kimutatták, hogy a petevezető hámszöveve sokkal inkább a kapacitáción még át nem esett spermiumokkal kapcsolódik (*Thomas és munkatársai, 1995; Lefebvre és Suarez, 1996; Fazeli és munkatársai, 1999*). A mélyhűtött/felengedett ondóval elért alacsony termékenységi eredmények összefüggésben állnak egyrészt a női nemi utak szűrő funkciójával, másrészt azzal, hogy a spermiumok mennyire képesek megőrizni életképességüket a hosszabb-rövidebb ideig tartó spermiumraktározás, illetve a petesejthez vezető út során. Ebből következik, hogy a termékenyítés időpontját nagyon körültekintően kell megválasztani, hogy az minél közelebb essen az ovuláció időpontjához.

A spermiumok elsődleges feladata az ép, haploid apai genom eljuttatása a petesejtbe. Jól ismert tény, hogy az ondóban a mélyhűtés/felengedés hatására csökken a spermiumok motilitása és termékenyítő képessége. Azonban a mai napig vitatott, hogy a spermiumok hosszú távú tárolása milyen hatással van magára a DNS-re. Számos kutatási eredmény szerint – humán spermiumok esetében – a mélyhűtés káros hatással van a DNS szerkezetére (*Kalthur és munkatársai, 2008; Thomson és munkatársai, 2009a; Zribi és munkatársai, 2010; Meamar és munkatársai, 2012*). Más eredmények szerint azonban a mélyhűtés nem befolyásolta a DNS szerkezetét (*Duru és munkatársai, 2001; Isachenko és munkatársai, 2004; Kadirvel és munkatársai, 2009; Vutyavanich és munkatársai, 2010*). Ez az ellentmondás talán abból adódik, hogy egyedenként különbség lehet a spermiumok érzékenységében, különbség lehet a mélyhűtés/felengedés módszerében és a DNS-károsodás vizsgálati módszerében is (*Kopeika és munkatársai, 2015*). Erszényesekben és egérben történt vizsgálatok azt bizonyítják, hogy az oldat hypo- és hyperozmotikus változásai is hatással lehetnek a DNS épségére (*Johnson és munkatársai, 2012; Yıldız és munkatársai, 2010*). Más eredmények szerint a mélyhűtés a nukleoprotein komplexet destabilizálja, a diszulfid-kötések sérülhetnek, melyek DNS-törésekhez vezethetnek. A kromatinállomány összetételében és szerkezetében bekövetkező változások talán nincsenek hatással a termékenységre, de befolyásolhatják az embriófejlődés korai szakaszát (*Kopeika és munkatársai, 2015*). Azt is megállapították, hogy ha a felolvasztott ondóban a DNS-tördezottség meghaladja a 30%-ot, akkor a termékenység mind *in vivo*, mind *in vitro* csökken (*Barbas és Mascarenhas, 2009*). A legújabb kutatási eredmények arra utalnak, hogy a mélyhűtést követő DNS-tördezottség összefüggésbe hozható a programozott sejthalállal (*Thomson és munkatársai, 2010; Zribi és munkatársai, 2010*).

A spermiumok egyrészt a programozott sejthalál (apoptózis) következtében, másrészt a különböző környezeti hatások által okozott sérülések (nekrózis) miatt halhatnak el. A programozott sejthalál a spermatogenezis természetes velejárója, akár a sejtek 75%-át is érintheti (*Huckins, 1978*), melyeket egy kontroll mechanizmus fagocitózissal távolít el (*Shaha, 2007*).

Szomatikus sejteknél az apoptózis és nekrozis folyamata lejátszódhat egymástól függetlenül, egymással párhuzamosan vagy akár egymást követően. A fejlődő spermiumok pusztulásának folyamata a mai napig nem tisztázott. Vitatott, hogy a spermiumok esetében a sejthalál apoptotikus, nekrotikus úton vagy esetleg mindkét módon következik be (*Elmore, 2007*). Lényeges azonban, hogy az ejakulátumban található holt sejtek negatív hatással vannak az élő sejtekre. Ezért különösen fontos annak tisztázása, hogy a sejthalál milyen eredetű, mert ez határozza meg a negatív hatás mértékét. A sejtek nagyobb részének nekrozis következtében való elpusztulása károsan befolyásolja a többi sejt életképességét és ezen keresztül a termékenységet (*Roca és munkatársai, 2016*). Az elhalt sejtek káros hatását kimutatták folyékony tárolás alatt és mélyhűtés/felengedést követően is. Azokban a mintákban, ahol már a friss ejakulátumban magasabb volt az elhalt sejtek aránya, számottevően csökkent az ejakulátumok mélyhűthetősége, azaz az életképes spermiumok aránya a felolvasztást követően (*Martinez-Alborcia és munkatársai, 2012*). Tehát az apoptotikus sejthalál főként az ejakuláció előtt megy végbe, mintegy része a spermatogenezisnek, míg a nekrotikus sejthalál főként az ejakulációt követően, a sejtek homeosztázisának zavarából adódóan következik be.

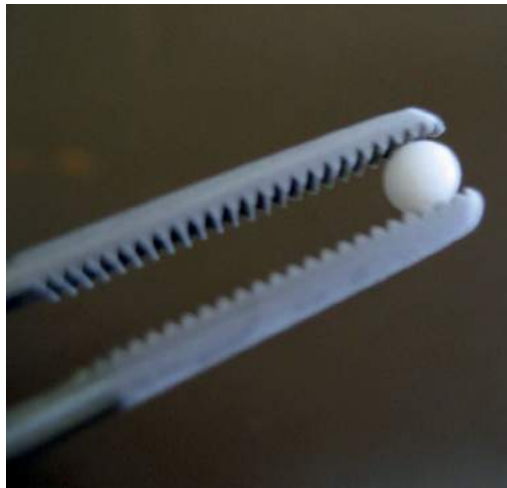
Joggal tehetjük fel a kérdést, hogy az elhalt sejtek miként befolyásolják a többi sejt életképességét? A mélyhűtés/felengedés során keletkező sérüléseket nemcsak az ozmotikus stresszhatások vagy a jégkristályok képződése okozza, hanem az ún. szabad gyökök képződése is, melyek hatására megváltozik a sejtek antioxidáns védelmi rendszere (*Chatterjee és Gagnon, 2001*). A reaktív oxigéngyököknek, mint pl. a hidrogén-peroxid, a szuperoxidgyök vagy a hidroxilgyök fiziológiás mennyiségben szerepe van a kapacitáció folyamatában, az akroszóma reakcióban, illetve a spermiumok petesejtbe való kapcsolódásában (*Agarwal és munkatársai, 2006*). Túl nagy mennyiségben azonban káros hatással vannak a plazmamembránra, a mitokondriumra, sőt kromoszóma- és DNS-károsodásokat idézhetnek elő (*Taylor és munkatársai, 2009*). Több állatfajban bizonyított, hogy az elhalt spermiumokban olyan enzimatiszomatikus folyamatok indukálódnak, melyek hatására megnövekszik a hidrogén-peroxid képződése (*Roca és munkatársai, 2016*). A szabad gyökök közül a hidrogén-peroxidnak nagy jelentősége van, mivel semleges töltéssel rendelkezik, így akadály nélkül jut be a sejtmembránba, a citoplazmába és a sejtszervecskébe, ahol reaktív oxigéngyök-képződést indukálhat. Kimutatták, hogy a spermiumok mitokondriumában vagy akár a fark citoplazmájában is képződik hidrogén-peroxid, ami az elhalt sejtek membránján átjutva az extracelluláris térben halmozódik fel és károsítja az ott található élő spermiumokat (*Aitken és Koppers, 2011*). Természetes körülmények között az oxigéngyökök káros hatásainak kivédésére egy ún. antioxidáns védelmi rendszer alakult ki. A szabad gyökök képződésének káros hatásai akkor jelentkezhetnek, ha azok kialakulása és semlegesítése között megbomlik az egyensúly. Ez az állapot a fokozottabb szabadgyök-képződés vagy a csökkent antioxidáns-védelem miatt alakulhat ki. Azokat a vegyületeket hívjuk antioxidánsoknak, melyek védelmet nyújtanak az oxidációval és a szabad gyökös láncreakciókkal szemben. Az antioxidánsoknak két típusát különböztetjük meg: 1. enzimatiszomatikus antioxidánsok (glutathion-peroxidáz, szuperoxid-dizmutáz, kataláz); 2. nem enzimatiszomatikus antioxidánsok (C-vitamin, E-vitamin, szerves szelén, karotinoidek) (*Kefer és munkatársai, 2009*). Az elmúlt években és napjainkban is számos tanulmány és vizsgálat foglalkozik a spermiumok antioxidáns védelmi rendszerének fokozásával, akár a takarmányozáson keresztül, akár az ondóhígítókban közvetlenül alkalmazva. A fentiek alapján jól látható, hogy a mélyhűtés konzerválás



6. kép. A HÁGK *in vitro* laboratóriumának részlete (Fotó: Barna Judit)

összetett folyamat. Eredményességét számos tényező befolyásolja, mint pl. a helyes hígító és krioprotektáns kiválasztása, valamint a hűtés és felengedés módjának megválasztása vagy akár az antioxidáns védelmi rendszer fokozása.

A HÁGK *In vitro* Génmegőrzési és Szaporodásbiológiai Laboratóriumát 2012-ben uniós, valamint intézeti támogatással teljesen felújítottuk és átalakítottuk. Az épület északi tájolású részén a szakmai előírásoknak megfelelően kialakítottuk azt a „hideg” helyiséget, ahol a mélyhűtési folyamatok, valamint a minták tárolása is történik. Két mélyhűtő berendezéssel (PLANER Kryo-10, angol és DIGITCOOL IMV, francia gyártmányú készülékek) és az ezeket ellátó nitrogéntartályokkal rendelkezünk, emellett egy 160 literes tartály LN tartállyal, valamint a legújabb beszerzésű CBS gyártmányú (USA), automata utántöltéssel rendelkező 4600 minta hosszú távú tárolására alkalmas tárolóegységgel és egy kapcsolódó, 210 literes, utántöltő nitrogéntartállyal. Laboratóriumunkban rendelkezésre állnak a minták mélyhűtésének előkészítéséhez szükséges eszközök és berendezések, valamint az itt dolgozók sokéves szakmai tapasztalata is. Je-



7. kép. Ondómélyhűtés pellet formában (Fotó: Barna Judit)

lenleg 7 őshonos tyúkfajtánk, a parlagi gyöngytyúk és a magyar lúd fodros tollú változatának ondóját, 300–300 termékenyítőadag mennyiségben tároljuk. A spermabankot folyamatosan bővítjük a többi őshonos baromfifaj és -fajta ondómintáival (6. és 7. kép).

## Irodalomjegyzék

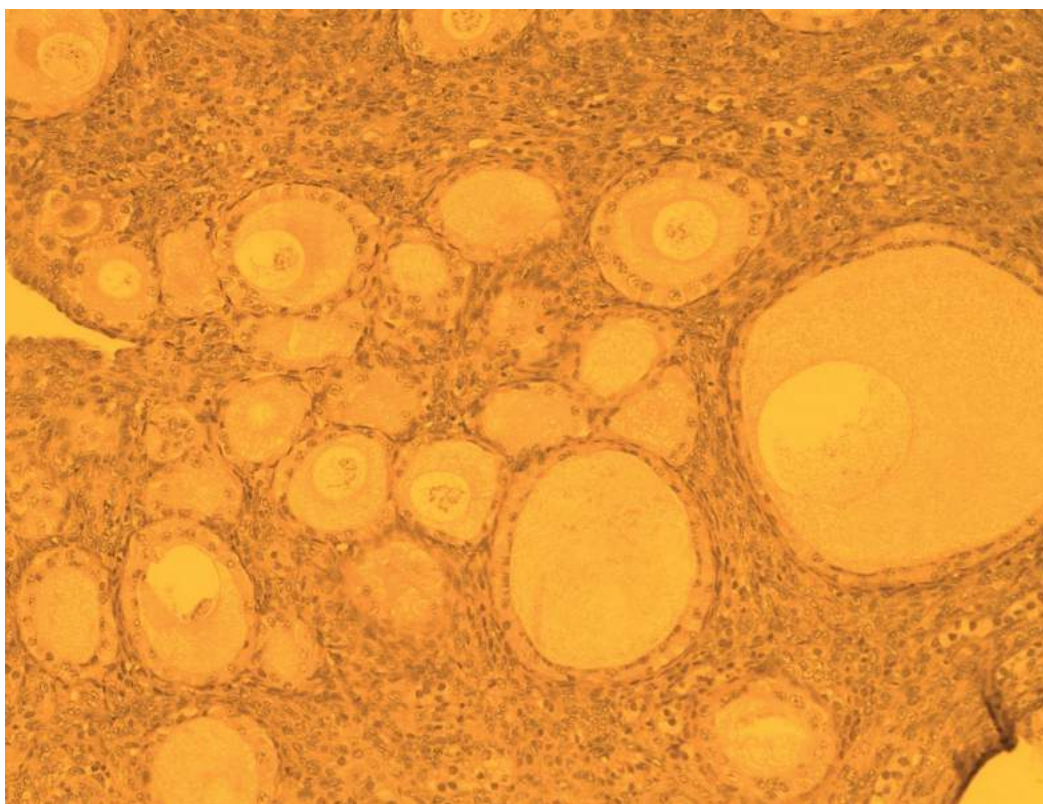
- Agarwal, A., Sharma, B. K., Nallella, K. P., Thomas, A. J., Alvarez, J. G., Sikka, S. C. (2006): Reactive oxygen species as an independent marker of male factor infertility. *Journal of Fertility and Sterility* 86: 878-885.
- Aisen, E., Medina, V., Venturino, A. (2002): Cryopreservation and post thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology* 57: 1801-1808.
- Aitken, R. J., Koppers, A. J. (2011): Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology* 13: 36-42.
- Amann, R. P., Pickett, B.W. (1987): Principles of cryopreservation and a review of the cryopreservation of stallion spermatozoa. *Journal of Equine Veterinary Science* 7: 145-173.
- Andrabi, S., Maxwell, W. (2007): A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. *Animal Reproduction Science* 99: 223-243.
- Anel, L., de Paz, P., Alvarez, M., Chamorro, C. A., Boixo, J. C., Manso, A., Gonzalez, M., Kaabi, M., Anel, E. (2003): Field and *in vitro* assay of three methods for freezing ram semen. *Theriogenology*, 60: 1293-1308.
- Arav, A., Yavin, S., Zeron, Y., Natan, D., Dekel, I., Gacitua, H. (2002): New trends in gamete's cryopreservation. *Molecular and Cellular Endocrinology* 187: 77-81.
- Barbas, J. P., Mascarenhas, R. D. (2009): Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell Tissue Bank* 10: 49-62.
- Barbas, J. P., Mascarenhas, R. D. (2009): Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell Tissue Bank* 10: 49-62.
- Buss, E. G. (1993): Cryopreservation of rooster sperm. *Poultry Science* 72: 944-954.
- Chatterjee, S., Gagnon, C. (2001): Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing, and thawing. *Molecular Reproduction and Development* 59: 451-458.
- Curry, M. R. (2000): Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Reviews of Reproduction* 5: 46-52.
- Donoghue, A. M. and Wishart, G. J. (2000): Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science* 62: 213-232.
- Duru, N. K., Morshedi, M. S., Schuffner, A., Oehninger, S. (2001): Cryopreservation - Thawing of fractionated human spermatozoa is associated with membrane phosphatidylserine externalization and not DNA fragmentation. *Journal of Andrology* 22: 646-651.
- Eddy, E., O'Brien, D. (1994): The spermatozoon. In: Kobil, E, Neill, J. D. (eds) *The physiology of reproduction*, vol 1, 2nd ed. Raven Press, New York. 29-77 p.
- Elmore, S. (2007): Apoptosis: a review of programmed cell death. *Journal of Toxicologic Pathology* 35: 495-516.
- Evans, G., Maxwell, W. (1987): *Salamon's artificial insemination of sheep and goats*. Butterworth, Sydney
- Fazeli, A., Duncan, A. E., Watson, P. F., Holt W. V. (1999): Sperm-oviduct interaction: induction of capacitation and preferential binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelial cells in porcine species. *Biology of Reproduction* 60: 879-886.
- Garner, D. L., Seidel, G. E. (2008): History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69: 886-895.
- Hammerstedt, R. H. (1995): Cryopreservation of Poultry Semen – Current status and Economics. In: *Proceedings, First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry*. Poultry Science Association, Savoy, Illinois, USA. 229-250. p.
- Hammerstedt, R. H., Graham, J. K., Nolan, J. F. (1990): Cryopreservation of mammalian sperm: What we ask them to survive. *Journal of Andrology* 11: 73-88.



- Harris, G. C., Thurston, R. J., Cundall, J. (1973): Changes in the ultrastructure of the fowl spermatozoon due to rapid freeze-thaw. *Journal of Reproduction and Fertility* 34: 389-394.
- Holt, W. V. (1997): Alternative strategies for long-term preservation. *Reproduction, Fertility and Development* 9: 309-319.
- Holt, W. V. (2000): Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science* 62: 3-22.
- Huckins, C. (1978): The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: An analysis using a simplified classification of the germinal epithelium. *The Anatomical Record* 190: 905-926.
- Isachenko, E., Isachenko, V., Katkov, I. I., Dessole, S., Nawroth, F. (2003): Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from past practical difficulties to present success. *Reproductive BioMedicine Online* 6(2): 191-200.
- Isachenko, V., Isachenko, E., Katkov, I. I., Montag, M., Dessole, S., Nawroth, F., Van Der Ven, H. (2004): Cryoprotectant-free cryopreservation of human spermatozoa by vitrification and freezing in vapor: effect on motility, DNA integrity, and fertilization ability. *Biology of Reproduction* 71: 1167-1173.
- Johnson, S.D., Satake, N., Zee, Y., López-Fernández, C., Holt, W.V., Gosálvez, J. (2012): Osmotic stress and cryoinjury of koala sperm: an integrative study of the plasma membrane, chromatin stability and mitochondrial function. *Reproduction* 143: 787-797.
- Kadirvel, G., Kumar, S., Kumaresan, A. (2009): Lipid peroxidation, mitochondrial membrane potential and DNA integrity of spermatozoa in relation to intracellular reactive oxygen species in liquid and frozen-thawed buffalo semen. *Animal Reproduction Science* 114: 125-134.
- Kalthur, G., Adiga, S. K., Upadhy, D., Rao, S., Kumar, P. (2008): Effect of cryopreservation on sperm DNA integrity in patients with teratospermia. *Journal of Fertility and Sterility* 89: 1723-1727.
- Kefer, J. C., Agarwal, A., Sabanegh, E. (2009): Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology* 16: 449-457.
- Kopeika, J., Thornhill, A., Khalaf, Y. (2015): The effect of cryopreservation on the genome of gametes and embryos: principles of cryobiology and critical appraisal of the evidence. *Human Reproduction Update* 21: 209-227.
- Lefebvre, R., Suarez, S. (1996): Effect of capacitation on bull sperm binding to homologous oviductal epithelium. *Biology of Reproduction* 54: 575-582.
- Leibo, S. P., Martino, A., Kobayashi, S., Pollard, J. W. (1996): Stage-dependent sensitivity of oocytes and embryos to low temperatures. *Animal Reproduction Science* 42: 45-53.
- Liu, J., Cheng, K. M., Silversides, F. G. (2013): Fundamental principles of cryobiology and application to ex situ conservation of avian species. *Avian Biology Research* 6: 187-197.
- Luyet, B. J., Hodapp, R. (1938): Revival of frog spermatozoa vitrified in liquid air. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine (N.Y.)* 39: 433-434.
- Martinez-Alborcia, M. J., Valverde, A., Parrilla, I., Vazquez, J. M., Martinez, E. A., Roca, J. (2012): Detrimental effects of non-functional spermatozoa on the freezability of functional spermatozoa from boar ejaculate. *PLoS One* 7: e36550.
- Meamar, M., Zribi, N., Cambi, M., Tamburrino, L., Marchiani, S., Filimberti, E., Fino, M. G., Biggeri, A., Menezo, Y., Forti, G., Baldi E., Muratori M. (2012): Sperm DNA fragmentation induced by cryopreservation: new insights and effect of a natural extract from *Opuntia ficus-indica*. *Journal of Fertility and Sterility* 98: 326-333.
- Medeiros, C. M., Forell, F., Oliveira, A. T., Rodrigues, J. L. (2002): Current status of sperm cryopreservation: why isn't better. *Theriogenology* 57: 327-344.
- Molinia, F. C., Evans, G., Maxwell, W. M. C. (1994): Incorporation of penetrating cryoprotectants in diluents for pellet-freezing ram spermatozoa. *Theriogenology* 42: 849-858.
- Molisch, H. (1897): *Untersuchungen Über das Erfrieren der Pflanzen*. Jena, 1897. Cited by Steponkus, P. L. et al., 1984. *Cryobiology* 21: 181-192.
- Morris, G. J., Acton, E. A., Murray, B. J., Fonseca, F. (2012): Freezing injury: The special case of the sperm cell. *Cryobiology* 64: 71-80.
- Nagy Sz.T.(2001): *Bikaspermiumok citológiai vizsgálata*. PhD disszertáció. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mosonmagyaróvár, pp:8-20.
- Nawroth, F., Isachenko, V., Dessole, S., Rahimi, G., Farina, M., Vargiu, N., Mallman, P., Dattena, M., Capobianco, G., Perts, D., Orth, I., Isachenko, E. (2002): Vitrification of human spermatozoa without cryoprotectants. *Cryo-Letters* 23: 93-102.
- Palasz, A. T. and Mapletoft, R. J. (1996): Cryopreservation of mammalian embryos and oocytes: recent advances. *Biotechnology Advances* 14: 127-149.
- Parks, J. E. and Graham, J. K. (1992): Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38: 209-222.
- Polge, C., Smith, A. U., Parkes, A. S. (1949): Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164: 666.
- Roca, J., Parrilla, I., Gil, M. A., Cuello, C., Martinez, E. A. (2016): Non-viable sperm in the ejaculate: Lethal escorts for contemporary viable sperm. *Animal Reproduction Science* 169: 24-31.
- Shaha, C. (2007): Modulators of spermatogenic cell survival. *Society of Reproduction and Fertility Supplement* 63: 173-186.
- Shamsuddin, M; Larsson, B. (1993): *In vitro* development of bovine embryos after fertilization using semen from different donors. *Reproduction in Domestic Animals* 28: 77-84.
- Taggart, D. A., Leigh, C. M., Steele, V. R., Breed, W. G., Temple-Smith, P. D., Phelan, J. (1996): Effect of cooling and cryopreservation on sperm motility and morphology of several species of marsupial. *Reproduction, Fertility, and Development* 8: 673-679.
- Taylor, K., Roberts, P., Sanders, K., Burton, P. (2009): Effect of antioxidant supplementation of cryopreservation medium on post-thaw integrity of human spermatozoa. *Reproductive BioMedicine Online* 18: 184-189.
- Thomas, P. G. A., Ball, B. A., Brinsko, S. P. (1995): Changes associated with induced capacitation influence the interaction between equine spermatozoa and oviduct epithelial cell monolayers. *Biology of Reproduction Monograph* 1: 697-705.
- Thomson, L. K., Fleming, S. D., Aitken, R. J., De Iuliis, G. N., Zieschang, J. A., Clark, A. M. (2009): Cryopreservation-induced human sperm DNA damage is predominantly mediated by oxidative stress rather than apoptosis. *Human Reproduction* 24: 2061-2070.
- Thomson, L. K., Fleming, S. D., Barone, K., Zieschang, J. A., Clark, A. M. (2010): The effect of repeated freezing and thawing on human sperm DNA fragmentation. *Journal of Fertility and Sterility* 93: 1147-1156.
- Vajta, G. (2000): Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals. *Animal Reproduction Science* 60-61: 357-364.
- Vajta, G. and Nagy, Zs. P. (2006): Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? *Reproductive BioMedicine Online* 12: 779-796.
- Vutyavanich, T., Piromlertamorn, W., Nunta, S. (2010): Rapid freezing versus slow programmable freezing of human spermatozoa. *Journal of Fertility and Sterility* 93: 1921-1928.
- Watson, P. F. (2000): The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science* 60-61: 481-492.
- Woelders, H. (1997): Fundamentals and recent development in cryopreservation of bull and boar semen. *Veterinary Quarterly* 19: 135-138.
- Yildiz, C., Law, N., Ottaviani, P., Jarvi, K., McKerlie, C. (2010): Comparison of sperm quality and DNA integrity in mouse sperm exposed to various cooling velocities and osmotic stress. *Theriogenology* 74: 1420-1430.
- Zribi, N., Feki Chakroun, N., El Euch, H., Gargouri, J., Bahloul, A., Ammar, Keskes L. (2010): Effects of cryopreservation on human sperm desoxyribonucleic acid integrity. *Journal of Fertility and Sterility* 93: 159-166.

# Génmegőrzés ivarszervszövet-átültetés segítségével

LIPTÓI KRISZTINA – VÁRADI ÉVA



Emlősök esetében az *in vitro* génmegőrzés legszélesebb körben alkalmazott módszere a hímivarban a spermium, nőivarban a petesejt, illetve a korai embrió fagyasztása. Mindkét ivarban előfordul azonban, hogy ez valamilyen okból (szaporodási, egészségügyi, technológiai problémák) nem lehetséges. Ekkor nyújthat megfelelő alternatívát az ivarszervszövet mélyhűtése és transzplantációja.

Ivarszervszövet-átültetést először a petefészek szaporodásfiziológiai működésének megismerésére végeztek egérben. A szervet az anatómiai helyétől eltérő területre ültették (heterotróp transzplantáció) és a gonadotropin hormon termelődését vizsgálták. *Robertson és munkatársai 1940*-ben elsőként számoltak be arról, hogy sikeresen transzplantáltak egér petefészeket az anatómiai hely közelébe (orthotóp átültetés). Ettől kezdve a módszert többen átdolgozták és alkalmazták beltenyésztett egérvonalak fenntartására. Számos, humán betegséget modellező patkányvonal létezik, amelyeknél a bennük meglévő mutációk a szaporodást nehezítik vagy gátolják. A szubfertilis, normális ivari ciklussal nem rendelkező állatok esetében a petefészek-transzplantáció megfelelő megoldásnak bizonyult (*Dorsch és munkatársai, 2004*). A felezett, illetve kisebb darabokra vágott petefészek eredményesebben tapadt meg, mint az egész. Már 1960-ban megpróbálkoztak egér ivarszerv-szövetek fagyasztásával és beültetésével. *Parrot és munkatársai (1960)* élő utódot hoztak létre  $-79\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolt donor petefészekből, azonban megjegyezték, hogy ezen a hőmérsékleten maximum 44 napig tarthatók működőképesen a minták. A petefészek mélyhűtésére több faj esetében tettek kísérletet, de kezdetben mindössze egér és juh esetében számoltak be a fagyasztott/felolvasztott szervből nyert élő utódokról (*Gosden és munkatársai, 1994; Gunasena és munkatársai, 1997*). A donor szerveket különböző korú állatokból vették, az embriótól az ivarérett egyedekig (*Sztejn és munkatársai, 1998*). A 21–40. életnapon eltávolított, fagyasztott/felolvasztott egér petefészekdarabok alkalmasnak bizonyultak génmegőrzési célokra. Egér, kínai csikos hörsőg, makákó, nyúl és patkány felnőtt egyedeiből vett petefészekszövet-mintákkal végeztek xenotranszplantációt (a donor és a recipiens különböző faj) felnőtt patkány méhüregébe (*Kagabu és Umezu, 2000*). A fagyasztott/felolvasztott donor szervdarabokat 7 nap elteltével kiemelték és hematoxylin – eozin festés után szövettani vizsgálatnak vetették alá. Megállapították, hogy a szövetek jól tolerálták a fagyasztással járó ozmotikus dehidratációt, a vitrifikációt és a krioprotektánsokat, valamint nem okozott immunológiai problémát az idegen faj méhüregbe történő ültetése.

A különböző fajokon végzett transzplantációs kísérletek, illetve a tumorvizsgálatok során kiderült, hogy a szervezet egyes részei megtapadási szempontból előnyösebbek az átültetések során, valamint az innen származó szervek is sokkal nagyobb arányban élnek túl a beavatkozást (*Hedger, 2007*). Ezekben az immunológiailag kiváltságos (privilegizált) régiókban az átültetett szövet nem vált ki immunreakciót. Ennek hátterében a helyileg termelődő immunszuppresszív faktorok, az efferens nyirokkeringés hiánya, a fő hisztokompatibilitási gének által kódolt fehérjék csökkent mértékű jelenléte állhat (*Hedger, 2007*). Az agy, a petefészek, a herék, a prosztata, a terhesség ideje alatt a méh és a méhlepény, a szem elülső csarnoka, a szaru- és a szívárványhártya, a hajtüsző, a porc, a máj, a mellékvesekéreg és a tumorok a szervezet egyéb szöveteihez képest másként viselkednek a kilökődési reakciók során. Ezért ezeket a szerveket immunológiailag védetteknek is nevezik (*Erdei és munkatársai, 2012*).

A petefészekszövet fagyasztásának és átültetésének az igénye a humán gyógyításban is felmerült, mivel azoknál a nőbetegeknél, akiknél azonnali, agresszív kemoterápia szükséges,

ez az egyetlen lehetőség a termékenység későbbi visszaállítására. Az első humán petefészek-szövet-fagyasztást 1996-ban végezték (*Hovatta és munkatársai, 1996*), míg az első gyermek, gyógyulás után visszaültetett petefészekből, 2004-ben született (*Donnez és munkatársai, 2004*). Azóta világszerte már több mint 60 egészséges újszülött jött világra ezzel a módszerrel, és hazánkban is megkezdődött a petefészek-szövet-fagyasztás orvosi gyakorlatba emelése (*Fancso-vits és munkatársai, 2016*).

Az első heretranszplantációt John Hunter végezte 1767-ben, amikor kakasherét ültetett tyúk hasüregébe. Később 23 emlősfajból származó heredarabot helyeztek ivartalanított, szőr nélküli, „nude” egér bőre alá. Azt tapasztalták, hogy minden esetben a szövetek növekedtek, fejlődtek, spermiumtermelést lehetett belőlük kimutatni (*Arregui és Dobrinski, 2014*). Emlősök hereszövetének mélyhűtésére már régóta folynak kísérletek (*Parkes és Smith, 1954*). Hatékony mélyhűtési eljárást dolgoztak ki patkány, egér, dzsungáriai törpehőrcsög, nyúl, selyemmajom hereszövetek fagyasztására (*Várad, 2016*). Sikeres mélyhűtési és transzplantációs eljárást dolgoztak ki halak hereszöveiteinek esetében is, melynek köszönhetően donor eredetű spermatozoidokat azonosítottak a recipiens állatokban (*Lee és munkatársai, 2013*).

A hímivart tekintve a hereszövet mélyhűtésének és a felolvasztást követő visszaültetésének legnagyobb jelentősége a humán gyógyításban van a kemoterápiás kezelésre szoruló páciensek esetében (*Hovatta és munkatársai, 1996*).

Kezdetben a hímivarsejtek mélyhűtésénél alkalmazott lassú, programozott protokollokat használták korai ivarszervszövetek mélyhűtésére, majd a későbbiekben egyre inkább előtérbe került a vitrifikációs eljárás alkalmazása. A vitrifikációs eljárás során az egér petefészekdarabokat tartalmazó kriocsoveket közvetlenül folyékony nitrogénbe dobták (*Migishima és munkatársai, 2003*). Ezzel a módszerrel hatékonyan lehetett vitrifikálni a petefészekdarabokat relatíve kevesebb védőanyag hozzáadásával (*Chen és munkatársai, 2006*). Számos emlősfaj, pl. patkány (*Sugimoto és munkatársai, 2000*) és kecske (*Santos és munkatársai, 2007*) esetében alkalmazták a vitrifikációt petefészek mélyhűtésére. A módszer továbbfejlesztése során akupunktúrás tűre szúrták fel az egér-, illetve humán petefészekdarabokat, és azt közvetlenül folyékony nitrogénbe helyezték. Ezzel a módszerrel még gyorsabb hűtési sebességet értek el, és kevesebb krioprotektáns alkalmazva csökkentették a vitrifikációs oldat toxicitását (*Wang és munkatársai, 2008*).

## Irodalomjegyzék

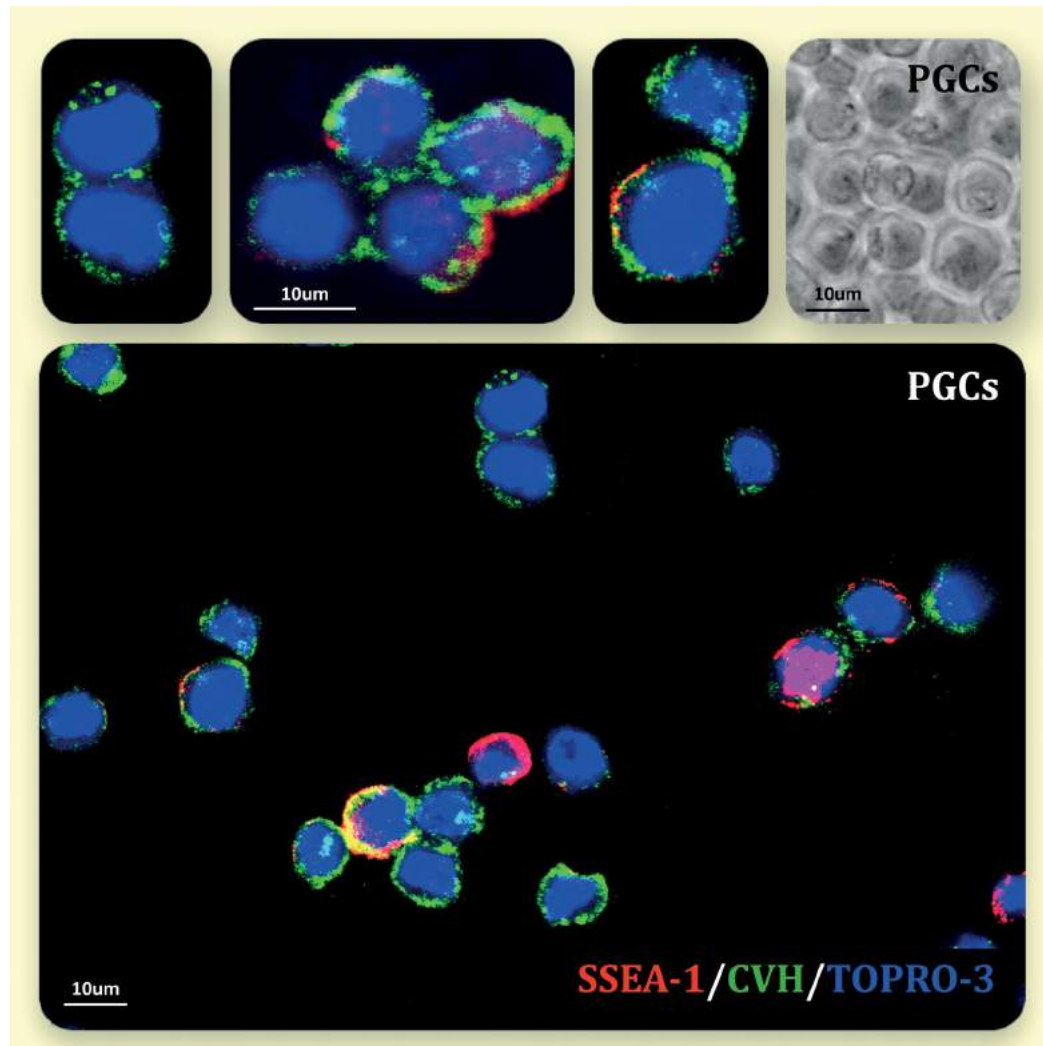
- Arregui, L., Dobrinski, I. (2014): Xenografting of testicular tissue pieces: 12 Years of an *in vivo* spermatogenesis. *Reproduction* 148: R71-R84.
- Chen, S. U., Chien, C. L., Wu, M. Y., Chen, T. H., Lai, S. M., Lin, C. W., Yang, Y. S. (2006): Novel direct cover vitrification for cryopreservation of ovarian tissues increases follicle viability and pregnancy capacity in mice. *Human Reproduction* 21: 2794-2800.
- Donnez, J., Dolmans, M. M., Demylle, D., Jadoul, P., Pirard, C., Squifflet, J., Martinez-Madrid, B., van Langendonck, A. (2004): Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 364(9443): 1405-1410.

- Fancso-vits, P., Urbancsek, J., Fónyad, L., Sebestyén, A., Csorba, G., Lehner, Á., Kaszás, Z., Rigó, J., Bokor, A. (2016): Kezdeti tapasztalataink a petefészek-szövet-fagyasztás bevezetésével. *Orvosi Hetilap* 157(49): 1947-1954.
- Dorsch, M., Wedekind, D., Kamino, K., Hedrich, H. J. (2004): Orthotopic transplantation of rat ovaries as a tool for strain rescue. *Laboratory Animals* 38: 307-312.
- Erdei A., Sármay G., Prechl J. (2012): Immunológia. Medicina Kiadó, Budapest
- Gosden R. G., Baird D.T., Wade J. C., Webb R. (1994): Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196°C. *Human Reproduction* 9: 597-603.
- Gunasena, K. T., Lakey, J. R., Villines, P. M., Critser, E. S., Critser, J. K. (1997): Allogeneic and xenogeneic transplantation of cryopreserved ovarian tissue to athymic mice. *Biology of Reproduction* 57: 226-31.
- Hedger M. P. (2007): Immunologically privileged environments. In: Halberstadt, C. R., Emerich, D. F. (eds) *Cellular transplantation from laboratory to clinic*. Elsevier, Amsterdam. 567-590 p.
- Hovatta, O., Silye, R., Krausz, T., Abir, R., Margara, R., Trew, G., Lass, A., Winston, R. M. L. (1996): Cryopreservation of human ovarian tissue using dimethylsulphoxide and propanediolsucrose as cryoprotectants. *Human Reproduction* 11(6): 1268-1272.
- Kagabu, M., Umezu, S. (2000): Transplantation of cryopreserved mouse, Chinese hamster, rabbit, Japanese monkey and rat ovaries into rat recipients. *Experimental Animals* 49(1): 17-21.
- Lee, S., Iwasaki, Y., Shikina, S., Yoshizaki, G. (2013): Generation of functional eggs and sperm from cryopreserved whole testes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110: 1640-1645.
- Migishima, F., Suzuki-Migishima, R., Song, S. Y., Kuramochi, T., Azuma, S., Nishijima, M., Yokoyama, M. (2003): Successful Cryopreservation of Mouse Ovaries by Vitrification. *Biology of Reproduction* 68: 881-887.
- Parkes, A. S., Smith, A. U. (1954): Preservation of ovarian tissue at -79°C for transplantation. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)* 17: 313.
- Parrott, D. M. (1960): The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue. *Journal of Reproduction and Fertility* 1: 230-241.
- Robertson, G. (1940): Ovarian transplantation in the house mouse. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 44: 302-304.
- Santos, R. R., Tharasanit, T., Van Haeften, T., Figueiredo, J. R., Silva, J. R. V., Van den Hurk, R. (2007): Vitrification of goat preantral follicles enclosed in ovarian tissue by using conventional and solid-surface vitrification methods. *Cell Tissue Research* 327: 167-176.
- Sugimoto, M., Maeda, S., Manabe, N., Miyamoto, H. (2000): Development of infantile rat ovaries autotransplanted after cryopreservation by vitrification. *Theriogenology* 53: 1093-1103.
- Sztejn, J., Sweet, H., Farley, J., Mobraaten, L. (1998): Cryopreservation and orthotopic transplantation of mouse ovaries: new approach in gamete banking. *Biology of Reproduction* 58: 1071-1074.
- Várad, É. (2016): Hímivarsejtek és korai ivarszerv-szövetek mélyhűtési tartósításának fejlesztése baromfifajokban génmegőrzési célokból. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő



# Génmegőrzés embrionális sejtek segítségével

PATAKINÉ VÁRKONYI ESZTER – GÓCZA ELEN – LÁZÁR BENCE



A genetikai információ megőrzése mélyhűtéssel a mezőgazdaságban, az iparban és a kutatásban hasznosított fajok és fajták fenntartásának gazdaságos módja. Emlősök esetében a rendelkezésre álló eszközök tárháza jóval szélesebb, számos gazdaságilag fontos fajnál rutin eljárásnak számít a spermiumok, petesejtek és embriók mélyhűtése, az *in vitro* fertilizáció, illetve a szomatikus sejtmag- vagy embrióátültetés. Az említett technikák fejlettsége elérte azt a színvonalat és biztonságot, hogy napjainkra a humán orvoslás is átvette és alkalmazza fertilitási problémák kezelésére.

Minden tojással szaporodó szervezet esetében, így a madaraknál is, az intakt embriók krio-prezervációja lenne a legkézenfekvőbb megoldás az *ex situ, in vitro* megőrzésre, azonban a tojásban található nagy mennyiségű szikanyag miatt ez jelenleg nem lehetséges. A spermiumok mélyhűtése madarak esetében számos fajnál (pl.: házi tyúk, lúd, kacsa, pulyka, gyöngyös) kidolgozott (Hammerstedt és Graham, 1992; Lake és Stewart, 1978; Dubos és munkatársai, 2006; Lukasewicz és munkatársai, 2004; Barna és munkatársai, 2010; Váradai és munkatársai, 2013), de hatékonysága nagy változatosságot mutat fajok, fajták, vonalak, de akár egyedek között is (Alexander és munkatársai, 1993; Chalah és munkatársai, 1999; Tajima és munkatársai, 1990). További limitáló tényező, hogy madarak esetében a tojó a heterogametikus ivar (ZW ivari kromoszómákkal), így a spermium mélyhűtésén alapuló módszerek önmagukban nem képesek a W ivari kromoszómában, illetve a mitokondriális DNS-ben raktározott információk megőrzésére. Habár házi tyúkban a sperma mélyhűtése megvalósítható, ennek ellenére a génmegőrzés döntően élő populációk fenntartását jelenti. Az *in vivo, in situ* megőrzés azonban számos veszélyt rejt, drasztikus következményei lehetnek egy esetleges fertőzésnek (pl. madárinfluenza) vagy környezeti katasztrófának, kockázattalva ezzel az állományokban rejlő genetikai változatosságot. További hátránya az *in vivo, in situ* stratégiának, hogy a telepek és az állatházak fenntartása, a munkaerő bére, valamint a folyamatos takarmány- és állatorvosi kiadások miatt rendkívül költséges.

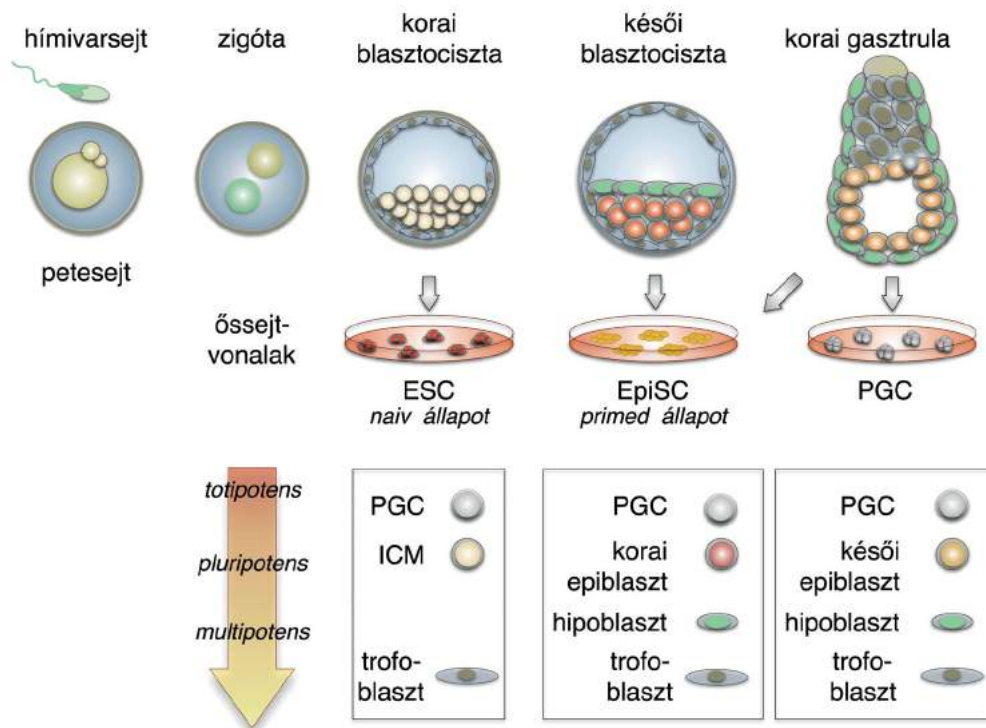
A genetikai anyag megőrzésének másik módja madarak esetében az embrionális sejtek mélyhűtése, majd a recipiens embrióba való visszaültetése (Naito, 2003; Tajima, 2002), mellyel a teljes genetikai anyag (tehát a nőivar is) megőrizhető. Jelenleg az embrionális eredetű sejtek felhasználásával történő kiméra-előállításnak három módszere ismert, függően a sejt típusától, illetve a korától: blasztodermális (Bc) sejttranszferrel, cirkuláló primordiális őscsírasejtekkel (cPGC), illetve a gonádból származó primordiális őscsírasejtekkel (gPGC, illetve GGC). Ezek a technikák napjainkban is fejlesztés alatt állnak különböző laboratóriumokban, de hatékonyságuk még nem megfelelő és egyelőre túl költségesek a szélesebb körű genetikai konzervációs programok megvalósításához (Petitte, 2006). Azonban ígéretes, új kutatási területek jelentek meg primordiális őscsírasejtek *in vitro* sejtenyésztésben történő fenntartásával és felszaporításuk lehetőségével (Van de Lavoie és munkatársai, 2006; Whyte és munkatársai, 2015, Tonus és munkatársai, 2016).

## A különböző embrionális sejtípusok kialakulása

Az embrionális fejlődés a petesejt megtermékenyülésével kezdődik, amit az egysejtes embrió (zigóta) osztódása követ. Az embriót alkotó sejtek (blasztomerek), totipotensnek tekinthetők a korai blasztociszta állapotig. Ezt követően a sejtek fokozatosan veszítenek fejlődési potenci-

áljukból, specializálódik funkciójuk. Az embrió külső sejtrétegét alkotó sejtek trofektoderma sejtekké alakulnak (TE), ebből fog kialakulni a méhlepény magzati része a beágyazódást követően, míg az embrió belsejében található sejtek (ICM sejtek) pluripotensek maradnak. Az ICM sejteinek egy része tovább differenciálódik, létrejön a hipoblaszt sejtek rétege. Később a hipoblaszt sejtekből az extraembrionális szövetek, a szikzaeszkó, az allantois és az amnion alakulnak ki. Az ICM sejteinek másik része epiblaszttá alakul. Ezek azok a sejtek, amelyekből kiindulva pluripotens embrionális eredetű őssejtvonalat (ESC) lehet létrehozni. Az embrió beágyazódását megelőzően az epiblaszt sejtek átalakulnak, létrejön az úgynevezett késői epiblaszt. A késői epiblasztsejtekből alapították az első epiblaszt eredetű őssejtvonalaikat (EpiESC). A gasztruláció végére kialakul a három embrionális csiralemez: az endoderma, a mezoderma és az ektoderma, amelyekből a kifejlett szervezet összes szövege származtatható. A gasztrulációt követően már csak az ősvarsejtek (őscsírasejt, primoriális csírasejt, PG sejt) maradnak pluripotensek.

A 6. ábra összegzi az emlős embrionális fejlődés kezdeti lépéseit. A pluripotens sejtek mind a beágyazódást megelőzően, mind pedig azt követően jelen vannak a fejlődő embriókban, de nem azonos fejlődési potenciállal rendelkeznek. Meg kell különböztetni a „naiv” állapotban lévő, illetve „primed” állapotban lévő pluripotens sejteket. A madár őssejtek az egér őssejtekhez hasonlítanak jobban, vagyis a naiv pluripotens állapothoz állnak közelebb (Raucci és munkatársai, 2015).



6. ábra. Az emlős embrionális fejlődés kezdeti lépései. Készítette: Dr. Gócza Elen

társai, 2015). A késői epiblasztban található primed állapotban levő sejtek már nem képesek ivarsejtek létrehozására. A pluripotens őscsírasejtek (PG sejtek) a formálódó mezoderma területéről vándorolnak az ivarszerveletekbe, ahol aztán hímivarsejt, illetve petesejt jön létre belőlük, az embriók ivarának megfelelően.

## Korai embrionális sejtek felhasználásának lehetőségei a génmegőrzésben

Mint azt már korábban említettük, emlősök esetében megoldott a petesejt, illetve az embrió mélyhűtése, tárolása és felolvasztás utáni visszaültetése az anyaméhbe. Mivel madarak (tojással szaporodók) esetében a petesejt, illetve a korai embriók mélyhűtése nem megoldott, az embrionális sejtek mélyhűtésére, majd felolvasztás után ezek visszaültetésére van szükség.

A madaraknál a megtermékenyítés a petevezető *infundibulum* részénél következik be, a megtojtás pillanatában az embrió kb. 50–60 000 db sejtet tartalmaz (Perry, 1987). Ezek a sejtek (ESC embryonic stem cells), pluripotensek, aktív mitotikus állapotban vannak. Specializációjuk alacsony fokú, de széles körű differenciálódási képességgel rendelkeznek. Az őssejtek genomja a teljes genetikai programot tartalmazza, így felépülhet belőlük az adott egyed egész szervezete, az ivarsejteket is beleértve. Az *in vitro* génmegőrzés egyik lehetséges útja madarakban éppen ezeknek a csírákorongból kinyerhető pluripotens embrionális sejteknek hosszú távon történő tárolása.

A házi tyúk embrionális fejlődését elsőként *Hamburger és Hamilton (1951)* tanulmányozták. A megtojtás pillanatától a kelésig 46 szakaszra osztották az embrió fejlődését. Mivel az ő osztályozásukban nem szerepelt a petevezetőben végbemenő embrionális fejlődés, *Eyal-Giladi és Kochav (1976)* szükségesnek tartották annak tanulmányozását is. Vizsgálataik szerint a megtermékenyülés pillanatától a primitív csík megjelenéséig 14 fejlődési fázis figyelhető meg, melyeket római számokkal jelöltek. Bármilyen, baromfi embrionális sejttel vagy embrióval végzett manipuláció során ezekre a fejlődési fázisokra hivatkozunk a későbbiekben.

## Az embrionális sejtek hosszú távú tárolása szövettenyésztésben

A nyolcvanas évek elején elsőként angol kutatóknak sikerült blasztula állapotban lévő egér-embriókból kiindulva pluripotens, állandóan osztódó sejtvonalat (ESC) létrehozni (Evans és Kaufman, 1981; Martin, 1981; Nichols és munkatársai, 1990).

Madaraknál elsőként *Pain és munkatársai (1996)* állítottak elő pluripotens embrionális eredetű sejtvonalat (ESC) házityúk- és fűrjembrióból. Megállapították, hogy az ES sejtek hosszú távú fenntartása csak LIF-et tartalmazó tápoldatban lehetséges, mert e nélkül a legkülönbözőbb fejlődési irányokba differenciálódnak, ektoderma, mezoderma, illetve endodermaszerű sejtekké. Az ES sejteket felhasználva sikeresen állítottak elő baromfi kimerákat. Azonban az ES sejtek a hosszú távú tenyésztés során elveszítik azon képességüket, hogy ivarsejtekké differenciálódjanak. Ezért ezeket a sejteket a tenyésztés korai fázisában le kell fagyasztani, vagyis ez a módszer csak mélyhűtéssel kombinálva alkalmas a baromfifajok genetikai anyagának megőrzésére (Whyte és munkatársai, 2016).

## Az embrionális sejtek hosszú távú tárolása mélyhűtéssel

Haszonállatfajaink közül a szarvasmarhában, juhban, nyúlban és a legutóbbi évek eredményeként sertésben is mindennapi realitássá vált az embriómélyhűtés. Mivel madaraknál az embrió a tojásban fejlődik, a tojást pedig jelen ismereteink szerint nem lehet mélyhűteni, a madárembriókból izolált embrionális sejteket lehet lefagyasztani.

Emlős embrionális sejtek mélyhűtése sem okoz nehézséget, általában 10% dimetil-szulfoxidot (DMSO) és 15–20% magzati borjúsavót (FBS) tartalmazó tenyésztő médiumban történik, két lépésben. Először –80 °C-ra helyezik a fagyasztó médiumban felvett sejtszuszpenziót 24 órára, majd a fagyasztócsövek folyékony nitrogénbe kerülnek, ahol gyakorlatilag korlátlan ideig megőrizhetőek.

A napjainkig leginkább alkalmazott madár embrionális sejt krioprezervációs protokoll a sejtek lassú mélyhűtésén alapul. Az eljárás szérumtartalmú médiumot használ, mely krioprotektánsként 10%-ban DMSO-t (dimetylszulfoxid) tartalmaz és 1°C/perc hűtési sebességet alkalmaz. Madár embrionális sejtek mélyhűtéséről először *Naito és munkatársai (1992)* számoltak be fürjnél. *Reedy és munkatársai (1994)* sikeres embrionális blasztoderma sejt mélyhűtéséről közöltek eredményeket házi tyúknál. A végső munkaoldat védőanyagként 1,5 M-os DMSO-t és 15% FBS-t tartalmazott. A hűtési sebesség 1°C/perc a –70 °C eléréséig, eközben –7 °C-nál „seeding”-et alkalmaztak. A „seeding” mesterségesen kiváltott jégmagképződést jelent. A „seeding” során a túlhűlt vizes oldathoz jégkristályt adnak vagy folyékony nitrogénbe mártott csipesszel megérintik a műszalmát. A „seeding” alkalmazása megakadályozza, hogy a vizes oldat túlzottan túlhűljön, mivel a gyors fagyás (a tiszta víz kifagy az oldatból) miatt a koncentráció hirtelen megnőne az extracelluláris térben, és a sejt károsodna a túl gyors vízvesztés miatt (*Cseh, 1989*). A mintákat ezután folyékony nitrogénben tárolták.

A közelmúltban számos összehasonlító vizsgálatot végeztek, melyekben tesztelték a különböző krioprotektánsokat és azok koncentrációját, valamint a hűtési sebesség hatását is (*Moore és munkatársai, 2006; Sawicka és munkatársai, 2015; Setioko és munkatársai, 2007; Tonus és munkatársai, 2016*). A kutatások eredményeit összefoglalva pl. az ősvarsejtek legeredményesebben 10% feletti szérumtartalmú, illetve 5–10% közötti DMSO-t vagy 10% etilén-glikolt tartalmazó médiumban –2 °C/perc sebesség mellett mélyhűthetőek. Léteznek kereskedelmi forgalomban is kapható mélyhűtő médiumok, ilyen például a CELLBANKER 1 (Nippon Zenyaku Kogyo, Japan), melyeket egyszerű használatuknak és nagy hatékonyságuknak köszönhetően gyakran alkalmaznak faj és fajta génmegőrzési célokra (*Nakamura és munkatársai, 2010a, 2011; Nakamura és munkatársai, 2013*). Ugyan pillanatnyilag a vitrificációs módszerek még nem érték el a lassú mélyhűtés hatékonyságát PG sejtek esetében, azonban várható, hogy a jövőben a protokollok fejlesztésével akár meg is haladhatják azt (*Kohara és munkatársai, 2008; Tonus és munkatársai, 2017*).

## Kimérák előállítása

Ha az embrionális eredetű őssejteket (ESC, EpiSC) gazdaembrióba injektáljuk vagy nyolc sejt embrióval aggregáltatjuk, azok képesek beépülni a gazdaembrió embriócsomójába (ICM). Az így létrejött kiméra embrió, illetve a megszülető kiméra utód legkülönbözőbb szövetei-

ben, szerveiben megtalálhatók lesznek az őssejtekből létrejött utódsejtek, miként azt *Gossler és munkatársai (1986)* egéren, illetve *Pettite és munkatársai (1990), Watanabe és munkatársai (1992), Carsience és munkatársai (1993), Thoraval és munkatársai (1994)* pedig baromfifajokon bizonyították.

Az így létrehozott kimérák két eltérő genotípusú (donor/recipiens) sejt vonalat tartalmaznak (*McLaren, 1976; Nilsson és Cloud, 1992*). A donor sejtek elhelyezkedése szerint szomatikus vagy ivarszervi kimérákat különböztethetünk meg. Szomatikus kiméráról akkor beszélünk, ha a donor embrióból származó utódsejtek csak a testi sejtek között találhatóak meg, vagyis az eltérő genotípusú sejtek keveredése csak a szomatikus szövetekben történik meg. Ivarszervi kiméráról pedig akkor van szó, ha a donor sejt vonalból származó sejtek az ivarszervekbe is beépülnek, és ott ivarsejteké képesek differenciálódni. Ebben az esetben a kiméraszervezet két genotípusú ivarsejtet termel (*Héjja és munkatársai, 2006*). Tehát az embrionális sejtek mélyhűtésének és visszaültetésének végső célja olyan ivarszervi kimérák előállítása, amelyek ivarszervei a megőrizendő fajta genomját tartalmazzák. Ily módon a második generációban visszanyerhető a kívánt genotípus.

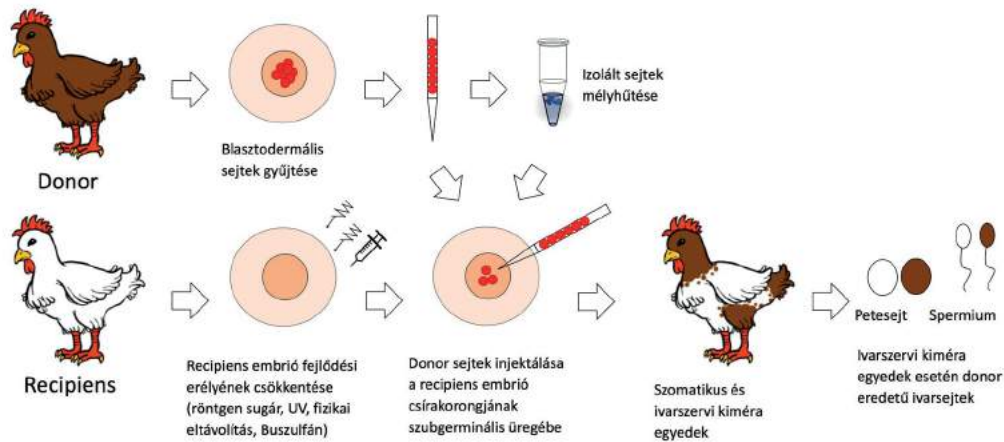
Mint azt már a bevezető részben említettük, többféle pluripotens állapotot lehet megkülönböztetni. A naiv állapotban levő egér ES sejtekből létrejött utódok ivarsejtjei között is megtalálhatóak lesznek az ES sejt vonalból származó sejtek (ivarszervi kimérák), míg az úgynevezett primed állapotban levő egér epiblaszt sejt vonalak sejtjeiből, illetve gazdasági haszonállatok embrióiból létrehozott ESC vonalak sejtjeiből nem lesz ivarsejt, így ivarsejt utódokat sem lehet létrehozni (*Huang és munkatársai, 2012; Wu és munkatársai, 2015*). Feltételezhető, hogy a humán pluripotens sejt vonalak is primed állapotban vannak (*Tesar és munkatársai, 2007*). Bár jelenleg az egér a legfontosabb modellállat, számos eltérés van az egér és az ember embrionális fejlődése között. Ezért egyre nagyobb igény merült fel más fajok embrióinak alkalmazására. Egyre elterjedtebben alkalmaznak úgynevezett interspecifikus kimérákat, amiket humán embriók, illetve humán őssejtek és állati embriók egyesítésével hoznak létre. Ezeket az interspecifikus kimérákat főleg a regenerációs kísérletekben alkalmazzák. Ezekben a kimérákban humán eredetű szerveket, szöveteket próbálnak előállítani, illetve gyógyszereszetekben alkalmazzák ezeket az egyedeket (*Wu és Belmonte, 2016*).

Jelenleg az embrionális eredetű sejtek átvitelével történő kiméra-előállításnak két megközelítése ismert madarak esetében. Az egyik a pluripotens embrionális blasztoderma sejtek mikroinjektálásán alapul, a másik középpontjában a primordiális őscsírarsejtek (PGCs) manipulációja áll (7. ábra). Blasztodermális sejtek injektálásával sikeresen állítottak elő csirkekimérát *Pettite és munkatársai (1990), Carsience és munkatársai (1993), Etches és munkatársai (1993)*, valamint *Thoraval és munkatársai (1994)*.

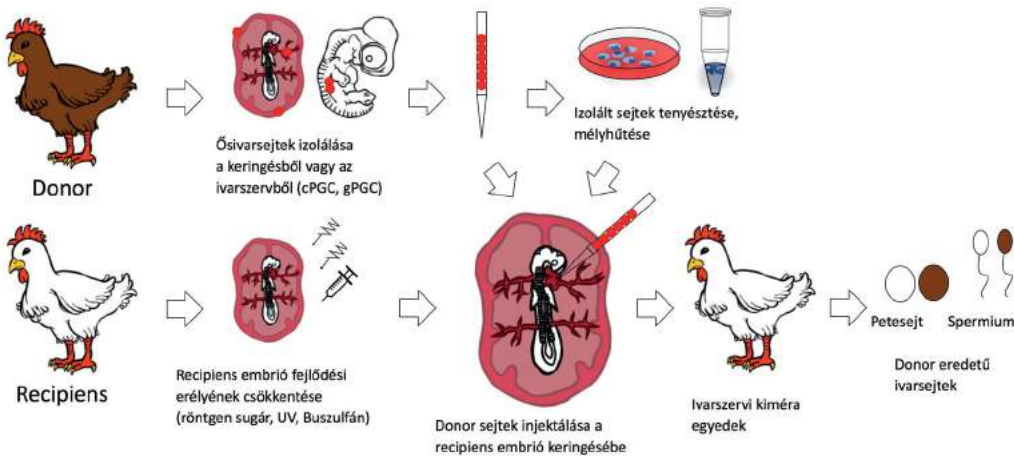
Fajok közötti kimérákat állítottak elő fürj blasztodermális sejtek injektálásával csirke embriókba (*Naito és munkatársai, 1991*). A tollszín alapján a kikelt csibék 8,1%-a bizonyult kimérának. Az embriókat recipiens pulykatojásban inkubálták (*Rowlett és Simkiss, 1987*) a kelésig. *Li és munkatársai (2002)* kacsá blasztodermális sejteket injektáltak fehér leghorn X. stádiumú recipiens tyúktojásba. A 233 injektált tojásból 11 fenotípusos kiméra kelt ki, majd a visszakeresztelés után ebből 1 ivarszervi kimérának bizonyult! Bebizonyosodott, hogy szükség esetén egy másik fajta is alkalmas lehet a megőrzendő fajta ivarsejtjeinek termelésére recipiensként. *Kagami és munkatársai (1995)* a madarak ivari differenciálódását tanulmányozták csirke ki-



### Kiméra előállítása blasztodermális sejtek felhasználásával



### Kiméra előállítása ősvarsejtek felhasználásával



7. ábra. Madárkimérák előállítása különböző őssejtípusok felhasználásával. Készítette: Pataki Luca és Lázár Bence

mérákon. Olyan kimérákat állítottak elő, amelyek különböző ivarú (ZZ, ZW) embriók sejtjeiből tevődtek össze.

Megfigyelték, hogy a csírasejtvonalban előforduló kimériszuszus gyakoriságú volt, ha hímivarú donor sejtet (ZZ) injektáltak nőivarú recipiensbe (ZW), mint fordított esetben. Az így kapott kimérák között fenotípusosan hím- és nőivarú körülbelül egyforma arányban fordult elő. Ezek a kimérák azonban genotípusosan ZZ/ZW kromoszómakészlettel rendelkeztek. Ezzel szemben, amikor nőivarú donor sejtet (ZW) injektáltak hím recipiens embrióba

(ZZ), csak fenotípusosan hímű kimérákat kaptak ZW/ZZ kromoszóma-készlettel. Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a hím donor sejtet képesek maszkulinizálni a nőivarú recipienst, de a nőivarú donor sejtet nem képesek feminizálni a hímivarú recipienst.

### A recipiens embrió fejlődési erélyének csökkentése

A génbankban tárolt embrionális sejtet genomjának visszanyeréséhez kiméra egyedek előállítása szükséges. A donor sejtet a recipiens embrióba való juttatásuk után beépülnek a recipiens embriók szövetei közé. A recipiens embriók ivarszervébe integrálódott donor eredetű sejtet biztosítják azt, hogy a létrejövő ivarszervi kiméra ivarsejtjeinek egy része donor eredetű legyen.

Azt is el lehet érni speciális recipienst alkalmazva, hogy a kiméra egyedekben képződő ivarsejtet csak a donor őssejtetből képződjenek. Ha fiatal hím egereket, patkányok ivarszervéből izolált, úgynevezett spermatogoniális őssejteteket egy nem termékeny recipiens állat herjének kanyarulat csatornácskáiba injektálunk, csak a donor sejtetből származó termékenyítőképes hímivarsejtet keletkeznek. Terméketlen recipiens egeret úgy hozhatunk létre, hogy ha a recipiens embrió valamilyen genetikai mutációt hordoz (pl. W mutáns eger, *Ogawa és munkatársai, 2000*) vagy akár külső kezeléssel, pl. buszulfánt alkalmazva (*Brinster és Zimmermann, 1994*). Amennyiben a donor sejtet tartalmaznak riportert gént (pl. zöld fluoreszcens fehérjét – GFP-t), akkor a donor sejtetből származó ivarsejteteket könnyen azonosítani lehet a recipiens egyed ivarszervében.

Egerek esetében egy másik érdekes eljárásra is lehetőség nyílik. Ha tetraploid recipiens embrióba diploid ES sejtet injektálnak, a megszülető utód csak a donor őssejtetből származó sejtet fog tartalmazni. Ennek az eljárásnak a neve: tetraploid koplimentáció (*Nagy és munkatársai, 1990; Valer Carstea és munkatársai 2005*). Ebben az esetben természetesen az utódok minden ivarsejtje is a donor őssejtetből fog származni.

*Petite és munkatársai 1990*-ben igazolták először, hogy tyúkban is lehetséges életképes ivarszervi kimérák előállítása. A kimérák előállítása során fontos szempont, hogy a donor sejtetnek minél nagyobb hányada vegyen részt a kimérában. A recipiens embrió eredetű sejtet részvételi arányának csökkentésére eltérő megoldások születtek madaraknál. A recipiens embrió részvételi arányának csökkentésére leggyakrabban besugárzást alkalmaznak. UV-sugárzást (*Aige-Gil és Simkiss, 1991a*) és  $\gamma$ -sugárzást (*Carscience és munkatársai, 1993; Etches és munkatársai, 1993; Fraser és munkatársai, 1993; Thoraval és munkatársai, 1994*) használtak több sikeres kísérletnél. Megállapították, hogy a recipiens embrió besugárzása növeli a donor sejtet integrálásának hatékonyságát, de az embrió fejlődése lelassul és körülbelül 24 órával elmarad a kontrolltól (*Carscience és munkatársai, 1993*). Ezek a módszerek tehát ugyan működnek, mégsem elég megbízhatóak és hatékonyak a nagyobb léptékű felhasználáshoz, így a terület szakértői újabb megoldások felé fordultak. A buszulfán (1,4-butanediol dimethane sulfonate) egy emlősökben korábban sikeresen alkalmazott alkilező ágens (*Brinster és Zimmermann, 1994; Nagano és munkatársai, 1999; Nakagawa és munkatársai, 2007*), amely az embrió ivarszerveinek primordiális sejtetből fejlődő részét károsítja maradandóan, majd az alkalmazását követő tíz óra elteltével lebomlik. Madarak esetén a buszulfánnak hasonló a hatása (*Aige-Gil és Simkiss, 1991; Reynaud, 1969; Bresler és munkatársai, 1994*), azonban a módszer eredményes alkalmazásához szükség volt egy technikai fejlesztésre, mely során egy emulzió részeként célzottan

juttatható a buszulfán az embrionális ivarszerv környezetébe (Nakamura és munkatársai, 2008). A módszer eredményeképpen rendkívüli hatékonysággal (99,5%) sikerült a donor eredetű ősi-varsejteknek kolonizálni a recipiens embriók ivarszerveit (Nakamura és munkatársai, 2010b). Az említett eljárások mind egyre fejlettebb módját képviselik a recipiens egyedek megfelelő előkészítésének, azonban a közeljövőben várhatóan a génszüret fogja az optimális megoldást kínálni, és a 100%-ban donor eredetű ivarsejteket hordozó kiméra állatok előállítását megoldani.

## Ősivarsejtek (PG-sejtek) felhasználásának lehetőségei a génmegőrzésben

Napjainkban az ősi-varsejtek (primordiális csírasejt, PG-sejt, PGC) alkalmazása a génmegőrzés területén egyre elterjedtebb, köszönhetően a PG-sejtek működését és vándorlását egyre részletesebben felderítő vizsgálatoknak, illetve a kapcsolódó embrió-mikromanipulációs technikák fejlődésének. Az ősi-varsejtek az embrionális fejlődés során először megjelenő csírasejtek, amelyek a vérkeringés segítségével jutnak el végső osztódási, differenciálódási helyükre, a fejlődő ivarszervekbe (gonádokba). Vándorlásuk közben a PG-sejtek könnyen izolálhatók az embriók véréből. A PG-sejtek hatékony mélyhűtése is megoldott, így alkalmasak egy modern génmegőrzési rendszer alapjainak megteremtésére. Korábbi kutatások igazolták, hogy a PG-sejtek a recipiens embriók keringési rendszerébe visszainjektálva képesek a gonádokba vándorolni (Yasuda és munkatársai, 1992) és ott ivarsejtekké érni (Ono és munkatársai, 1998; Tajima és munkatársai, 1993). Mindkét nemből származó ősi-varsejtek izolálására és hosszú távú *in vitro* tenyésztésére is van mód (van de Lavoie és munkatársai, 2006; Whyte és munkatársai, 2015), így a PG-sejtekre alapuló stratégia a teljes genom megőrzésére alkalmas. Egy ilyen módszer esetében rendkívül fontos a hatékonyság, hiszen ez biztosítja a gyakorlatban való alkalmazhatóságot, gazdaságosságot. A már említett hosszú távú *in vitro* fenntartás (pl. az egy egyedből származó mélyhűthető sejtek számának emelése), illetve a befogadó embriók saját ősi-varsejtszámának csökkentése (Nakamura és munkatársai, 2010b) jelentősen növelte a rendszer hatékonyságát. A továbbiakban más részfolyamatok eredményességének javulása is várható, ezzel az ősi-varsejteken alapuló génmegőrzés mind a külföldi, mind pedig a hazai baromfi génbank projektek homlokterébe kerülhet.

### Ősi-varsejtek izolálásának és injektálásának időzítése

A korai embrionális fejlődés során az ősi-varsejtek első megjelenési helye gyakran meglehetősen távol helyezkedik el az integrációjuk helyétől, az ivarszervektől. Az emlősökkel ellentétben a madarak esetében az ősi-varsejtek vándorlása a fejlődő ivarlécek felé a vérkeringés segítségével zajlik. Ez a sajátosság lehetőséget biztosít a vándorló PG-sejtek (cPGC) egyszerű és hatékony begyűjtésére az embriókból, illetve visszajuttatásukra (transzplantációjukra) is a fejlődő embrióba (Nakamura és munkatársai, 2013). Az ősi-varsejt-specifikus festések elterjedésével lehetővé vált a PG-sejtek útjának és a vándorlás idejének pontos feltérképezése, így ma már tudjuk, hogy az ősi-varsejtek a HH10-13-as (Hamburger és Hamilton, 1951) stádiumáig vándorolnak az extraembrionális területekről a véráram felé, majd a HH15-HH17-es stádiumig tart a vérkeringésből az embrionális ivarszervekbe történő betelepülésük (Nakamura és munkatársai, 2007).

Alternatív módszerként érdemes megemlíteni, hogy az 5–7 napos (HH27-31) embriók ivarszerveiből is nyerhető PG-sejt. Ebben az embrionális korban az ősi-varsejtek már bevándoroltak a fejlődő ivarszervekbe (gPGC), de továbbra is rendelkeznek a keringő PG-sejtek legtöbb előnyös tulajdonságával (könnyű hozzáférés, *in vitro* fenntartható, fagyaszttá tárolható, recipiens egyedekbe injektálva ivarszervi kimérákat nyerhetünk) (Nakajima és munkatársai, 2014; Tajima és munkatársai, 1993). Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy a tyúkfaj ivarérett kakasainak heréiből is kinyerhetők spermaképző őssejtek, melyek szintén képesek recipiens embriókba visszainjektálva funkcióképes, érett ivarsejteket adni, bár a fent említett cPGC és gPGC alapú módszereknél alacsonyabb arányban (Jung és munkatársai, 2010).

Összefoglalva tehát, az ősi-varsejtek izolálásának optimális időzítése cPGC-k esetén HH13-14, míg gPGC-k esetén HH27-31 stádiumok közé tehető, továbbá a sejtek recipiens embriókba injektálása HH13-16 stádiumok között hoz legnagyobb arányban ivarszervi kiméra utódokat.

### Ősi-varsejtek elválasztása és felszaporítása

Az ősi-varsejt alapú génmegőrzési módszerek hatékonysága nagymértékben függ a recipiens embriókba injektált PG-sejtek számától. A korai embrionális fejlődés során az ősi-varsejt-populáció aránya a vérben vagy az ivarszervben (gonádban) található ivarsejtekéhez viszonyítva alacsony (0,02% és 2%) (Mozdziaik és munkatársai, 2005; Zhao és Kuwana, 2003). Ezért, ha intakt vért vagy gonadális sejtuszuspenziót injektálnánk, a módszer hatékonysága nem érné el a gyakorlati felhasználáshoz szükséges szintet (Petitte és munkatársai, 1991).

Egyes ősi-varsejt-specifikus sejtjelületi antigéneket használva a PG sejtek kiválogathatók a vér- vagy ivarszervi sejtek tömegéből. Ennek egyik típusa a mágneses gyöngyökhöz kapcsolt (EMA-1 vagy SSEA-1 antigénnel reagáló) antitesteken alapul (MACS – magnetic-activated cell sorting), míg a másik elterjedt módszer fluoreszcensen jelölt antitesteket és ez alapján a sejteket válogatni képes berendezést használ (FACS – fluorescens-activated cell sorting) (Kim és munkatársai, 2004; Mozdziaik és munkatársai, 2005). Létezik egy antitest, a QCR1, mely képes kapcsolódni japán fűrj és fácán ősi-varsejtek egy speciális epitopjához, ami ezeknél a fajknál is lehetővé teszi a fenti módszerek használatát (Kang és munkatársai, 2008; Ono és Machida, 1999). Rendelkezésre áll még kétféle, nem antigén-antitest reakción alapuló egyszerűbb módszer is a véresejtek és PG-sejtek elválasztására. Az első csoportot a sűrűséggrádiensen alapuló centrifugációs módszerek adják. Először a Ficoll, majd a Nycodenz nevű anyaggal végeztek sikeres kísérleteket, melyek során több centrifugációs lépésben kialakítható egy PG-sejteket koncentráltan tartalmazó fázis (Yasuda és munkatársai, 1992; Zhao és Kuwana, 2003). A második eljárás a vörösvérsejtek roncsolását követően segít az ősi-varsejtek kiválasztásában, amit egy ammónium-klorid és kálium tartalmú pufferben végeznek el (Yamamoto és munkatársai, 2007). Az említett módszerek közül a Nycodenz alapú elválasztásnál tapasztalták a legmagasabb túlélést és legtisztább végső PG-sejt populációt (Zhao és Kuwana, 2003). Ugyanakkor érdemes megemlíteni, hogy ezek a módszerek több embrióból gyűjtött nagyobb mennyiségű vér- és ivarszervmintán működnek igazán hatékonyan, kevésbé alkalmazhatóak egyedi embriók esetében, ami pedig a génmegőrzési célú ősi-varsejt izolálás szempontjából fontos kritérium.

Létezik egy igen kreatív módszer az ivarszervekbe már bevándorolt PG-sejtek elválasztására, mely az ősi-varsejteknek azt a tulajdonságát használja ki, hogy megfelelő környezetben

(Ca<sup>2+</sup> és Mg<sup>2+</sup> mentes Dulbecco's PBS-ben) egyszerűen kivándorolnak a fejlődő ivarszerv szöveteiből, ahonnan utána összegyűjthetők (*Nakajima és munkatársai, 2011*). Ez jelenleg a legegyszerűbb és legkisebb eszközigenyű technika, mely a házityúkon kívül számos más faj esetében is várhatóan lehetővé teszi a PG-sejtek könnyebb izolálását.

### **Ősivarsejtek hosszú távú fenntartása in vitro sejtenyészetekben**

A házityú-embriókból származó PG-sejtek számának növelése a mélyhűtés, illetve a recipiens embriókba való injektálás előtt a kezdetektől az ősivarsejt alapú génmegőrzési módszerek homlokterében állt. Először megfelelő tenyésztő médiumok hiányában több embrióból származó sejtek gyűjtésével és keverésével emelték a kísérletekhez szükséges sejtek számát, azonban a modern génmegőrzési folyamatokhoz elengedhetetlen, hogy az egyedi embriókból származó genetikai információ álljon rendelkezésünkre. Éppen ezért az első eljárás és tenyésztő médium, amellyel hosszú távon fenntarthatóvá váltak az egyetlen embrióból izolált sejtek, rendkívül nagy jelentőségű áttörés volt 2006-ban (*van de Lavoie és munkatársai, 2006*). Ezt követően számos javítás és fejlesztés jelent meg különböző kutatócsoportok munkájának köszönhetően. Először a táplálósejteket is felhasználó tenyészetek fejlődtek, majd egyre több molekuláris jelátviteli út feltérképezésén keresztül a PG-sejtek igényeinek egyre jobban megfelelő tápoldatokat fejlesztettek ki (*Choi és munkatársai, 2010; van de Lavoie és munkatársai, 2006; Macdonald és munkatársai, 2010; Miyahara és munkatársai, 2014, 2016*). Ezekben a médiumokban a hím embrió eredetű sejtek túléltek és osztódtak, azonban a tojó eredetű sejtek osztódása kimutathatóan elmaradt a hím sejtektől, vagy csak sokkal rövidebb távon volt megoldott. *McGrew és munkatársai 2015*-ben fejlesztettek ki egy új tápoldatot, melynek létrehozásakor felhasználták a legfrissebb molekuláris biológiai és jelátviteli információkat (*Whyte és munkatársai, 2015*). Ez a táplálósejt- és szérumentes médium már alkalmas a tojó eredetű sejtek hosszú távú fenntartására, így mindkét nemből származó sejtek nagy hatékonysággal fenntarthatók és sokszorozhatók a mélyhűtés (*Nandi és munkatársai, 2016*) vagy recipiensbe való injektálás előtt.

### **Ősivarsejteken alapuló génbanki megőrzés lehetőségei**

Napjainkra számos házityú-fajtából – köztük őshonos vonalaktól is – sikerült ősivarsejt tenyészeteket alapítani (*van de Lavoie és munkatársai, 2006; Macdonald és munkatársai, 2010; Miyahara és munkatársai, 2014; Tonus és munkatársai, 2016*). A folyamat szempontjából ennek legnagyobb előnye, hogy egyedi embriókból is lehetséges a mélyhűtéshez és injektáláshoz elegendő számú PG-sejtet előállítani, ami elősegíti a minél szélesebb alapokon nyugvó genetikai információ tárolását. Korábbi vizsgálatok rámutattak, hogy egy populáció által hordozott genetikai sokszínűség megőrzéséhez minimum 15–25 egyedből származó ősivarsejtenyészetre van szükség, nemenként (FAO, 1998). Természetesen ezt a célszámot minden faj, fajta vagy vonal esetében külön érdemes vizsgálni, és a mintavételt a populáció genetikai tulajdonságai és nagysága alapján kell meghatározni. Ugyan a PG-sejtek izolálásához, *in vitro* tenyésztéséhez és mélyhűtéséhez szükséges infrastruktúra és vegyszer költséges, a ráfordítás mégis jóval elmarad egy *ex situ* állomány folyamatos fenntartásával járó kiadásoktól, ráadásul az így

tárolt sejtek védettek a fertőzésekkel, szaporodásbiológiai problémákkal és egyes környezeti károsításokkal szemben.

Az ősivarsejtek embrióon belüli gyűjtésének célszerű helye függ a rendelkezésre álló embriók számától. A gonád eredetű PG-sejtek használata egyszerű, nagy mennyiségű tiszta sejttálmányt eredményez, azonban elkerülhetetlen a donor embriók pusztulása, így olyan esetekben nem alkalmazható, amikor a feláldozható embriók száma limitált, vagy az embriók feláldozása egyáltalán nem lehetséges (ritka fajták, veszélyeztetett fajok). Ezekben az esetekben a keringésben vándorló ősivarsejtek izolálása a megfelelő megközelítés, hiszen így egyszerre kapunk a vérvételen keresztül mintát a PG-sejt felszaporításhoz és a keltetőbe visszahelyezett donor embrió is tovább fejlődhet, végül kikelhet (*Nakamura és munkatársai, 2010a*). További fontos gyakorlati szempont, hogy például halakkal ellentétben, ahol az ellenkező nembe injektált fejlődő ivarsejtek nagy arányban képesek funkcionálni, érett ivarsejtekké alakulni (*Okutsu és munkatársai, 2007; Yoshizaki és munkatársai, 2010*), madaraknál az átalakulás hatékonysága sokkal rosszabb, sőt, inkább csak ritka kivétel (*Liu és munkatársai, 2017; Naito és munkatársai, 1999*). Ezért, ha a cél egy génmegőrzési program, csak ivarazonos embriókba érdemes donor eredetű sejteket injektálni (*Naito és munkatársai, 1999; Tagami és munkatársai, 2007*). Minden esetben fontos, és sok esetben nehéz kérdés, hogy mi a megfelelő recipiens vonal, fajta vagy faj. Egy őshonos fajta esetében egy rokon fajta kézenfekvő választás lehet, azonban veszélyeztetett fajok esetében a megoldás koránt sem ilyen egyszerű. Erre lehet a jövőben megoldás a xenotranszplantáció. A közelmúltban már végeztek kísérleteket egymástól távolabb eső filogenetikai csoportok között is (fácán, kacska és galléros tuzok sejtek házi tyúkba), de egyelőre csak a hím PG-sejtekkel értek el sikereket (*Kang és munkatársai, 2008; van de Lavoie és munkatársai, 2012; Li és munkatársai, 2002; Liu és munkatársai, 2012; Wernery és munkatársai, 2010*), azonban további szövettani vizsgálatok szükségesek a nőivartól származó sejtek fejlődésének meghatározásához idegen recipiensben.

A genetikai információ ősivarsejtek formájában való tárolásának a biztonságon kívül van egy további előnye: jóval olcsóbban és hatékonyabban szállíthatók. Az első mélyhűtve szállítást célzó kísérletek sikerrel zárultak (*Nakamura és munkatársai, 2016*). A jövőben ennek a ténynek jelentősége lehet egy PG-sejt alapú tároló- és elosztóhálózat kiépítésénél is.

Az itt leírt módszerek jelenleg is alkalmasak a fejlett génbanki megőrzés igényeinek kiszolgálására. Jó példa erre Japán, ahol már 15 őshonos házityú- és 2 gyöngytyúkfajta krioprezervációját ősivarsejtekkel is végzik. Reményeink szerint hazánkban is egyre jobban elterjedhet ez a módszer, ami eredményesen egészítheti ki a már létező, főként spermafagyasztáson alapuló *in vitro* stratégiákat.

### **Irodalomjegyzék**

- Aige-Gil, V. and Simkiss, K. (1991a): Sterilising embryos for transgenic chimaeras. *British Poultry Science* 32: 427-438.
- Aige-Gil, V. and Simkiss, K. (1991b): Sterilization of avian embryos with busulphan. *Research in Veterinary Science* 50: 139-144.
- Alexander, A., Graham, J., Hammerstedt, R. H., and Barbato, G. F. (1993): Effects of genotype and cryopreservation of avian semen on fertility and number of perivitelline spermatozoa. *British Poultry Science* 34: 757-764.



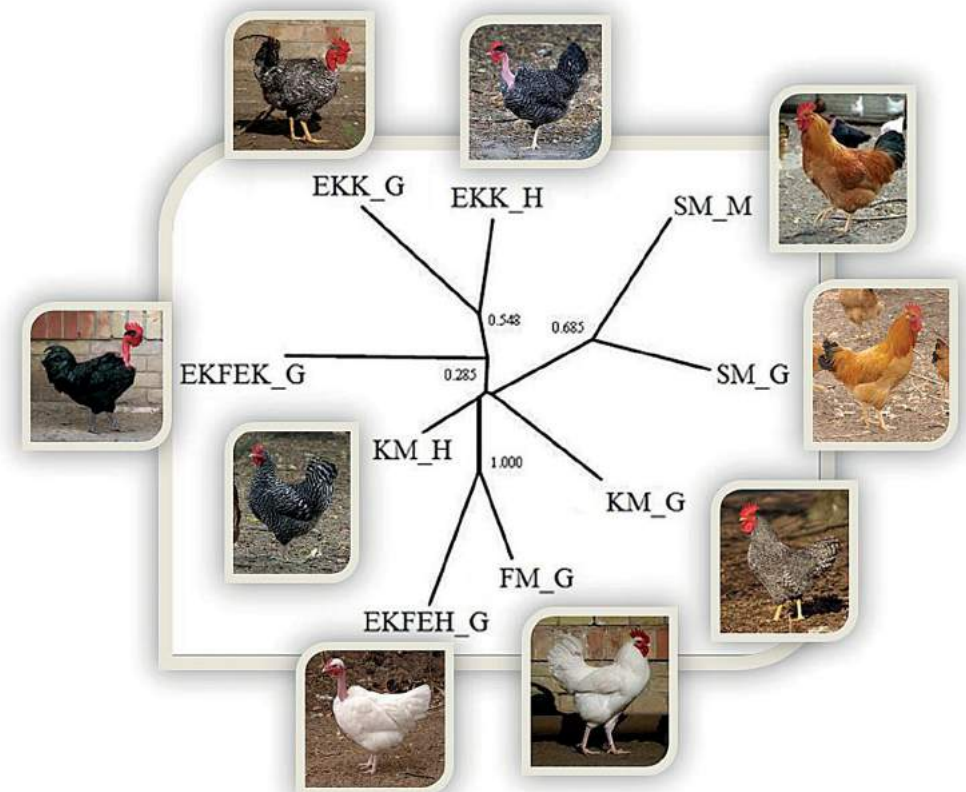
- Barna, J., Végi, B., Váradi, É. and Liptói, K. (2010): Comparative study on cryopreservation procedures of gander sperm. *World Poultry Science Journal*, 66(Suppl.): 508.
- Bednarczyk, M., Lakota, P. and Grajewski, B. (2003): Evaluating survival chances of duck and goose embryos injected into the subgerminal cavity with blastodermal cells of donors. / Ocena przeżywalności zarodków kaczych i gęsich po iniekcji do jamy podzarodkowej komórek blastodermalnych dawców. *Medycyna weterynaryjna* 59(6): 521-524.
- Bednarczyk, M., Lakota, P., Slomski, R., Plawski, A., Lipinski, D., Siemieniako, B., Lisowski, M., Czekalski, P., Grajewski, B., Dłużewska, P. (2002): Reconstitution of a chicken breed by inter se mating of germline chimeric birds. *Poultry Science* 81: 1347-1353.
- Bresler, M., Benham, J., Luke, G., Simkiss, K. (1994): Manipulations of germ cell populations in the gonad of fowl. *British Poultry Science* 35: 241-247.
- Brinster, R. L., and Zimmermann, J. W. (1994): Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 11298-11302.
- Carsience, R. S., Clark, M. E., Verrinder-Gibbins, A. M. and Etches, R. J. (1993): Germline chimeric chickens from dispersed donor blastodermal cells and compromised recipient embryos. *Development* 117: 669-675.
- Chalah, T., Seigneurin, F., Blesbois, E., and Brillard, J. P. (1999): *In vitro* comparison of fowl sperm viability in ejaculates frozen by three different techniques and relationship with subsequent fertility in vivo. *Cryobiology* 39: 185-191.
- Choi, J. W., Kim, S., Kim, T. M., Kim, Y. M., Seo, H. W., Park, T. S., Jeong, J.-W., Song, G., and Han, J. Y. (2010): Basic fibroblast growth factor activates MEK/ERK cell signaling pathway and stimulates the proliferation of chicken primordial germ cells. *PLoS One* 5: e12968.
- Cseh S. (1989): Embriómélyhűtés. *Folia Biotechnologica* 29. OMIKK, OMFB, Budapest
- Dubos, F., Seigneurin, F., Mialon-Richard, M. M., Grasseau, I., Guy, G. and Blesbois E. (2006): Cryopreservation of Landese gander semen. *Symposium COA/INRA Scientific Cooperation in Agriculture, Tainan (Taiwan, R.O.C.)*. 169-172 p.
- Etches, R., Carsience, R. S., Clark, M. S., Fraser, R. A., Toner, A., Verrinder Gibbins, A. M. (1993): Chimeric chickens and their use in manipulation of the chicken genome. *Poultry Science* 72: 882-889.
- Evans, M. J., Kaufman, M. H. (1981): Establishment in culture of pluripotent cell from mouse embryos. *Nature* 292: 154-155.
- Eyal-Giladi, H., Kochav, S. (1976): From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stages of development of the chick. I. General morphology. *Developmental Biology* 49: 321-337.
- Fraser, R. A., Carsience, R. S., Clark, M. E., Etches, R. J., Verrinder Gibbins, A. M. (1993): Efficient incorporation of transfected blastodermal cells into chimeric chicken embryos. *The International Journal of Developmental Biology* 37: 381-385.
- Gosler, A., Doetschman, T., Korn, R., Serfling, E., Kemler, R. (1986): Transgenesis by means of blastocyst-derived embryonic stem cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83: 9065-9069.
- Hamburger, V., Hamilton, H. L. (1951): A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology* 88: 49-92.
- Hammerstedt, R. H., Graham, J. K. (1992): Cryopreservation of poultry sperm: the enigma of glycerol. *Cryobiology* 29: 26-38.
- Héjja I., Várkonyi E., Zöldág L., Barna J. (2006): A mesterséges kimériszmus jelentősége baromfiban. (1. rész. Irodalmi áttekintés) *Magyar Állatorvosok Lapja* 128(5): 273-280.
- Huang, Y., Osorno, R., Tsakiridis, A., Wilson, V. (2012): In vivo differentiation potential of epiblast stem cells revealed by chimeric embryo formation. *Cell Reports* 2: 1571-1578.
- Jean C., Oliveira N. M., Intarapat S., Fuet A., Mazoyer C., De Almeida I., Trevers K., Boast S., Aubel P., Bertocchini F., Stern C. D., Pain B. (2015): Transcriptome analysis of chicken ES, blastodermal and germ cells reveals that chick ES cells are equivalent to mouse ES cells rather than EpiSC. *Stem Cell Research* 14(1): 54-67.
- Jung, J. G., Lee, Y. M., Kim, J. N., Kim, T. M., Shin, J. H., Kim, T. H., Lim, J. M., Han, J. Y. (2010): The reversible developmental unipotency of germ cells in chicken. *Reproduction (Cambridge, England)* 139: 113-119.
- Kagami, H., Clark, M. E., Verrinder Gibbins, A. M., Etches, R. J. (1995): Sexual differentiation of chimeric chickens containing ZZ and ZW cells in the germline. *Molecular Reproduction and Development* 42: 379-387.
- Kang, S. J., Choi, J. W., Kim, S. Y., Park, K. J., Kim, T. M., Lee, Y. M., Kim, H., Lim, J. M., Han, J. Y. (2008): Reproduction of wild birds via interspecies germ cell transplantation. *Biology of Reproduction* 79: 931-937.
- Kim, J. N., Kim, M. A., Park, T. S., Kim, D. K., Park, H. J., Ono, T., Lim, J. M., Han, J. Y. (2004): Enriched gonadal migration of donor-derived gonadal primordial germ cells by immunomagnetic cell sorting in birds. *Molecular Reproduction and Development* 68: 81-87.
- Kohara, Y., Kanai, Y., Tajima, A. (2008): Cryopreservation of gonadal germ cells (GGCs) from the domestic chicken using vitrification. *The Journal of Poultry Science* 45: 57-61.
- Lake, P. E., Stewart, J. M. (1978): Preservation of fowl semen in liquid nitrogen--an improved method. *British Poultry Science* 19: 187-194.
- Li, Z. D., Deng, H., Liu, C. H., Song, Y. H., Sha, J., Wang, N., Wei, H. (2002): Production of duck-chicken chimeras by transferring early blastodermal cells. *Poultry Science* 81: 1360-1364.
- Liu, C., Chang, I.-K., Khazanehdari, K. A., Thomas, S., Varghese, P., Baskar, V., Alkhatib, R., Li, W., Kinne, J., McGrew, M., Wernery, U. (2017): Uniparental chicken offsprings derived from oogenesis of chicken primordial germ cells (ZZ). *Biology of Reproduction* 96(3): 686-693.
- Liu, C., Khazanehdari, K. A., Baskar, V., Saleem, S., Kinne, J., Wernery, U., Chang, I.-K. (2012): Production of chicken progeny (*Gallus gallus domesticus*) from interspecies germline chimeric duck (*Anas domesticus*) by primordial germ cell transfer. *Biology of Reproduction* 86(4): 101, 1-8.
- Lukaszewicz, E., Chrzanowska, M., Jerisz, A., Chelmonska, B. (2004): Attempts on freezing the Greylag (*Anser anser* L.) gander semen. *Animal Reproduction Science* 80(1-2): 163-173.
- Macdonald, J., Glover, J. D., Taylor, L., Sang, H. M., McGrew, M. J. (2010): Characterisation and germline transmission of cultured avian primordial germ cells. *PLoS One* 5: e15518.
- Martin, G. (1981): Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 78: 7634-7638.
- McLaren, A. (1976): *Mammalian chimaeras*. University Press, Cambridge
- Miyahara, D., Mori, T., Makino, R., Nakamura, Y., Oishi, I., Ono, T., Nirasawa, K., Tagami, T., Kagami, H. (2014): Culture conditions for maintain propagation, long-term survival and germline transmission of chicken primordial germ cell-like cells. *The Journal of Poultry Science* 51: 87-95.
- Miyahara, D., Oishi, I., Makino, R., Kurumisawa, N., Nakaya, R., Ono, T., Kagami, H., Tagami, T. (2016): Chicken stem cell factor enhances primordial germ cell proliferation cooperatively with fibroblast growth factor 2. *Journal of Reproduction and Development* 62: 143-149.
- Moore, D. T., Purdy, P. H., Blackburn, H. D. (2006): A method for cryopreserving chicken primordial germ cells. *Poultry Science* 85: 1784-1790.
- Mozdziak, P. E., Angerman-Stewart, J., Rushton, B., Pardue, S. L., Petite, J. N. (2005): Isolation of chicken primordial germ cells using fluorescence-activated cell sorting. *Poultry Science* 84: 594-600.
- Nagano, M., Avarbock, M. R., Brinster, R. L. (1999): Pattern and kinetics of mouse donor spermatogonial stem cell colonization in recipient testes. *Biology of Reproduction* 60: 1429-1436.
- Nagy A., Góczy E., Diaz E. M., Prideaux V. R., Iványi E., Markkula M., Rossant J. (1990): Embryonic stem cells alone are able to support fetal development in the mouse. *Development* 110(3): 815-821.
- Naito, M. (2003): Cryopreservation of avian germline cells and subsequent production of viable offspring. *The Journal of Poultry Science* 40: 1-12.
- Naito, M., Matsubara, Y., Harumi, T., Tagami, T., Kagami, H., Sakurai, M., Kuwana, T. (1999): Differentiation of donor primordial germ cells into functional gametes in the gonads of mixed-sex germline chimaeric chickens produced by transfer of primordial germ cells isolated from embryonic blood. *Journal of Reproduction and Fertility* 117: 291-298.
- Naito, M., Nirasawa, K., Oishi, T. (1992): Preservation of quail blastoderm cells in liquid nitrogen. *British Poultry Science* 33: 449-453.
- Naito, M., Tajima, A., Tagami, T., Yasuda, Y., Kuwana, T. (1994): Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable offspring. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 321-325.

- Naito, M., Watanabe, M., Kinutani, M., Nirasawa, K., Oishi, T. (1991): Production of quail-chick chimaeras by blastoderm cell transfer. *British Poultry Science* 32: 79-86.
- Nakagawa, T., Nabeshima, Y.-I., Yoshida, S. (2007): Functional identification of the actual and potential stem cell compartments in mouse spermatogenesis. *Developmental Cell* 12: 195-206.
- Nakajima, Y., Hattori, T., Asano, A., Ishikawa, N., Tajima, A. (2014): Migration and differentiation of gonadal germ cells under cross-sex germline chimeras condition in domestic chickens. *Journal of Reproduction and Development* 60: 406-410.
- Nakajima, Y., Minematsu, T., Naito, M., Tajima, A. (2011): A new method for isolating viable gonadal germ cells from 7-day-old chick embryos. *The Journal of Poultry Science* 48: 106-111.
- Nakamura, Y., Kagami, H., Tagami, T. (2013): Development, differentiation and manipulation of chicken germ cells. *Development, Growth and Differentiation* 55: 20-40.
- Nakamura, Y., Tasai, M., Takeda, K., Nirasawa, K., Tagami, T. (2013): Production of Functional Gametes from Cryopreserved Primordial Germ Cells of the Japanese Quail. *Journal of Reproduction and Development* 59: 580-587.
- Nakamura, Y., Usui, F., Miyahara, D., Mori, T., Ono, T., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2010a): Efficient system for preservation and regeneration of genetic resources in chicken: concurrent storage of primordial germ cells and live animals from early embryos of a rare indigenous fowl (Gifujidori). *Reproduction, Fertility and Development* 22: 1237-1246.
- Nakamura, Y., Usui, F., Miyahara, D., Mori, T., Watanabe, H., Ono, T., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2011): Viability and functionality of primordial germ cells after freeze-thaw in chickens. *The Journal of Poultry Science* 48: 57-63.
- Nakamura, Y., Usui, F., Ono, T., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2010b): Germline replacement by transfer of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken. *Biology of Reproduction* 83: 130-137.
- Nakamura, Y., Yamamoto, Y., Usui, F., Atsumi, Y., Ito, Y., Ono, T., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2008): Increased proportion of donor primordial germ cells in chimeric gonads by sterilisation of recipient embryos using busulfan sustained-release emulsion in chickens. *Reproduction, Fertility and Development* 20: 900-907.
- Nakamura, Y., Yamamoto, Y., Usui, F., Mushika, T., Ono, T., Setioko, A.R., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2007): Migration and proliferation of primordial germ cells in the early chicken embryo. *Poultry Science* 86: 2182-2193.
- Nandi, S., Whyte, J., Taylor, L., Sherman, A., Nair, V., Kaiser, P., McGrew, M. J. (2016): Cryopreservation of specialized chicken lines using cultured primordial germ cells. *Poultry Science* 95: 1905-1911.
- Nichols, J., Evans, E. P., Smith, A. G. (1990): Establishment of germ-line competent embryonic stem (ES) cells using differentiation inhibiting activity. *Development* 110: 1341-1348.
- Nilsson, E. E., Cloud, J. G. (1992): Rainbow trout chimeras produced by injection of blastomeres into recipient blastulae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 9425-9428.
- Ogawa, T., Dobrinski, I., Avarbock, M. R., Brinster, R. L. (2000): Transplantation of male germ line stem cells restores fertility in infertile mice. *Nature Medicine* 6: 29-34.
- Okutsu, T., Shikina, S., Kanno, M., Takeuchi, Y., Yoshizaki, G. (2007): Production of trout offspring from triploid salmon parents. *Science* 317: 1517-1517.
- Ono, T., Machida, Y. (1999): Immunomagnetic purification of viable primordial germ cells of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology* 122: 255-259.
- Ono, T., Matsumoto, T., Arisawa, Y. (1998): Production of donor-derived offspring by transfer of primordial germ cells in Japanese quail. *Experimental Animals* 47: 215-219.
- Pain, B., Clark, M. E., Shen, M., Nakazawa, H., Sakurai, M., Samarut, J., Etches, R. J. (1996): Long-term *in vitro* culture and characterisation of avian embryonic stem cells with multiple morphogenetic potentialities. *Development* 122: 2339-2348.
- Perry, M. M. (1987): Nuclear events from fertilization to the early cleavage stages in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Journal of Anatomy* 150: 99-109.
- Petit, J. N. (2006): Avian germplasm preservation: Embryonic stem cells or primordial germ cells? *Poultry Science* 85: 237-242.
- Petit, J. N., Clark, M. E., Etches, R. J. (1991): Assessment of functional gametes in chickens after transfer of primordial germ cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 92: 225-229.
- Petit, J. N., Clark, M. E., Verrinder Gibbins, A. M., Etches, R. J. (1990): Production of somatic and germline chimaeras in the chicken by transfer of early blastodermal cells. *Development* 108: 185-189.
- Raucci, F., Fuet, A., Pain, B. (2015): *In vitro* generation and characterization of chicken long-term germ cells from different embryonic origins. *Theriogenology* 84: 732-742.e1-2.
- Reedy, S. E., Leibo, S. P., Etches, R. J. (1994): Cryopreservation of chick blastodermal cells to produce chimeric chickens. 31st Annual Meeting of Society for Cryobiology, 21-26th of August, Kyoto, Japan
- Reynaud, G. (1969): The transfer of turkey primordial germ cells to chick embryos by intravascular injection. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 21: 485-507.
- Rowlett, K., Simkiss, K. (1987): Explanted embryo culture: *in vitro* and *in ovo* techniques for domestic fowl. *British Poultry Science* 28: 91-101.
- Sawicka, D., Chojnacka-Puchta, L., Zielinski, M., Plucienniczak, G., Plucienniczak, A., Bednarczyk, M. (2015): Flow cytometric analysis of apoptosis in cryoconserved chicken primordial germ cells. *Cellular and Molecular Biology Letters* 20: 143-159.
- Setioko, A. R., Tagami, T., Tase, H., Nakamura, Y., Takeda, K., Nirasawa, K. (2007): Cryopreservation of primordial germ cells (PGCs) from white leghorn embryos using commercial cryoprotectants. *Journal of Poultry Science* 44: 73-77.
- Sztán, N., Patakiné Várkonyi, E., Liptói, K. and Barna, J. (2012): Observations of embryonic cell manipulations in different poultry species. / *Baromfifajok embrionális sejtjeinek kezelésével szerzett tapasztalatok. Hungarian Veterinary Journal/Magyar Állatorvosok Lapja* 134(8): 475-481.
- Tagami, T., Kagami, H., Matsubara, Y., Harumi, T., Naito, M., Takeda, K., Hanada, H., Nirasawa, K. (2007): Differentiation of female primordial germ cells in the male testes of chicken (*Gallus gallus domesticus*). *Molecular Reproduction and Development* 74: 68-75.
- Tajima, A. (2002): Production of germ-line chimeras and their application in domestic chicken. *Avian and Poultry Biology Reviews* 13: 15-30.
- Tajima, A., Graham, E. F., Shoffner, R. N., Otis, J. S., Hawkins, D. M. (1990): Cryopreservation of semen from unique lines of chicken germ plasm. *Poultry Science* 69: 999-1002.
- Tajima, A., Naito, M., Yasuda, Y., Kuwana, T. (1993): Production of germ line chimera by transfer of primordial germ cells in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). *Theriogenology* 40: 509-519.
- Tesar, P. J., Chenoweth, J. G., Brook, F. A., Davies, T. J., Evans, E. P., Mack, D. L., Gardner, R. L., McKay, R. D. G. (2007): New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells. *Nature* 448: 196-199.
- Thoraval, P., Lasserre, F., Coudert, F., Dambrine, G. (1994): Somatic and germline chicken chimeras obtained from brown and white leghorns by transfer of early blastodermal cells. *Poultry Science* 73: 1897-1905.
- Tonus, C., Cloquette, K., Ectors, F., Piret, J., Gillet, L., Antoine, N., Desmecht, D., Vanderplasschen, A., Waroux, O., Grobet, L. (2016): Long term-cultured and cryopreserved primordial germ cells from various chicken breeds retain high proliferative potential and gonadal colonisation competency. *Reproduction, Fertility and Development* 28: 628-639.
- Tonus, C., Connan, D., Waroux, O., Vandenhove, B., Wayet, J., Gillet, L., Desmecht, D., Antoine, N., Ectors, F.J., Grobet, L. (2017): Cryopreservation of chicken primordial germ cells by vitrification and slow freezing: A comparative study. *Theriogenology* 88: 197-206.
- Valer Carstea B., Catunda Lemos A. P., Ilie E. D., Varga L., Bodó Sz., Kovács A., Bősze Zs., Gócza E. (2007): Production of identical mouse twins and a triplet with predicted gender. *Cloning Stem Cells* 9(2): 247-56.
- van de Lavoie, M.-C., Collarini, E. J., Leighton, P. A., Fessler, J., Lu, D. R., Harriman, W. D., Thiyagasundaram, T. S., Etches, R. J. (2012): Interspecific germline transmission of cultured primordial germ cells. *PLoS One* 7: e35664.
- van de Lavoie, M.-C., Diamond, J. H., Leighton, P. A., Mather-Love, C., Heyer, B. S., Bradshaw, R., Kerchner, A., Hooi, L. T., Gessaro, T. M., Swanberg, S. E., Delany M. E., Etches R. J. (2006): Germline transmission of genetically modified primordial germ cells. *Nature* 441: 766-769.

- Várad, É., Végi, B., Liptó, K., Barna, J. (2013): Methods for cryopreservation of guinea fowl sperm. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0062759>. PLoS One 8(4): e62759 5.
- Watanabe, M., Kinutani, M., Naito, M., Ochi, O., Takashima, Y. (1992): Distribution analysis of transferred donor cells in avian blastodermal chimeras. *Development* 114: 331-338.
- Wernery, U., Liu, C., Baskar, V., Guerineche, Z., Khazanehdari, K. A., Saleem, S., Kinne, J., Wernery, R., Griffin, D. K., Chang, I.-K. (2010): Primordial germ cell-mediated chimera technology produces viable pure-line Houbara bustard offspring: potential for repopulating an endangered species. *PloS One* 5: e15824.
- Whyte, J., Blesbois, E., McGrew, M. (2016): Increased sustainability in poultry production: New tools and resources for genetic management. In: E. Burton, J. Gatcliffe, H. Masey O'Neill, D. Scholey (eds.): *Sustainable Poultry Production in Europe. Poultry Science Symposium*, 31. CABI Publishing, GBR. 214. p.
- Whyte, J., Glover, J. D., Woodcock, M., Brzeszczynska, J., Taylor, L., Sherman, A., Kaiser, P., McGrew, M. J. (2015): FGF, insulin, and SMAD signaling cooperate for avian primordial germ cell self-renewal. *Stem Cell Reports* 5: 1171-1182.
- Wu, J., Izpisua Belmonte, J. C. (2016): Interspecies chimeric complementation for the generation of functional human tissues and organs in large animal hosts. *Transgenic Research* 25: 375-384.
- Wu, J., Okamura, D., Li, M., Suzuki, K., Luo, C., Ma, L., He, Y., Li, Z., Benner, C., Tamura, I., Krause, M. N., Nery, J. R., Du, T., Zhang, Z., Hishida, T., Takahashi, Y., Aizawa, E., Kim, N. Y., Lajara, J., Guillen, P., Campistol, J. M., Esteban, C. R., Ross, P. J., Saghatelian, A., Ren, B., Ecker, J. R., Izpisua Belmonte, J. C. (2015): An alternative pluripotent state confers interspecies chimaeric competency. *Nature* 521: 316-321.
- Yamamoto, Y., Usui, F., Nakamura, Y., Ito, Y., Tagami, T., Nirasawa, K., Matsubara, Y., Ono, T., Kagami, H. (2007): A novel method to isolate primordial germ cells and its use for the generation of germline chimeras in chicken. *Biology of Reproduction* 77: 115-119.
- Yasuda, Y., Tajima, A., Fujimoto, T., Kuwana, T. (1992): A method to obtain avian germ-line chimaeras using isolated primordial germ cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 6: 521-528.
- Yoshizaki, G., Ichikawa, M., Hayashi, M., Iwasaki, Y., Miwa, M., Shikina, S., Okutsu, T. (2010): Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. *Development (Cambridge, England)* 137: 1227-1230.
- Zhao, D. F., Kuwana, T. (2003): Purification of avian circulating primordial germ cells by nycodenz density gradient centrifugation. *British Poultry Science* 44: 30-35.

## Fajtavédelem és génmegőrzés molekuláris genetikai markerekkel

PÁLINKÁS-BODZSÁR NÓRA – HIDAS ANDRÁS





## Molekuláris genetikai markerek és detektálásuk

Populációgenetikai szempontból több és megbízhatóbb információt nyújtanak a *repetitív szekvenciájú DNS motívumok*. Elhelyezkedésük alapján két nagy csoportba sorolhatók, az egyikben az ismétlődések folyamatos sorozatot alkotnak, míg a másik esetben elszórtan fordulnak elő a genomban.

Markerként a tandemismétlődések használata terjedt el, melyek a *VNTR* (Variable Number of Tandem Repeats = változó számú tandemismétlődések) markerek elnevezést kapták. Egységeik sorozatának hossza és az egységek mérete alapján három csoportba osztották: midi-, mini- és mikroszatellitek (*Mariat és munkatársai, 1992*).

Legnagyobb jelentőségű az 1–4 bázispár hosszú ismétlődések sorozata, a mikroszatellit marker (SSR = Short Sequence Repeat). A mikroszatelliteket határoló DNS-szekvenciák konzervatívak. Ennek ismeretében azokat PCR-rel amplifikálni és gélelektroforézissel detektálni lehet. A módszerrel a különböző hosszúságú fragmentumok alapján az eltérő ismétlődésszámot tudjuk kimutatni (*Weber és May, 1989*). Előnye, hogy kodomináns, azaz egy lókuszon a heterozigócia is detektálható, illetve a populációkban több allél is előfordulhat. A különböző allélok, a megismételt egységek eltérő számából jönnek létre, a mutációs rátát 10<sup>-4</sup> és 5×10<sup>-6</sup>-ra becsülik (*Edwards és munkatársai, 1991*). A mikroszatellitek könnyen izolálhatók, ezért azonosításuk viszonylag egyszerű, a vizsgálandó anyaggal szembeni követelmények nem szigorúak, kis mennyiségű vérből, szövetből izolált DNS szükséges hozzá. Hátránya, hogy a szekvencia előzetes ismerete szükséges a genom mikroszatelliteket hordozó fragmentjeiről, azonban megfelelő primer kombinációk használatával egy PCR-reakcióban több mikroszatellit marker is amplifikálható, mely munka- és költséghatékonyra teszi a vizsgálatot.

A mitokondrium a citoplazmában található sejtszervecske, a sejt „energiagyárának” fogható fel. Egy kör alakú kromoszómája van, ez a mitokondriális DNS (mtDNS). Sejt típusonként eltérő számú mitokondrium található, ezek genetikai állománya eltérő lehet.

Az állati mtDNS kb. 16 000 nukleotidból áll, fehérjét 37 gén kódolja. Nem kódoló része az ún. kontroll régió, melyet D-loop szakasznak is neveznek. Mivel ez a rész nem kódol fehérjét, kis szelekciós nyomás alatt van, ezért képes az új nukleotid variációkat megőrizni, ezáltal a polimorfizmus mértéke lényegesen nagyobb (hipervariábilis), mint a kódoló régióban. Emiatt, és mert a mitokondrium kisebb mértékű DNS-javító mechanizmussal rendelkezik, a D-loop régióknak kb. tízszer nagyobb a mutációs rátája, mint a sejtmagi DNS-nek, melynek eredményeképpen jöhetnek létre a különböző variációk az egyébként azonos anyai vonalakból. Kizárólag anyai ágon öröklődik és nem rekombinálódik (*Hayashi és munkatársai, 1985*).

A szekvenciaszintű változatosság legegyszerűbb esete a pontmutáció vagy SNP (Single Nucleotide Polymorphism), melyek mennyiségüket tekintve a géntérképezéshez, betegségek vizsgálatához, illetve származásellenőrzéshez a markerek kimeríthetetlen tárházát képezhetik. Vizsgálatukra számos csúcstechnológiájú metodika létezik, ehhez azonban az adott változat és szekvencia környezetének pontos ismerete szükséges (*Kwok és Chen, 2003*). Rendszerük biallélos, azaz egy populációban általában csak két allél van jelen, tehát az információtartalom SNP-markereként kevesebb, mint a mikroszatellit markereknél. Öt SNP információtartalma felel meg egy mikroszatellitének, vagyis egy genetikai térképen lévő specifikus SNP-k számának nagyobbak kell lenniük, mint a legsűrűbb, ma elérhető mikroszatellit-térkép. Ezért a nagy

teljesítményű technológiákhoz nagyszámú SNP meghatározására van szükség (*Beuzen és munkatársai, 2000*). Széles körű alkalmazásuk éppen nagy sűrűségükben rejlik, illetve, ha megfelelő mennyiségben detektáljuk őket, sokkal informatívabb markereket nyújtanak egy-egy lókuszon, mint a mikroszatellitek (*Landegren és munkatársai, 1998*). Vannak SNP-k, melyek a kódoló régióban helyezkednek el, így közvetlenül hathatnak bizonyos fehérjék működésére, tehát felelősek lehetnek a fontos tulajdonságokban előforduló variációkért. Öröklődés szempontjából a pontmutációk sokkal stabilabbak, ami alkalmassá teszi azokat hosszú távú markerszelekcióra is. Számos módszer létezik azonosításukra, melyek közül említésre méltóak a hagyományos, géll alapú megközelítések, mint például a szekvenálás, PCR, restrikciós emésztés és a gélelektroforézis egyéb formái (*Parsons és Heflich, 1997*). Mivel az SNP a legmegfelelőbb alap a nagy teljesítményű genetikai analízisek elvégzésére, hamar elterjedt a DNS microarray (SNP-chip) használata, mellyel egyszerre nagy mennyiségű pontmutáció elemezhető egy időben.

### Markervizsgálatok tervezése

A markervizsgálatokkal kapcsolatos munka tervezésénél figyelembe kell vennünk, hogy milyen jellegű információra van szükségünk a vizsgálni kívánt mintákat illetően, illetve, hogy a későbbiekben mire szeretnénk felhasználni azokat. Mivel a génbankok tárolókapacitása korlátozott, nem mindegy, hogy milyen és mennyi mintát tárolunk. Ebben segíthetnek a molekuláris genetikai markerek. Egyértelmű, hogy minél több mintát vizsgálunk minél több markerrel, annál tisztább képet kapunk az adott populációról. Azonban a gyakorlatban ez eléggé korlátozott, így az egyébként is költséges markervizsgálatoknál kénytelenek vagyunk meghatározni azt a minta- és markerszámot, mellyel megbízható, pontos eredményekre számíthatunk reális keretek között. Ma már tudjuk, hogy inkább a markerek, mint a minták számának növelésével érhetünk el jobb eredményt információtartalom terén (*Beuzen és munkatársai, 2000*).

## Markervizsgálatok eredményeinek értékelése és a nyújtott információk

### Mitokondriális DNS

Különösen a hipervariábilis D-loop régió vizsgálatának értékelésekor meghatározhatjuk a genetikai diverzitást leíró statisztikai adatokat, mint a hasító helyek (*S*) és haplotípusok (*Ht*) számát, haplotípus (*Hd*) és nukleotid ( $\pi$ ) diverzitást. Az előzőleg detektált, a mintákban előforduló haplotípusok kapcsolatának vizsgálatára az egyik legelterjedtebb módszer a „median-joining” hálózat (Network 4.1.1.2 szoftver; *Bandelt és munkatársai, 1999*), ami kifejezetten alkalmas az egymástól viszonylag kis genetikai távolságra lévő egyedek, haplotípusok összehasonlítására. A vizsgálathoz célszerű az egyes haplocsoportokat jól reprezentáló referencia-szekvenciákkal összevetni sajátjainkat. Érdekes az NCBI génbankban (*Altschul és munkatársai, 1990*, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) található összes, valamely haplotípushoz annotált D-loop szekvenciát letölteni, ahhoz hasonlítani, és ennek alapján haplocsoportokba sorolni a vizsgált állományunkban azonosított haplotípusokat. Mivel a mitokondriális DNS öröklődése maternális és klonális, az egyes haplocsoportok földrajzi elhelyezkedése egyben a házasítási centrumokat is megjelöli.

## Mikroszatellit markerek

A mikroszatellit vizsgálatok viszonylag egyszerűen oszlanak el a genomon, ami igen jó lehetőséget nyújt a géntérképezéshez, a nagy variabilitást pedig hasznosítani lehet egyedi, illetve fajtaazonosításban és genetikai összehasonlításokban is.

A mikroszatellit markerek információtartalmát, vagyis azt, hogy mennyire informatív egy lokusz, PIC (Polymorphic Information Content) értékek jelzik. A PIC értéke függ a detektálható allélok számától, azok gyakoriságának eloszlásától, és számol a különböző markerek esetleges kapcsoltságával is. *Botstein (1980)* leírása alapján egy marker nagyon informatív, ha  $PIC > 0,50$ ; meglehetősen informatív, ha  $0,25 < PIC < 0,50$  és kevésbé informatív, ha  $PIC < 0,25$ . A PIC értékeket képlettel is meghatározhatjuk, de ma már vannak olyan statisztikai programok, melyek pillanatok alatt számos egyéb mutatóval egyetemben megteszik ezt helyettünk (pl. Microsatellit Toolkit program).

A mikroszatellit markerek alapján végzett diverzitásvizsgálatok megbízható információt nyújtanak a tyúkállományokon belüli és azok közötti genetikai variabilitásról, rokonságokról, különbségekről (*Zhou és Lamont, 1999; Romanov és Weigend, 2001*). A populáción belüli genetikai variancia különösen fontos szerepet játszik a domesztikált haszonállatfajtákban, melyeket hosszú időn keresztül együtt tartottak (*Caballero és Toro, 2002*). Populáción belüli genetikai diverzitás mérése céljából például a Microsatellite Toolkit program (*Park, 2001*) segítségével meghatározhatjuk az allélfrekvenciákat, az allélszámok átlagát (MNA), a várt ( $H_E$ ) és tényleges ( $H_O$ ) heterozigotizációt. A várt ( $H_E$ ) és tényleges ( $H_O$ ) heterozigotizációs-értékek nemcsak állományokra, hanem lokuszokra is kiszámolhatóak, mellyel információt nyerhetünk azok heterogenitásáról. Természetesen nemcsak ez a program használható ilyen célra, hanem bármely, forgalomban lévő, erre alkalmas szoftver.

A genetikai diverzitásvizsgálatok informálhatnak minket arról is, hogy mely fajták érdemeket gémegőrzésre. Általában ilyen jellegű adatokat a genetikai távolságok meghatározásával nyerhetünk (*Nei, 1972; Reynolds és munkatársai, 1983*). A populációk közötti rokonság alapján (*Eding és Meuwissen, 2001*) készíthetünk olyan statisztikákat, melyek közvetlenül a genetikai varianciához kapcsolódnak. Ha az egyedeket genotípusuk szerint populációkba soroljuk (*Pritchard és munkatársai, 2000*), meg tudjuk határozni a fajták közötti genetikai kapcsolatokat előzetes feltételezés nélkül, vagyis anélkül, hogy bármit is tudnánk azok kialakulásáról vagy arról, hogy az egyes egyedek mely fajtaéhoz tartoznak.

Az F statisztika értékei  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$  és  $F_{IS}$ , fixációs indexekből állnak, melyekkel megbecsülhető a strukturált populációk differenciáltsága. Az  $F_{IT}$  a teljes állományra vonatkozó változatosság, az  $F_{ST}$  az állományok közötti változatosság, az  $F_{IS}$  pedig a populáción belüli, egyedek közötti változatosság, amit beltenyésztettségi koefficiensként is emlegetnek. Az értékekkel a heterozigóta-vesztés meghatározható meg (*Hartl és Clark, 1989*). Az  $F_{ST}$  a szubpopulációk genetikai differenciáltságát tekinthető. Ha értéke 0,05-nél kevesebb, a differenciáltságot csekély mértékűnek ítélni lehet, 0,05–0,15 között enyhe, 0,15–0,25 közé eső értékek nagymértékű, végül a 0,25 feletti  $F_{ST}$  értékek igen nagymértékű izolációra, fajon belüli fragmentálódásra utalnak (*Wright, 1978*). Az  $F_{IT}$  és  $F_{IS}$  értékek alkalmasak a Hardy-Weinberg Egyensúlytól (HWE) való eltérés meghatározására a szubpopuláción és teljes állományon belül. Amennyiben pozitív értéket kapunk, akkor az a heterozigóta egyedek hiányára, ha negatív értéket, a heterozigóták

többségére utal (*Hedrick, 2000*). A lokuszokra és populációkra vonatkozó fixációs indexek ( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ,  $F_{IS}$ ) (*Weir és Cockerham, 1984*), valamint azok szórásai és a szignifikancia szintjei az FSTAT szoftver (*Goudet, 2001*) használatával kiszámolhatók.

Az  $F_{ST}$  páronkénti számítása nem egyezik meg a szimpla fixációs indexek  $F_{ST}$  értékével, az előbbi értékállományok összehasonlítására alkalmas, és a *Reynolds (1983)*-féle genetikai távolság számításának alapja, melyet az alábbi képlettel határozhatunk meg:  $D_R = -\ln(1 - F_{ST})$ . A genetikai távolságoknak ezen kívül létezik más számítási módja is, mint például a *Nei-féle (1972)*.

Az adatok szemléletessé tétele céljából általában valamilyen filogenetikai törzsfát, dendrogramot készítünk. Számos program létezik erre a célra, a legalapvetőbb és legegyszerűbb a PHYLIP program (*Felsenstein, 1993*) használata. Ugyanazokat az adatokat több programba is beilleszthetjük, de nagy körültekintéssel kell az opciókat beállítani az egyes szoftvereken, mert általában nem lesz ugyanolyan két törzsfá különböző programokkal. Nyilván, nagyon eltérőek sem lehetnek, ha mégis, akkor rossz volt a kiinduló beállításunk. Ha más jellegű adatokból (pl. SNP) szintén dendrogramot állítunk fel, célszerű ugyanazt a programot használnunk az összehasonlíthatóság érdekében.

A klaszteranalízis az egyik legalaposabb, mikroszatellitalkon alapuló módszer (STRUCTURE szoftverrel, *Pritchard és munkatársai, 2000*), mellyel osztályozhatjuk, illetve csoportokba sorolhatjuk mintáinkat. Az analízis lényege, hogy az egyedek allélmintázatait hasonlíttja össze, páronként 50 000 iterációban, és a genotípusokat azonos, illetve különböző csoportokba sorolja mindenféle előfeltételezés nélkül, hiszen a program futtatásakor nem mi állítjuk be, hogy mely egyed mely fajtaéhoz tartozik. Éppen arra vagyunk kíváncsiak, hogy az egy fajtaéhoz tartozó egyedek vajon egy vagy külön csoportba kerülnek-e allélmintázataik alapján. Ehhez a Markov Chain Monte Carlo (MCMC) módszert alkalmazza a program, amely olyan Markov-láncot (valószínűségi változók sorozata, melyek minden tagjának valószínűsége csak az előtte lévőttől függ) generál, amely konvergál a kívánt eloszláshoz. A konvergenciát gyorsítja, ha a kezdő állapot valószínűsége a kívánt eloszlásban nagy, így egy ún. burn-in fázis után vesszük a mintákat. A K-értékek jelentik a csoportok számát, melyeket mi határozunk meg, általában annyi a csoportok száma, amennyi csoportba kívánjuk sorolni a mintákat. Minden egyes K-értéknél érdemes 100 futást indítani, vagyis az egyedek csoportokba sorolását 100-féleképpen végzi el a program, majd páronként összevetni hasonlósági indexeik alapján a SIMCOEFF program segítségével (*Rosenberg és munkatársai, 2002*). Azok a futások, melyek hasonlósági indexe 0,95 felett van, azonosnak tekinthetők. Például, ha 100 futás páronkénti összehasonlításából 75 azonosnak tekinthető, akkor a 100-féle csoportosításból 75 alkalommal fordult elő ugyanaz a megoldás, ez a leggyakrabban előforduló megoldás. Ezt minden egyes K-értéknél, tehát egyedek általunk megadott számú csoportba sorolásánál elvégezzük. Ahhoz, hogy azt meghatározzuk, melyik a legvalószínűbb csoportosítás (K-érték), az EVANNO módszer alkalmazható, mely a STRUCTURE által generált valószínűségi értékeken alapuló delta K-érték számítását jelenti (*Evanno és munkatársai, 2005*). Minden egyes K-értéknél a leggyakrabban előforduló megoldást a DISTRUCT szoftver segítségével ábrázoljuk, mint ahogy az EVANNO módszerrel számolt legvalószínűbb csoportosítást is kiemeljük az összes K-értékből, amit elvégeztettünk a programmal (*Rosenberg, 2004*).

## SNP-markerek

Az SNP-analízis egy nagyon egyszerű formája, mikor egyszerű szekvenálást követően a kapott szekvenciákat illesztjük, és úgy határozzuk meg az SNP-eket. Ezt követően ugyanúgy, akár a mikroszatelliteknél (csak más szoftverekkel) meg lehet határozni a lókuszonkénti allélgyakoriságokat, az állományokra vonatkozó alap diverzitásértékeket, így a várt ( $H_E$ ) és tényleges ( $H_O$ ) heterozigotitást, valamint a populáción belüli beltenyésztettségi koefficiens ( $F_{IS}$ ). A populációk differenciáltsága a Wright-féle fixációs indexekkel jellemezhető (GDA szoftver; *Lewis és Zaykin, 2001*). A populációk közötti Reynolds-féle genetikai távolságokat ( $D_R$ ) a számítást követően szintén lehet dendrogram formájában szemléltetni.

Az SNP-eredmények egy sokkal kiterjedtebb, és bonyolultabb értékelési formája, mikor egy SNP-chip adatait dolgozzuk föl, de egy részgenom szekvenálásból is kb. 100 GB anyagot kapunk, és akkor a teljes genom szekvenálásról még nem is beszéltünk. A ma legkorszerűbb módszerekkel történő SNP-detektálás során olyan mennyiségű információt nyerhetünk, melynek teljes körű értékelése, elemzése különösen nagy szakértelmet, gyakorlatot és jártasságot igényel, ami általában tanfolyamokon sajátítható el.

### Az eredmények felhasználása markertípusok szerint

A mikroszatellit a származásellenőrzésben ma még a legnépszerűbb markerrendszer. Széles skálán ad lehetőséget a diverzitásvizsgálatokra. Érzékeny a palacknyak hatásra, az állományok méretének átmeneti csökkenése esetén (akár csak a kakasok számában) jelentősen változhatnak az ezen alapuló paraméterek. Különösen kisebb állományoknál akár egy generáció váltásával jelentősen módosulhatnak az allélgyakoriságok, és akár ritka allélek tűnhetnek el. Az olyan állományok, amelyek gyakran ki vannak téve ilyen hatásoknak, látszólag nagyon messze sodródhatnak attól a génkészlettől, ahová eredetileg tartoztak. A mikroszatellit-vizsgálatok sok generációs távolságban az állományok eredetének kimutatására ezért kevésbé alkalmasak.

A mitokondriális DNS (mtDNS) nagyon konzervatív marker. Mivel csak anyai ágon öröklődik és nincs rekombinációnak kitéve, ezért az itt található allélek (haplotípusok) nagyon sokáig megmaradnak és jelzik eredetüket. Mivel ez sejtmagon kívüli DNS-állomány, fennmaradhat úgy is, hogy a mag DNS információtartalma már teljesen eltávolodott attól, amely genotípus hordozta az adott mitokondriális haplotípust. Természetesen a vizsgált állományban jelenlévő haplotípusok jellege és száma utalhat a heterogén származásra, egyben tükrözheti valamelyest indirekt módon az állomány diverzitási szintjét, mivel a beltenyésztésnek és a palacknyak hatásoknak hasonlóképpen ki van téve, mint a nukleáris génkészlet.

Az Y kromoszómán a pszeudoautoszomális régió kívül elhelyezkedő mikroszatellit markerek a mtDNS-hez hasonlóan nincsenek kitéve rekombinációnak, ezért az apai ágon öröklődve nagyon sok generáción át kimutatható az egykori hímivarú ős. Változatossága, annak értékelése hasonló lehet, mint a mtDNS-é. A madarak esetében nincs hímivarhoz kötött marker, mivel a nőivar a heterogamétás, tehát a nőivar hordoz olyan ivari kromoszómát, amelynek jelentős része nem rekombinálódó markereket tartalmazhat. A W kromoszóma esetleges markerei azonban nem biztos, hogy többletinformációt hordoznak a mtDNS-hez képest, mivel attól nem válik el az öröklődésük.

Az SNP-k száma jóval nagyobb, akár milliós nagyságrendű is lehet a genomban, ezért roppant nagy felbontású diverzitásvizsgálatot tesz lehetővé. Elvileg a teljes genomot érintő legkisebb eltérések is kimutathatók, amennyiben az újraszekvenálást választjuk. Az SNP-k használatának terjedésével egy különleges lehetőség válik elérhetővé, és új szintre emeli a diverzitásvizsgálatokat. Változatosságuk funkcionális diverzitást is hordozhat, mivel egy részük génekben fordulhat elő, akár működésváltozással. Ezek vizsgálata még izgalmasabb lehet.

A mikroszatellit, mtDNS és SNP-markerek által szolgáltatott eredmények nem túl kiterjedt vizsgálatokban viszonylag jól egybe esnek.

### Az eredmények felhasználása a génmegőrzésben

A markerek alapján feltárt kép az állomány vizsgálatára önmagában is alkalmas, azonban elsősorban más állományokkal való összehasonlításban nyújt megfelelő információt, ami a vizsgálatok fő célja. A génmegőrzés egyik fő kérdése, hogy az erőforrások hatékony használatával minél nagyobb diverzitást tartsuk fenn faj szinten. A maximalista megközelítés az, hogy minden, akár csak tenyésztéstörténetileg elkülöníthető állományt őrizzünk meg. Olykor azonban még az is dilemmát okoz, hogy mikortól beszélhetünk, illetve indokolt beszélni állományról. Szándékosan nem fajta kifejezést használunk, inkább állományt, hiszen a génmegőrzés, így a markervizsgálat sem csak a klasszikus értelemben vett fajtákra vonatkozik, vonatkozhat. Ilyenek lehetnek pl. fajtaként ismert, de inkább földrajzilag körülírható populációk, amelyekben különösebben tudatos tenyésztés nem zajlott sem a küllem egységesítésére, sem a termelési célokra.

Az állományok génmegőrzési szempontból értékelhető egyik fő paramétere a genetikai távolság, illetve annak fordítottja, a genetikai azonosság mértéke. Ez nyilván több állomány összehasonlításában értelmezhető. Az adott fajban a genetikai diverzitás legmagasabb fokának fenntartásához ilyen szempontból azok az állományok lehetnek különösen értékesek, amelyeknek a többi állományhoz mért átlagos távolsága a legnagyobb. Ha megvizsgáljuk, hogy a genetikai távolságok háttérben milyen konkrét tényezők játszanak szerepet, akkor ezt tovább is gondolhatjuk. A genetikai különbségek oka lehet részben a különböző allélváltozatok eltérő összetétele (egyáltalán milyen változatok lelhetők fel az egyes állományokban) és azok gyakoriságában található eltérés.

Így a következő értékelési pont lehet a fajban ritkábban vagy másutt nem előforduló (unikális) allélek és azok száma egy állományban.

### Unikális allélek

Bármilyen mélységű markervizsgálatot végzünk a védelemre szoruló állományok minél részletesebb megismerésére, mindig nehéz a döntés, ha ki kell választani értékesebb vagy kevésbé értékes állományokat. Például a ma hivatalosan egy fajtának tekintett állományok, melyeket pár évtizede egymástól függetlenül őriznek, jól elkülöníthetők genetikailag annak ellenére, hogy közös az eredetük, vagy éppen részleges állománycsere is történt közöttük. Nehéz lenne eldönteni, melyik a védendőbb. Még ha az egyik állomány diverzitása magasabb fokú is, nem



tudhatjuk, hogy a másik, csak rá jellemző genetikai változatok nem lennének-e értékesebbek, egyedülállóbbak. Így a genom egészére vizsgált genetikai egyediség és távolságok nem okvetlenül tükrözik az igazán érdekes, funkcionálisan egyedi sajátosságokat. Előfordulhat, hogy egy állomány esetleg nem mutat általánosságban jelentős eltérést a rokon állományoktól, mégis hordozhat akár egyetlen mutációt, géntváltozatot, amitől minden másnál értékesebb lehet.

Az állományok genetikai értékét növelheti, hogy önmagukban mekkora diverzitást hordoznak. Ez arra utalhat, hogy az állomány története során nem vagy régen szenvedett el palacknyak hatást, azaz ritkán csappant meg a létszáma veszélyes módon. Ebből arra következtethetünk, hogy önmagában, a vizsgálatainkban megfigyelt mértéken túlmenően is jelentős genetikai gazdagságot hordoz.

### **Markereken alapuló génmegőrzés állományon belül**

A generációváltás során génmegőrzésre irányuló tenyésztés célja, hogy az új állományban ne csökkenjen a genetikai sokféleség, ne legyen allélvesztés. Ennek feltétele a megfelelő populációméret és ezen belül az utódgenerációk létrehozásában ténylegesen közreműködő, megfelelő effektív populációméret. Ideális esetben a populációt alkotó minden egyed részt vesz az utódok létrehozásában, azaz minden hím és nőivarú tenyészállatot szaporítanunk kell. A szaporítás időszakában ez 1:1 ivararány fenntartását feltételezi. Baromfifélek génmegőrzésében nehézséget jelent nagyszámú kakas tartása. Az 1:1 ivararány fenntartása és az, hogy minden egyednek legyen utódja, megkövetelné az egyedi tartást és a mesterséges termékenyítést. Az ideálshoz közelítő (minimális) populációméret mellett meg kell határoznunk, hogy egy kakas egy tojó párosítással vagy kakascserével, több párosítással hozunk létre utódokat. Az is megfontolandó, hogy hány utódot hozunk létre. Mivel egy utódba az anya és az apa genetikai állománya felét örökíti, gyakorlatilag egyik generációról a másikra megfelelően a génkészlet. Ez azonban nem jelenti automatikusan, hogy allélvesztés következik be a populáció szintjén, mivel az egyedek összessége megfelelő létszám esetén együttesen reprezentálhatja szülei génkészletét az utódokban. Bizonyos egyedlétszám alatt azonban hatványozottan nő a génerózió veszélye. Statisztikai valószínűség alapján meglehetősen nagy állományra van szükség még 1:1 ivararány esetén is a génvesztés elkerüléséhez, ezért molekuláris markerekkel kísérhetjük meg követni a különböző markerváltozatok és azok genomi környezetének átadását. Itt sincsen sokkal könnyebb dolgunk, mert ha viszonylag jelentős részét le akarnánk fedni a genomnak, elég nagy markerszámmal kellene dolgoznunk, és még akkor is fennáll a rekombináció lehetősége, ezért a markerek használatával csak szűk kromoszómális régió átadását (átörökítését) tudjuk követni. A ritka allélek követésével és átörökítésének biztosításával a figyelt ritka alléleket és szűkebb környezetüket tudjuk megfigyelni. Tapasztalataink alapján, ahogy növeljük a markerek számát a vizsgálatainkban, úgy szaporodnak az állományon belül azok az egyedek, amelyek ritka alléleket hordoznak. Elméletileg tehát minden egyed hordozhat a fajon és állományon belül is ritka alléleket. Megállapítható, hogy a 20–30 markeren alapuló diverzitásvizsgálat megbízható eredményt ad, azonban a ritka változatok esetében ez csak a jéghegy csúcsát jelenti. Kutatási terveinkben szerepel korábbi diverzitásvizsgálataink megismétlése számos generáció elteltével baromfiállományainkon, ami bizonyára tanulságos lesz, az eredménytől függetlenül.

A ritka allélek előfordulása állományon belül vagy családokban felvethet olyan kérdéseket is, hogy ezek az eredendő genetikai gazdagság lenyomatai, vagy egy újabb keletű „génbehatalás” eredményei egy esetleges fajtaidegen egyed bekerülésével? Zárt tenyésztésben tartott génbanki állományoknál ez kevésbé valószínű a tenyésztési fegyelem miatt, de ha mégis előfordul, az gyorsan „szétkenődik” az állományban, ezért családokban való halmozódása több generációt követően már nem mutatható ki.

### **Vérfrissítés és diverzitásvizsgálat**

A genetikai távolságok és azonosságok megállapítására szolgáló markerkutatások egyik fontos területe mind a természetvédelemben, mind a génbanki munkában az, hogy megállapítsuk a génerózió által sújtott állományokról, mely egyéb állományokkal állhatnak közeli rokonságban. Ilyen vizsgálatok segítségével a veszélyeztetett állományok diverzitását gazdagíthatjuk, és orvosolhatjuk az esetlegesen előforduló beltenyésztéses leromlást. A kapott eredmények értelmezésében itt sem könnyű a helyzetünk. Ha genetikai azonosságot találunk két populáció között, akkor a vérfrissítés eredményessége megkérdőjelezhető. Valójában azonban ennek valószínűsége kicsi, és csak akkor fordulhat elő, ha a két állomány folyamatos kapcsolatban van egymással. Ha a két populáció között nincs kapcsolat, hamar elkülönülnek. Ebben az esetben azonban a kérdés úgy merül fel, hogy mekkora genetikai távolság engedhető meg a két állomány között vérfrissítés szándéka esetén? Elméletileg minden olyan párosítás, ahol a szülők legalább egy lókuszon eltérő alléleket hordoznak, keresztezésnek minősül. Ez alapján a legkisebb genetikai különbségek esetén is keresztezésről beszélhetünk. A valóságban természetesen nem lehetünk ilyen szigorúak, mégis látni kell, hogy egy fajtához tartozó különböző vonalak párosítása olykor drámai hatásokat eredményez. Kezelhető számú markerekkel megállapított azonosság, rokonság tehát nem feltétlenül mutatja a vérfrissítés következményeit, kockázatait, ami akkor is fennállna, ha végtelen számú markert vizsgálnánk, hiszen azok kombinálódására, kölcsönhatásaira nem tudunk prognózisokat felállítani. Ez ahhoz a helyzethez hasonlít, mikor heteróztenyésztésben megpróbáljuk annak eredményességét prognosztizálni genetikai távolságok alapján. Arra derült fény, hogy a meghatározott genetikai távolság semmilyen összefüggésben nincs a ténylegesen megfigyelt heterózis mértékével.

### **Eredetbiztosítás**

Génbanki állományok gazdasági hasznosítása esetén genetikai sajátosságaikból és környezeti igényeikből fakadóan prémium termékek állíthatók elő, amelyek felvetik annak az igényét, hogy a termék eredete, fajtaazonossága ellenőrizhető legyen. Génbanki baromfi- és egyéb állományok esetében, ahol egy tenyésztési populáció van, melyen belül sem eredetében, sem történetében nem alakultak ki stabil családok, az állomány egyedei folyamatosan azonos valószínűséggel kerülhetnek párosításra az állomány bármely részével, vagy ha olyan tenyésztési rotációt alkalmazunk, amely biztosítja az egyedek kapcsolatát az állomány egészén belül, jobb lehetőségeink vannak a termékek eredetvizsgálatára. Könnyebben találunk olyan markereket, amelyek jellemzőek az adott állományra (az egyedek többsége hordozza, mégpedig homozigóta formában), és más, hasonló jellegű fajtákban nem jellemző (hiányzik vagy nem ennyire elter-

jedt) vagy éppen ellenkezőleg, hiányoznak belőle bizonyos markerek. A vizsgálatok azt mutatják, hogy ilyen markerek könnyen találhatóak. 2–3 jól megválasztott marker együttes vizsgálata alapján két állomány már elkülöníthető lehet. Ha pedig 100%-os bizonyosságra törekszünk, szóba jöhet tipikus markerekre fixált alállomány kialakítása kifejezetten termék-előállítás céljára. Mivel azonban a termékek eredetvizsgálata során ritkán merül fel egyetlen minta vizsgálatának szükségessége, és inkább a nagyobb árutételek vizsgálata a jellemző, nem indokolt az egyedi minták azonosíthatóságának kialakítása.

## Irodalomjegyzék

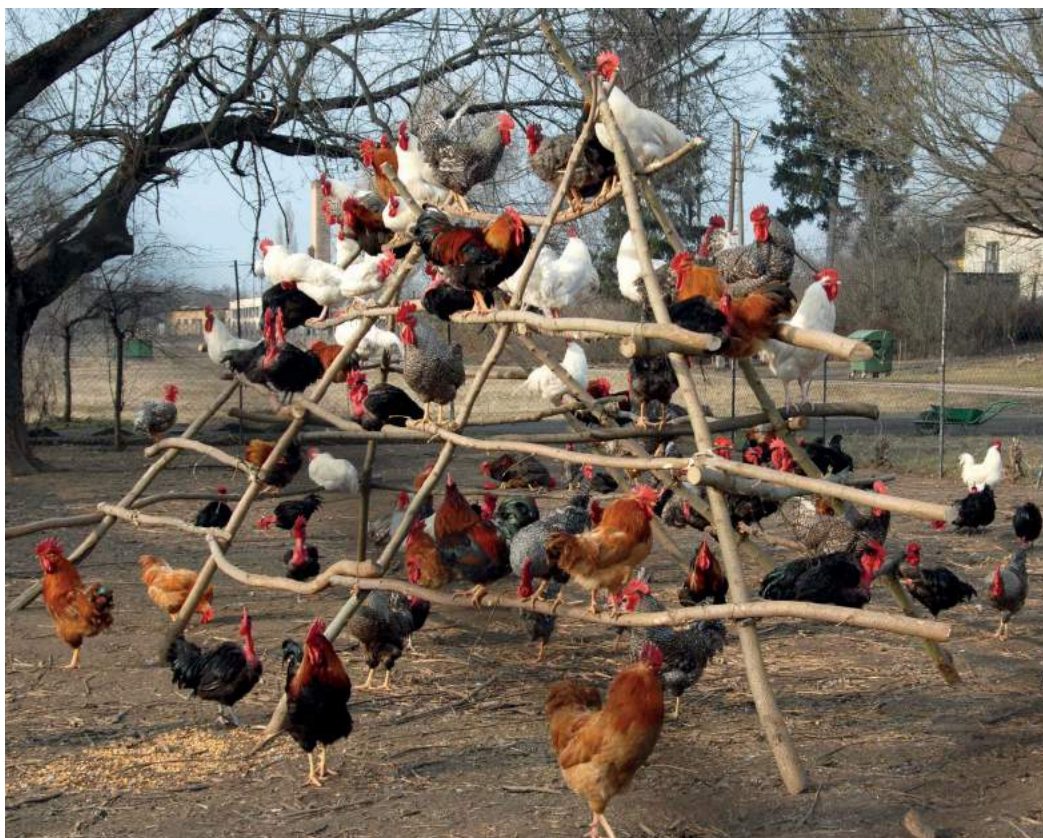
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. (1990): Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215(3): 403-410.
- Bandelt, H. J., Forster, P., Röhl, A. (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1): 37-48.
- Beuzen, N. D., Stear, M. J., Chang, K. C. (2000): Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal* 160: 42-52.
- Botstein, B., White, R. L., Skoknick, M., Davis, R. W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32(3): 314-331.
- Caballero, A., Toro, M. A. (2002): Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conservation Genetics* 3(3): 289-299.
- Eding, H., Meuwissen, T. H. E. (2001): Marker-based estimate of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 118(3): 141-159.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H. A., Caskey, C. T. (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal of Human Genetics* 49(4): 746-756.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14(8): 2611-2620.
- Felsenstein, J. (1993): PHYLIP (Phylogeny Inference Package), version 3.5c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle, USA
- Goudet, J. (2001): FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- Hartl, D. L., Clark, A. G. (1989): Principles of population genetics. 2nd edition, Sinauer Associates, Sunderland, MA
- Hayashi, J., Tagashira, Y., Yoshida, M. C. (1985): Absence of extensive recombination between inter- and intraspecies mitochondrial DNA in mammalian cells. *Experimental Cell Research* 160(2): 387-395.
- Hedrick, P.W. (2000): Genetics of populations. 2nd edition, Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts
- Kwok, P. Y., Chen, X. (2003): Detection of single nucleotide polymorphisms. *Current Issues in Molecular Biology* 5(2): 43-60.
- Landegren, U., Nilsson, M., Kwok, P. Y. (1998): Reading bits of genetic information: Methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research* 8(8): 769-776.
- Lewis, P. O., Zaykin, D. (2001): Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c); <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>
- Mariat, D., Vergnaud, G. (1992): Detection of polymorphic loci in complex genomes with synthetic tandem repeats. *Genomics* 12(3): 454-458.
- Nei, M. (1972): Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106: 283-292.
- Park, S. D. E. (2001): Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection. PhD thesis, University of Dublin

- Parsons, B. L., Heflich, R. H. (1997): Genotypic selection methods for direct analysis of point mutations. *Mutation Research* 387(2): 97-121.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Reynolds, J., Weir, B. S., Cockerham, C. (1983): Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics Society of America* 105: 767-779.
- Romanov, M. N., Weigend, S. (2001): Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers. *Poultry Science* 80(8): 1057-1063.
- Rosenberg, N. A., Pritchard, J. K., Weber, J. L., Cann, H. M., Kidd, K. K., Zhivotovsky, L. A., Feldman, M. W. (2002): Genetic structure of human populations. *Science* 298: 2381-2385.
- Rosenberg, N. A. (2004): Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4: 137-138.
- Weber, J. L., May, P. E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics* 44(3): 388-396.
- Weir, B. S., Cockerham C. C. (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wright, S. (1978): *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 1. University of Chicago Press, Chicago, IL, USA
- Zhou, H. J., Lamont, S. J. (1999): Genetic characterization of biodiversity in highly inbred chicken lines by microsatellite markers. *Animal Genetics* 30(4): 256-264.

# Baromfifajtáink génbanki megőrzése

## Az *in vivo* baromfi génbankok kialakulása és a régi magyar baromfifajták

SZALAY ISTVÁN – BARTA ILDIKÓ – BÓDI LÁSZLÓ – EMÓDI ANDREA –  
THIEU NGOC LAN PHUONG – KISNÉ DO THI DONG XUAN – KOPPÁNY GÁBOR



## A baromfi-génmegőrzési programok kezdete és az *in vivo* génbankok kialakulása Magyarországon

A baromfiipar kialakulása, a tömegellátás igénye a többhasznú fajták helyett az egyoldalúan hús- vagy tojástermelő hibridek kitenyésztését hozta magával. A folyamatos termelés növelése érdekében hazánkban is a nagyhozamú külföldi hibridek kerültek előtérbe. Behozatalukkal rohamosan csökkent az őshonos vagy már meghonosodott gazdasági állatfajták száma, az 1960-as évek elejére a sárga magyar tyúkfajtán kívül nem maradt fenn régi nemesített tyúkokból nagyüzemi állomány. A fajták létszámának és tenyészetek számának csökkenése természetesen együtt járt génkészletük elszegényedésével.

A génmegőrzés érdekében a Mezőgazdasági és Élelmezésügyi Minisztérium 1973-ban határozatot hozott a házasított fajták génvesztés nélküli fenntartására, a génbankok megszerzésére. A génmegőrzési program megvalósítása érdekében az 1970-es évek második felében megkezdődött a magyar fajták ismételt felkutatása az ország területén. A fajták megőrzésére és felszaporítására tenyészközpontokat hoztak létre az Országos Takarmányozási és Állattenyésztési Felügyelőség (az akkori tenyésztő hatóság) gödöllői központi telepén és egy-egy fajta esetében más intézményekben.

A sárga magyar tyúkot (8. kép) – mely fajtatisztán rendelkezésre állt – eredeti rendeltetéssel hagyták Mosonmagyaróváron az egyetemi tangazdaságban, ahol a fajtát minden más sárga magyar állománytól függetlenül tenyésztették ki az 1950-es évek elején. A tenyésztés alapanyagául egy szigetközi vegyes állományt használtak (Biszkup és Beke, 1951). A sárga magyar tyúk génmegőrzésének történetéhez hozzátartozik, hogy a mosonmagyaróvári állományból Bodó Imre, Papp Miklós és Ludrovsky Ferenc közreműködésével több száz keltetőtojás került ki Kanadába, ahol Crawford professzor önálló tenyészetet hozott létre (Crawford, 1989). Az erősen sárga színre válogatott fajtaváltozat egy későbbi tenyészállomány alapjaként az óvári állománytól független, új sárga magyar génbank kialakításában játszott szerepet az 1970-es évek végén.

A kendermagos tyúk (9. kép) génbankját 1976 tavaszán, a Duna–Tisza közén talált fajtatiszta állományok keltetőtojásainak felvásárlásával és négy tenyészvonal elhelyezésével szerződéses alapon az Állatorvostudományi Egyetem akkori Hódmezővásárhelyi Tanüzemében vállalták. Fehér magyar tyúkállományt két makói kistenyésztőnél találtak 1978-ban. A két gazdától vásárolt tojások keltetése és az állatok felszaporítása után kialakított génbanki állományt 100-as csoportban Gödöllőn tartották fenn (Biszkup, 1986). A fogolyszínű magyar tyúk génbankját akkor nem sikerült kialakítani, és a fajta sokáig nem szerepelt az őshonosságuk miatt védett fajták között.

Az erdélyi kopasz nyakú tyúk több színváltozatát – hibás értelmezés szerint – akkor még a magyar tyúk kopasz nyakú változataként kezelték. Biszkup Ferenc (1986) leírja, hogy az erdélyi kopasz nyakú tyúk elnevezést arra a fekete erdélyi kopasz nyakú állományra alkalmazták, amelyet a konstanzei génbankból hoztak Gödöllőre 1976-ban (10. kép).

A kendermagos kopasz nyakú tyúkot fajtatisztán Sümegcsehin találták meg. Ebből a populációból 1978-ban vásároltak néhány egyed, melyek felszaporításával jött létre egy génbanki állomány. A kopasz nyakú fajta fehér változatának egyedei – Biszkup Ferenc szerint – a kendermagos kopasz nyakúak vérfrissítése következtében hasadtak ki. Az állomány 1982-re érte el a 100-as tojólétszámot Gödöllőn.





8. kép. Sárga magyar tyúk  
(Fotó: Somfai Sándor)



9. kép. Kendermagos magyar tyúk  
(Fotó: Somfai Sándor)



10. kép. Fekete erdélyi kopasz nyakú kakas  
(Fotó: Somfai Sándor)

Az 1980-as évek végén a gödöllői állomány tartását és megőrzését szerződés keretében dr. Szabolcs István tenyésztő vállalta debercsényi telepén, ahol a kendermagos kopasz nyakú fajta kivételével az addig fenntartott őshonos tyúkfajták megtalálhatók voltak. A kendermagos és kendermagos kopasz nyakú fajtákat Hódmezővásárhelyen Sófalvy Ferenc professzor irányításával, míg a sárga magyar fajtát Mosonmagyaróváron Iváncsics János professzor, a 2000-es évektől pedig Kovácsné Gaál Katalin professzor asszony irányításával tenyésztették tovább (lásd bővebben: *Kovácsné Gaál, 2004, Szabolcs, 2004, Sófalvy, 2005*).

Az 1990-es évek elejétől az őshonosként nyilvántartott magyar tyúkfajták mellett az erdélyi kopasz nyakú tyúk különböző színváltozatait már külön törzskönyvezték, szakítva azzal a káros gyakorlattal, mely a korábban magyar kopasz nyakú tyúkként kezelt állományok és a fedett nyakú magyar tyúkállományok keveredését eredményezte (*Szalay és munkatársai, 1992*).

A többi őshonos vagy honosult magyar baromfifajta génbanki állományainak a második világháborút követő kialakítása, a fenntartásukkal kapcsolatos, szervezett génmegőrzési tevékenység sajnos lényegesen elmaradt attól, amit a tyúkfaj esetében bemutatunk. A fodros tollú magyar lúd első génbanki állományát Kiss István professzor és munkatársai hozták létre a Debreceni Agrártudományi Egyetemen. A fehér színű állományt tiszántúli háztáji gazdaságokban gyűjtötték össze 1975-ben, majd 1979-ben találtak néhány kisebb dunántúli tenyészetet, ahonnan a fodros tollú magyar lúd tarka tollú, némileg nagyobb testű változatát is sikerült begyűjteniük (*Kiss I. és munkatársai, 1982*). Az állomány kialakításában szerepet játszott az az állomány is, amit Papp György az 1970-es évek elején székely falvakban gyűjtött (*Mihók, 2006a*). Debrecenben alakították ki a bronzpulyka (*11. kép*) és a fekete pulyka génbanki állományait is az 1980-as évek végén, több helyről gyűjtött tenyészegyekből (*Mihók, 2004*). Egy alig 50 egyedből álló rézpulykaállományt ellenőrzöttén Bugacon tartottak fenn.

Fenti tenyészetek mellett 1990-től az akkor újjáalakult gödöllői Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet (KÁTKI) vállalta valamennyi magyar tyúkfajta fenntartását dr. Szabolcs István debercsényi, valamint a kendermagos kopasz nyakú fajta esetében a hódmező-

vásárhelyi génbanki állományokból itt kialakított vonalakkal. A gödöllői sárga magyar állomány a Kanadából visszaszármazott fajtaváltozat és a mosonmagyaróvári sárga magyar állomány keresztezésével jött létre 1991–92-ben. A fogolyszínű magyar tyúkfajtát, mely a KÁTKI génbank kialakításakor már csak a szakirodalomban létezett, fogolyszínű magyar parlagi tyúkok gyűjtésével kezdtük a Tápió mentén az 1990-es évek végén, Fehér Sándor tenyésztőtársunk segítségével. A több éves szaporítási és génbanki tenyésztési munka eredményeként az állomány fogolyszínű magyar tyúk (*12. kép*) néven 2004-ben fajtaelismerést kapott (*Szalay, 2004*).

A Magyarországon honos pulykafajták fenntartó tenyésztését a Debreceni Egyetem mellett a KÁTKI végezte. Rézpulykaállományát a korábban Bugacon tenyésztett egyedek begyűjtésével alakította ki 1996–97-ben. Nagyonbrészt erre az állományra alapozva a rézpulyka fenntartása Debrecenben is elindult. A bronzpulyka génbankjának kialakítását a KÁTKI alföldi tanyákról származó állatok gyűjtésével kezdte ugyanabban az évben, a génbank kialakításához a debreceni tenyészetből származó, rézpulykáért cserélt kakasokat is felhasznált.

Magyarország az 1970-es években a gyöngytyúktenyésztés és -ártermelés terén Európa élvonalában szerepelt. A tenyésztés és a szaporítás központja a Hortobágyi Állami Gazdaság volt, a tenyészvonalakat Hortobágy környékén összegyűjtött kékesszürke gyöngytyúkállományokból nemesítették. Az 1980-as évektől a gyöngytyúk tenyésztése annyira visszaszorult, hogy az egykori tenyészet töredéke csak génbanki állományként maradt fenn. A KÁTKI az 1990-es évek elején kezdte gyöngytyúk génbanki programját. A hazánkban honos parlagi változatokat alföldi tanyákon, majd később a Vajdaságban, Lengyel László óbecsei tenyésztőtársunk segítségével gyűjtöttük össze (*13. kép*) (*Szalay, 2004, 2015*).

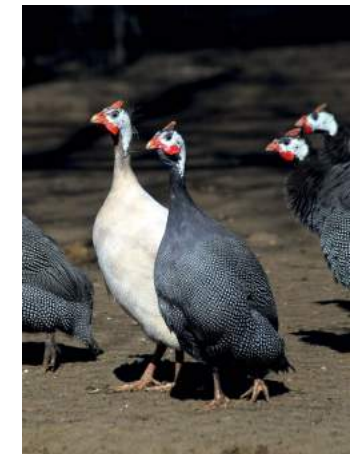
A fodros tollú magyar lúd tenyésztése Debrecenben tovább folyt, akkor már csak a fehér állományt sikerült megőrizni. Egy másik génbanki állományt Fehér Sándor tápiógyörgyei tenyésztő alakított ki a fodros tollú magyar lúd elsősorban tarka, Erdélyből behozott egyedeiből. Erre az állományra alapozva alakítottuk ki a KÁTKI fodros tollú magyar lúd génbankját 1998-ban. További gyűjtések eredményeként egy magyar parlagi lúdállományt is sikerült kialakítanunk, amely 2004-ben kapott fajtaelismerést magyar lúd néven (*14. kép*). A magyar lúd génbankját je-



11. kép. Rézpulyka kakasok  
(Fotó: Somfai Sándor)



12. kép. Fogolyszínű magyar kakas  
(Fotó: Somfai Sándor)



13. kép. Magyar parlagi gyöngytyúkok  
(Fotó: Somfai Sándor)

lenleg fehér, szürke és tarka színváltozatban tenyésztjük. A lúdhoz hasonlóan, azzal együtt hoztuk létre a magyar parlagi kacsa génbankját is Gödöllőn. Az elsősorban erdélyi gyűjtésből származó egyedekből kialakított fehér és tarka (vadas színű) kacsá tenyészállományok 2004-ben kaptak fajtaként állami elismerést (Szalay, 2004). A tarka magyar kacsá génbankját ezzel párhuzamosan dr. Kiss László szarvasi tenyésztő is létrehozta, dél-alföldi gyűjtésből. Jelenleg ezt az állományt is, a teljes gödöllői magyar baromfi génbank részeként, a KÁTKI jogutód intézménye, a gödöllői Használát-génmegőrzési Központ őrzi.



14. kép. Magyar parlagi ludak Küküllősárdon (Erdély, 2004) (Fotó: Szalay István)

Valamennyi utóbb említett tenyészet ma is működik, 1997-től a Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete (MGE) tenyésztő szervezeti irányításával. Az egyesületet a régi magyar baromfifajták tenyésztői az akkori Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet (KÁTKI, Gödöllő) közreműködésével alapították 1997-ben. A régi magyar baromfifajták elterjesztése és a fajtákkal előállítható termékek piacképessé tétele érdekében az MGE több fejlesztési program vezetőjeként vagy résztvevőjeként vizsgálta a régi fajtáink termék-előállításának lehetőségeit, és kidolgozta a HU-BA (Hungarikum baromfitermékek) programot (Szalay és Kovácsné Gaál, 2008). A régi fajták hasznosítása érdekében kezdeményezte a baromfi mintafalvak kialakítását Kárpát-medence szerte. Nemzetközi együttműködések keretében a HÁGK és az MGE közösen fejleszti a székelyföldi Géngyűrű programot és a délkelet-ázsiai génmegőrzési kutatásokat, melyekkel részletesebben „Az *in vivo* génmegőrzés tudományos alapjai” című fejezetben foglalkozunk.

## A régi magyar baromfifajták ismertetése

### A magyar és az erdélyi kopasz nyakú tyúkfajták

Régi magyar tyúkfajtáink két nagyobb csoportját különböztetjük meg. Az egyik a magyar tyúk, mely elsősorban a mai Magyarország különböző vidékein őshonos parlagi tyúkok tenyésztett változata. A másik az erdélyi kopasz nyakú tyúk, mely – bár valószínűleg török közvetítéssel a középkorban került Erdélybe és a déli határvidékre – mai formájában a Kárpát-medencében kialakult, önálló fajtának tekinthető. A XIX–XX. századi tenyésztés eredményeként mindkét tyúkféleségünk több színváltozatban maradt fenn, melyek az elmúlt évtizedek génmentési és tenyésztési munkájának köszönhetően a XXI. században már önálló fajtaként gazdagítják baromfi-génbankjainkat.

A magyar tyúk a középnagyságú, kettőshasznú fajták közé tartozik. A tyúkok súlya 2,0–2,3 kg, a kakasoké 2,5–3,0 kg. Törzsük középhosszú, kissé hengeres. A tyúkok háta egyenes és hosszú, a kakasoké rövidebb és ívelt. Jellemző rájuk a széles, telt és domború mell, a magasan tűzött

szárny, a jól fejlett tojóhas, a középhosszú láb, a test nagyságához viszonyítva túlfejlett farktollak és a testhez simuló tollazat. Fejük kicsiny, koponyájuk domború, csőrük rövid és erős tövű, szemük élénk. A taréj középnagy és hátranyúló, egyenesen felálló, a tojóké gyakran megdőlt, egyenesen csipkézett, egyszerű fűrésztaraj. Az áll-lebeny finom tapintású és lekerekített, a füllebeny tojásdad alakú és mindenkor teljesen élénkvörös. A finom csontozatú magyar tyúk legfőbb értéke finom rostú és ízletes, kitűnő húsa, mely alapján a hazai és külföldi piacokon egyaránt kedvelték. Csirkéi 8–10 hetes koruktól már értékesíthetők voltak. Az 1930-as években Gödöllőn kezdett nemesítőmunka eredményeként tojástermelése elérte az évi 140–150 darabot, mely alapján kitűnő kettőshasznú fajtaként tartották számon. A nemesítés során több színváltozatot alakítottak ki. Legelterjedtebb a fehér, a kendermagos, a sárga és a fogolyszínű változat volt, melyek a mai napig fennmaradtak, s mint önálló fajták találhatók a HÁGK génbankjában.

A világosabb és sötétebb színárnyalatban előforduló *sárga magyar tyúk* nyaktollának végei, a szárny evezőtollai és a farktollak végei kismértékben barnásfeketék. A kakas tollazatának alapszíne valamivel sötétebb, a nyak- és nyeregtollak, valamint a szárny fedőtollai élénk vörössárga színűek, az evezőtollak és a kormánytollak barnásfeketék, a sarlóttollak zöldes árnyalatba hajló feketék. Csőre és lába sárga, tojása világosbarna színű. A naposcsibék egyszínű világosbarnák. A sárga magyar tyúk a Dunántúlon, valamint az Alföld és a Duna–Tisza köze egyes részein volt elterjedt. A *fehér magyar tyúk* tollazata fényes fehér. A kakasok tollazata szintén egyszínű fehér, idősebb korban enyhén sárgás árnyalatba hajló lehet. Tojásaik általában krém- vagy világosbarna színűek. Naposcsibéik sárgásfehér pelyhűek. A fehér magyar tyúk elsősorban az Alföld és a Duna–Tisza köze tyúkjá volt, mivel fehér színével az árnyék nélküli tartást, a tűző napsugarakat a legjobban viselte. A *kendermagos magyar tyúk* tollazatának alapszíne kékesszürke. A sötét, fekete színhatású, keskeny keresztcsávok váltakozó elhelyezkedése idézi elő a jellegzetes „kendermagos” színt. A kakasok színe világosabb, a tyúkoké sötétebb. Tojásaik világosbarna vagy barna színűek. Naposcsibéik sötétszürke-fekete pelyhűek, a kakascsibéknél a hastájon és a fejen világosabb folttal. Rejtőzködő színe miatt elsősorban az ország északi részén, általában a szárnyas ragadozók által jobban veszélyeztetett területeken kedvelték, de az egész országban kedvelt fajta volt. A *fogolyszínű magyar tyúk* tojó alapszíne az egész testre kiterjedően barna, hasonlít a fogoly színéhez. Finom rajzú tollazata a mellen vöröses, a nyakon, vállon és háton (a nyeregtollakon) sárgás, a test hátsó részén és a hason szürkés árnyalatú. A fark és a szárny evezőtollai feketék vagy sötétbarnák. A nyaktollakon fekete, keskeny csíkok láthatók, úgyszintén a mell-, hát- és szárnytollakon is keskeny, barna sávokból álló, a toll körvonalához hasonló rajz található (rajzolt toll). A kakas nyak- és nyeregtollazata aransárga, piros árnyalattal. A nyak- és nyeregtollak hosszában vékony, fekete csík látható. A fej tollazata narancsvörös, a nyereg, a váll és a hát felső része barnáspiros, a mell, a has és a combok fedőtollai pedig feketék. A kakas sarlófarktollai szintén feketék, zölden zománcolt árnyalattal. Csibéik pelyhezete közép barna, világosabb tarkázottsággal élénkített, vadmadár-szerű színeződésű. Tojásaik színe a többi magyar tyúkfajtához hasonlóan világosbarna vagy barna. A fogolyszínű magyar tyúkokat a Dunántúlon, valamint a szárnyas ragadozóktól jobban veszélyeztetett erdős területeken szaporították.

Az *erdélyi kopasz nyakú tyúkra* jellemző, hogy nyaka és részben a melle, valamint hasi része is tollatlan. A fejtetőn szintén kevés toll található. Több színváltozatban fordult elő, korábban legelterjedtebb a fehér volt. Testalkata hasonlít a magyar tyúkéra, de annál nagyobb törzsű,



hosszabb és tojásdad alakú, melle kerek, mint a vadmadaraké. Szárnya hosszabb és hegyesebb. A tyúkok súlya 2,0–2,3 kg, a kakasoké 2,5–3,0 kg. Az erdélyi kopasz nyakú tyúkfajtákat a XX. század első felében még elsőrendű gazdasági tyúkként tartották számon. Rendkívül edzettek, erősek és ellenállóak. Gyorsan fejlődnek és gyorsan tollasodnak. Számukra megfelelő környezetben kitűnő tojástermelők, tojásaik súlya a 70 g-ot is meghaladhatja. A tojások általában barna vagy krémszínűek, de előfordulnak fehér héjúak is. Kotlási hajlama gyenge. Egyes vidékeken kiváló téli tojóként tartották. Gödöllőn az 1950-es évek elejétől sárga, kendermagos és fehér színben nemesítették. Mai génbanki állományainkban fehér, fekete és kendermagos színben – a magyar tyúkokhoz hasonlóan – önálló fajtaként őrizzük és szaporítjuk.

### **A régi magyar pulykafajták**

A pulykát elsősorban a nagy test és a hosszú lábszár jellemzi. Az összes hazai baromfifaj között a legnagyobb. Testük hosszúkás, tojás alakú, vállban különösen széles, hátrafelé fokozatosan elkeskenyedik. Fejükön és nyakukon jellegzetes szemölcsök, „bibircsek” vannak, melyek puha tapintásúak. A kakasok bibircsei jóval nagyobbak, ingerlésre háromszorosára is megnagyobbodhatnak, miközben halványvörös színük kékesvörössé válik. Jellemző a kakasok mellén kifejlődő szörpamacs is, amely kisebb mértékben idősebb tojókon is kifejlődik. A sokféle színváltozat közül Magyarországon elsősorban a fehér és a fekete, később a bronzszínű fajták terjedtek el. Az ország déli és középső vidékein a rézpulyka (rézszínű pulyka) is gyakori volt. A pulykák a tavaszi tojódőszakot követően, a nyár folyamán rendszerint másodszor is tojnak és kotlanak. Ebből a keltetésből származnak a „sarjúpulykák”. Az erősen fejlett kotlóhajlamuk miatt mindenféle tojás (tyúk, kacs, fácán) keltetésére alkalmasak.

*A magyar pulyka.* Eredetileg a Duna–Tisza közén terjedt el a magyar pulyka. Fekete és fehér színben tenyésztették. Idővel a fekete színváltozat száma nagyon lecsökkent és a XIX–XX. század fordulójára a fehér színváltozat került túlsúlyba. A fehér magyar pulykát később a mexikói fehér pulykával nemesítették a testsúly növelése érdekében. Sajnos a magyar pulyka eredeti változatai ma már alig lelhetők fel. A fehér magyar pulyka tolla igen értékes árucikknek számított, különösen a hónalj alatti, ún. „marabutollak”. Tojáshozama évente 30–40 darabra tehető. A fekete magyar pulyka tollazata egyöntetű fekete, csőre és lába palaszürke. Húsa szép fehér hús, mely a maga idejében nagyon keresett volt. Testsúlya kisebb, mint a fehér pulyké. Évi 25–50, fehéres alapszínű, barnás pettyezettségű tojást termelt. Gyorsan fejlődő, kiválóan kotló és nevelő állat. Élelemszerzésben szinte utolérhetetlenül szorgalmas. Húsminősége a külterjes tartásnak köszönhetően a legigényesebb külföldi piacokon csemegeszámba ment, belőle minden mennyiséget könnyen értékesíthettünk.

*A rézpulykát* főként Boszniában és a Délvidéken tenyésztették nagyobb számban, ezért „bosnyák pulykának” is nevezték. A tojók súlya 4,00–5,00 kg, a kakasoké 5,00–7,00 kg. Edzetségére és igénytelenségére jellemző, hogy értékesítésre valaha lábon hajtották hazánkba. Az alföldi tanyavilágban egy-egy példánya ma is megtalálható. A kakas színe a test elülső részén sötét rézvörös, fehéres szárnyfedő- és faroktollakkal. Alapszínét fakó és fehér harántsávok tarkíthatják. A láb rózsaszín, a bőr fehér színű, a tojó valamivel világosabb. A betegségekkel szemben ellenálló, igénytelen, bőven tojó, szorgalmasan kotló és nevelő, nagyon jó élelemkéréső pulykafajtaként tartották számon.

*A bronzpulyka* a legrégebben kitenyésztett pulykafajták egyike, az egész világon elterjedt. Az 1800-as évek második felében keresztezés és fajtatiszta tenyésztés céljából hozták be. Hazánkban honosult fajtának minősíthető. A bronzpulyka gyorsan kiszorította a kisebb testű, parlagi fajtákat, s így a XX. század elejére a legértékesebb és legelterjedtebb pulykafajttá vált Magyarországon is. A bronzpulyka teljes kifejltségét két éves korra éri el. Évi tojástermelése a hazai tenyészetekben 50–80 db. A tojások színe erősen pettyezett, súlyuk 70–90 g. A parlagi változatként fennmaradt „magyar” bronzpulyka testformája és a toll színeződése megegyezik a standard bronzpulykéval, csak testsúlya kisebb, a parlagi változatokéhoz hasonló. A tojók súlya 5,00–6,00 kg, a kakasoké 6,00–8,00 kg. A HÁGK-ban jelenleg a magyar parlagi réz- és bronzpulyka génbanki állományait tartjuk fenn.

### **A gyöngytyúk**

Már vadon is többféle színváltozata ismert (szürkés-kék, fehér, krém, sárga és ibolya). A tojók súlya 1,20–1,40 kg, a kakasoké 1,30–1,60 kg. Testük vízszintes tartású és zárt. Hátuk feldomborodik. Apró, csupasz fejükön sisakot viselnek, amely a kakasoknál nagyobb és meredekebb állású. Áll-lebenyűk kétoldali, tömött, fehér színű, a széleken vörös, a tojóknál kifejezettebben lelógó. Arcuk szürkés-kék, égszín-kék foltokkal, amelyek a nyak felső harmadának csupasz bőrére is áttérjednek. A toroktáj bőre kékes ibolyaszínű. Lábai viszonylag rövidek és palaszürkék. A gyöngytyúk nagyon értékes, ízletes húsu baromfiféle. A XX. század első felében külföldre megfojtva, vadmadárként szállították. Tojástermelését április végén kezdi, évente 60–80 db sárgászöld héjú, 50 g körüli súlyú tojást tojik. Szeret rejtve tojni. Tojásainak héja vastag, ezért hosszabb ideig eltartható. Nagyon edzett, veszekedő, vad természetű, kitűnő élelemkéréső és rovarirtó baromfiféle, ezért szabadon tartása a legcélszerűbb. Hazánkban elsősorban a kékes-szürke, kisebb mértékben a fehér színváltozata terjedt el, de előfordul szürke (ezüst), barna (vörös) és foltos (tarka) változata is. A kékes-szürke gyöngytyúk tollszínezete kékes-szürke alapon egyenletesen fehéren pettyezett, gyöngyözött. Az evező- és faroktollak barnák, szélükön fehéres tarkázottsággal. Mell- és nyakszíneződésük foltok nélküli ibolyaszürke. Csibéi kikeléskor barnás színűek, hátukon hosszanti sötétebb sávokkal. A fehér színű gyöngytyúk kevésbé gyakori, tollszíne bársonyos csillogású, tejfelsárga alapszínű, rajta ezüstfehér pettyekkel. A napocsibék színe szürkés, világosabb sávokkal és pelyhekkkel. HÁGK magyar parlagi gyöngytyúk fajtanévvel fenntartott génbanki állománya túlnyomórészt kékes-szürke színű.

### **A magyar lúd**

A magyar lúd fehér, szürke és tarka tollszíneben, valamint fodros tollú változatban fordult elő. Hazánkba került külföldi fajtákkal történt kereszteződés útján jött létre. Fehér változata volt a leggyakoribb. Csőre narancssárga, idősebb korban sötétebb. Lába vörös színű. Középnagy testű, tojója 5,00–6,00, gúnárja 6,00–8,00 kg súlyú. Törzse hosszúkás és közepesen mély. Melle telt és gömbölyű, háta hosszú, széles és egyenes, csak enyhén és egyenletesen lejt hátrafelé. A gúnár nyaka hosszú, erős, enyhén ívelt. A tojó nyaka rövidebb, vékonyabb és kevésbé ívelt. Lábai erőteljesek. A magyar lúd igénytelen, gyorsan növekvő, jól tollasodó, edzett és fáradhatatlanul legelő fajta volt. A legelővel szemben igénytelen, a takarmányt nagyon jól értékesítette.



Húsa kitűnő minőségű és puha, nagy máját a külföldi piacok is nagyra értékelték. Tollhaszna tetemes volt, évente háromszor-négyszer is téphették. Az eredeti magyar lúd éves tojástermelése 15 körüli. Értékes, fehér tollú tájfajtái a Balaton vidékén, a Duna és Tisza mellett, Szeged, Makó, Szentes és Dunaszerdahely környékén alakultak ki. A magyar lúd és egyes tájfajtái még kis létszámban fellelhetők, megőrzésük lúdentenyésztőink egyik legfontosabb feladata lenne. *A fodros tollú magyar lúd* a Kárpát-medence egyik különlegessége. Látványos, testtől elálló tollazata miatt előszeretettel tenyésztették hazánk egyes vidékein. Erdélyben ma is elterjedt. Különböző színváltozatait magyar őshonos fajtaként, génbankokban tartjuk fenn. A fajta csupán tollainak szerkezetében tér el a magyar lúdtól, őrzi annak tulajdonságait. Elsősorban szárnyfedőtollai, combtollai, kisebb mértékben faroktollai hosszúak, puhák és szalagszerűen, látványosan fodrozódnak. A fodros tollúság egy gén által meghatározott, domináns tulajdonság, mely heterozigóta állapotban részleges dominanciát eredményez. A fodros tollú magyar lúdnak különböző (fehér, szürke és tarka) színváltozatai ismeretesek. A HáGK gödöllői génbankban a magyar lúd fehér és szürke, illetve a fodros tollú magyar lúd valamennyi színváltozatát őrizzük.

### A magyar kacsa

A magyar kacsák koponyája lapos, fejük hosszú, törzsük hossz tengelye vízszintes. Testük arányos, oldalról téglalap alakú. A háziasítás során színre és testnagyságra egyaránt igen sokféle, egymástól jelentősen eltérő kacsafajta alakult ki. A hímek tollszíne a színes fajtáknál mindenkor díszesebb. A magyar kacsa parlagi fajtának tekinthető, eredeti hazai kacsafajta. Leggyakrabban fehér, ritkábban tarka és barna színben ismeretes. Testsúlya alapján a kisebb testű kacsafajtákhoz tartozik. A tojók súlya 2,30–3,00 kg, a kakasoké 2,50–3,20 kg. Végtagjai rövidek, csőre színe a fehér változatnál sárgászöld, a tarka változatnál szürkészöld, sárga pigment nélküli. A magyar kacsa kitűnően hizlalható és tömhető, húsa rendkívül ízletes, lédús és finom rostú. Nagy ellenálló képességű és jó élelemkereső fajta. Egyedei még kisebb létszámban fellelhetők Erdélyben és az alföldi tanyavilágban. A gödöllői génbankban fehér és tarka (vadas színű) változatát önálló fajtaként tartjuk fenn.

A közölt leírásokat a régi magyar baromfifajtákat ismertető könyvek alapján állítottuk össze (*Szalay, 2002; 2015*). Az elmúlt években több szaktanulmány jelent meg a Haszonállat-génmegőrzési Központ, a Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete (MGE) és más intézmények közreműködésével régi magyar baromfifajtáink populációs adatairól, tartásáról és termelési eredményeiről (*Bódi és munkatársai, 2015; Szalay és munkatársai, 2015; 2016a; 2016b; 2016c; Dong Xuan és munkatársai, 2017*), melyek a génmegőrzés eredményei mellett a fajták értékelését és jövőbeni hasznosításuk lehetőségeit is részletesen ismertetik.

### Irodalomjegyzék

Biszkup F. (1986): Háziszárnyasaink eredete, domesztikációja és elterjedése. Kézirat. KÁTKI, Gödöllő  
 Biszkup F., Beke L. (1951): A magyaróvári sárga magyar tájfajta tyúk kitenyésztésének módszerei és eredményei. Agrártudomány: III(9): 461-467.

Bódi L., Thieu Ngoc Lan Phuong, Kovácsné Gaál K., Konrád Sz., Barta I., Kisné Do thi Dong Xuan, Szentes K. Á., Szalay I., Lencsés Gy. (2015): A tojások fizikai minőségének összehasonlító vizsgálata különböző típusú tyúkállományokban. AWETH 11:(2): 70-77.  
 Crawford, R. D. (1989): Experience with in situ preservation of poultry breeds. FAO Animal Production and Health Paper 80: 142-153.  
 Dong Xuan, K. D. T., Lan Phuong, T. N., Tien, P. D. Thu, P. T. M., Khiem, N. Q., Nhung, D. T., Muoi, N. T., Oanh, N. T. K., Thanh, P. T. K., Szalay, I. T. (2016): In situ and ex situ assessment of a native Hungarian chicken breed for its potential conservation and adaptation in the subtropics. Journal of Animal Production Science 57(5): 975-980.  
 Kiss I., Papp Gy., Deliné Konszky E. (1982): A fodros tollú magyar lúdfajta néhány fontosabb fiziológiai és termelési paramétere. A géntartálékok jelentősége és szerepe az állatfajok és -fajták fenntartásában c. nemzetközi konferencia kiadványa, Debrecen. 283-286 p.  
 Kovácsné Gaál K. (2004): A sárga magyar tyúk génmegőrzése Mosonmagyaróváron. A Baromfi 7(1): 21-24.  
 Mihók S. (2004): Őshonos és réghonosult baromfifajok fenntartása a Debreceni Agrártudományi Centrumban. A Baromfi 7(2): 8-13.  
 Mihók S. (szerk.) (2006): Gazdasági állataink – Fajtan. Tyúk, gyöngytyúk, pulyka, kacsa, pézsmaréca, lúd. Mezőgazda Kiadó, Budapest  
 Sófalvy F. (2005): Az őshonos kendermagos magyar tyúk tartása Hódmezővásárhelyen. A Baromfi 8(1): 4-13.  
 Szabolcs I. (2005): Régi magyar tyúkfajtáink tenyésztője. A Baromfi 8(2): 22-25.  
 Szalay I. (2002): Régi magyar baromfifajták. Old Hungarian Poultry. Mezőgazda Kiadó, Budapest  
 Szalay I. (2004): A régi magyar baromfifajták tenyésztése és génvédelme a KÁTKI-ban. A Baromfi 7(3): 22-25.  
 Szalay I. (2015): Régi magyar baromfifajták a XXI. században. Old Hungarian Poultry in the 21st century. Mezőgazda Kiadó, Budapest  
 Szalay I., Biszkup F., Barta I., Koppány G. (1992): Present status of the native Hungarian chicken breeds. In: Genetic Conservation of Domestic Livestock. Vol. 2., Chapter 22, (pp. 223-231). Eds. L. Lawrence and I. Bodó. C.A.B. International, Wallingford, UK  
 Szalay I., Kovácsné Gaál K. (2008): A baromfi géntartálékok és az alternatív baromfitenyésztés helyzete és jövője. MTA konferencia, 2008. november 12. „A baromfiágazat helyzete és jövőbeni kilátásai”. Állattenyésztés és Takarmányozás 57(5):425-438.  
 Szalay I., Barna J., Barta I., Bodó I., Ferencz T. R., Kisné Do thi Dong Xuan, Koppány G., Nagyné Kovács J., Thieu Ngoc Lan Phuong (2015): A gyöngytyúk tenyésztése és fajtavédelme Magyarországon. Mezőgazda Kiadó, Budapest  
 Szalay, I. T., Lan Phuong, T. N., Barta, I., Bódi, L., Emödi, A., Szentes, K. Á., Dong Xuan, K. D. T. (2016a): Conservation aspects of meat producing ability and heterosis in crosses of two natively different local Hungarian chicken breeds. International Journal of Poultry Science 15(11): 442-447.  
 Szalay, I. T., Lan Phuong, T. N., Barta, I., Kovács, J. N., Dong Xuan, K. D. T., Bódi, L., Mihók, S., Benk, Á., Kovácsné Gaál, K. (2016b): Evaluating the trends of population data, effective population size and inbreeding rate as conservation indices of old Hungarian poultry breeds between 2000 and 2015. European Poultry Science 80 10.1399/eps.2016.  
 Szalay I. T., Lan Phuong, T. N., Ferencz, T. R., Dong Xuan, K. D. T., Kustos, K., Kovácsné Gaál, K. (2016c): Assessing meat production of 3 Hungarian Landrace Guinea Fowl ecotypes reserved for *in vivo* conservation. Journal of Applied Poultry Research 25(2): 139-144.

# Az ondósejtek hosszú távú tárolása, a hím ivari anyag megőrzése

VÉGI BARBARA – VÁRADI ÉVA – BARNÁ JUDIT



## Baromfifélék hímivarsejtjeinek mélyhűtéses tartósítása

A madarak ondómélyhűtésével kapcsolatos kutatások csak pár évtizedes múltat tekintenek vissza. Ennek is köszönhető, hogy pillanatnyilag a baromfifajok közül csupán a házi tyúk-faj ondómélyhűtésével kapcsolatban található mélyhűtési protokoll a génbankok kialakítását célzó FAO ajánlásban (FAO, 2012). A többi baromfifaj esetében – helytelenül – a házi tyúknál használt protokoll alkalmazását javasolja a leírás annak ellenére, hogy az egyes mélyhűtési protokollok kidolgozásánál és alkalmazásánál szem előtt kell tartanunk, hogy a különböző baromfifajok más-más ondóhígítót, hűtési rátát és krioprotektánsot igényelnek, vagyis a sikeres mélyhűtési módszer fajspecifikus (Holt, 2000). Emellett eltérő az egyes baromfifajok hímivarsejtjeinek mélyhűtéssel szembeni toleranciája is, mely a spermiumok ozmotikus stresszel szembeni ellenálló képességével és membrán-fluiditásával hozható kapcsolatba (Blanco és munkatársai, 2000; Blesbois és munkatársai, 2005). A fenti nehézségek miatt és a szakirodalomban található mélyhűtési kísérletek ellenére nincs egységes protokoll a különböző baromfifajok ondómélyhűtésére, melyre azonban nagy szükség van a folyamatban lévő hazai spermabank-kialakítás során.

### A házi tyúk spermiumainak mélyhűtéses tartósítása

Lake és Stewart (1978) nevéhez fűződik az első valóban sikeres ondómélyhűtés kidolgozása házi tyúk (*Gallus domesticus*) spermiumokra, mely során lassú hűtési ráta és glicerol alkalmazásával 80%-os termékenységet értek el. Ezt követően több kutatócsoport is alkalmazta a glicerolos mélyhűtést (Tajima és munkatársai, 1990; Gill és munkatársai, 1996), mely során kiderült, hogy számolni kell annak kontraceptív hatásával (Neville és munkatársai, 1971), ezért a glicerolt az inszeminálás előtt a felolvasztott ondómintából el kell távolítani, illetve végkoncentrációját 2% alá kell csökkenteni (Lake, 1968). A glicerol kiváltására Sexton (1980) olyan lassú mélyhűtési protokollt fejlesztett ki, ahol krioprotektánsként dimetil-szulfoxidot (DMSO) használt, mellyel 50%-os termékenységet ért el. A 1990-es években mindkét programozott módszert optimalizálták. Míg egy francia kutatócsoport glicerol használatával 76%-os termékenységet ért el (Seigneurin és Blesbois, 1995), addig holland kutatók DMSO-val 82–90%-os termékenységi eredményekről számoltak be (Van Voorst és Leenstra, 1995). További krioprotektánsok tesztelése során etilén-glikolt (EG), illetve dimetil-acetamidot (DMA) használva krioprotektánsként 55–64% közötti (Hübner és Schramm, 1988), míg dimetil-formamidot (DMF) alkalmazva 75–85% termékenységet értek el (Tereshchenko és munkatársai, 1992). Szintén 80% feletti termékenységet eredményezett a DMF és MA kombinációjának használata a német spermabank kialakítását célzó kutatásban (Ehling és munkatársai, 2012).

A programozott eljárással párhuzamosan a 90-es években kifejlesztett pellet módszerrel DMA használata mellett Tselutin és munkatársai (1995) 93–94%-os, míg francia kutatók 88%-os termékenységet (Chalah és munkatársai, 1999) produkáltak a különböző baromfifajok vizsgálata során. A módszer további optimalizálása – melynek során a tároláshoz pellet helyett műszalmát használtak a biztonságosabb azonosítás érdekében – 88%-os termékenységet eredményezett (Woelders és munkatársai, 2006), ami a spermabanki tárolás referenciamódszerévé vált a glicerolos mélyhűtés mellett. Míg az előbbi módszert a Holland Nemzeti Génbank, addig

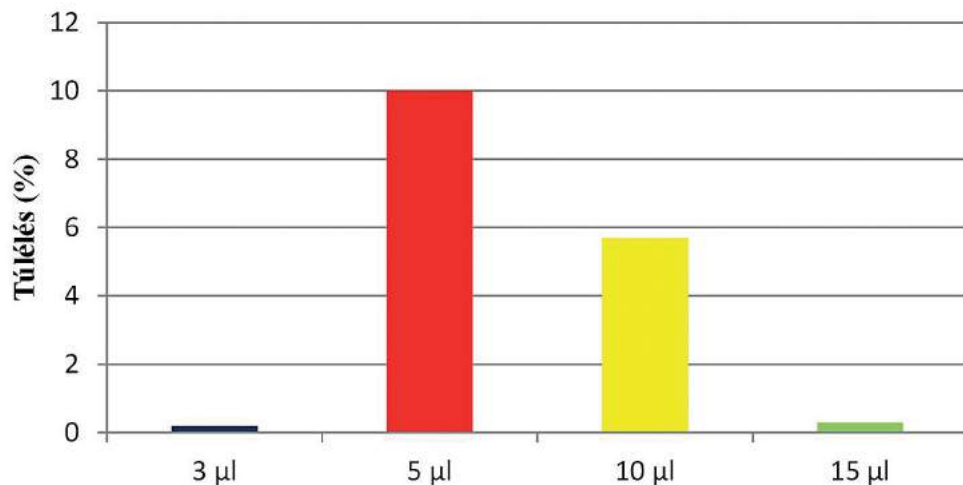
az utóbbi glicerolos mélyhűtést a Francia Génbank alkalmazza (Blesbois, 2006) és a FAO is ezt a két módszert ajánlja háziatyúk-spermiumok mélyhűtéses tartósítására (FAO, 2012).

Számos kísérletet végeztek egyszerűbb, a gyakorlatban könnyebben alkalmazható mélyhűtési eljárásokat – pl. nitrogéngőzös módszert – tesztelve, mely során folyékony nitrogént tartalmazó polisztirol dobozban fagyasztják le nitrogéngőzben a mintákat. Egy japán kutatócsoport különböző krioprotektánsok (MA, DMA, DMF, DMSO) tesztelését követően legeredményesebbnek a metil-acetamidot (MA) találta, aminek alkalmazásával kezdetben 70%-os (Hanzawa és munkatársai, 2006), majd a későbbiekben 84%-os termékenységet értek el (Sasaki és munkatársai, 2010).

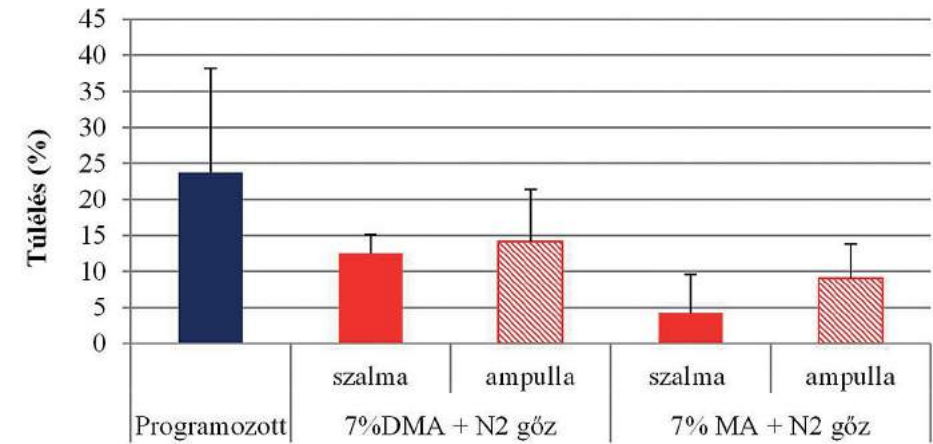
Napjainkban a baromfifajokban is egyre gyakrabban előkerül a hímivarsejtek vitrifikációs eljárással történő mélyhűtésének kérdése, melynek alkalmazásával elsőként egy afrikai tyúkfajta esetében védőanyagként DMSO-t használva csak 2,5%-os motilitást produkáltak (Mphaphathi és munkatársai, 2012). Kutatócsoportunk is tesztelte a vitrifikációs eljárást kakasspermiumok mélyhűtésére. Ennek során 5µl-es pellet alkalmazásával is csak 10%-os túlélést tudtunk produkálni (Barna és munkatársai, 2013) (8. ábra). Kakasspermiumok vitrifikációjával kísérleteztek francia kutatók is, ők az *in vitro* vizsgálataik szerint már 30–40%-os sejttúlélést értek el (Szóbeli közlés, Blesbois és munkatársai, 2013). Az eddigi kevésbé sikeres próbálkozások is mutatják, hogy ezen a területen még számos vizsgálat végzése szükséges az eredményességhez.

Az elmúlt években szerzett tapasztalataink szerint a lassú, programozott módszerrel jobb túlélési arányt lehet elérni őshonos kakassperma mélyhűtésben, de a nitrogéngőzben történő mélyhűtés is ígéretesnek tűnik a kakasspermium hosszú távú tartósítására (Barna és munkatársai, 2008) (9. ábra).

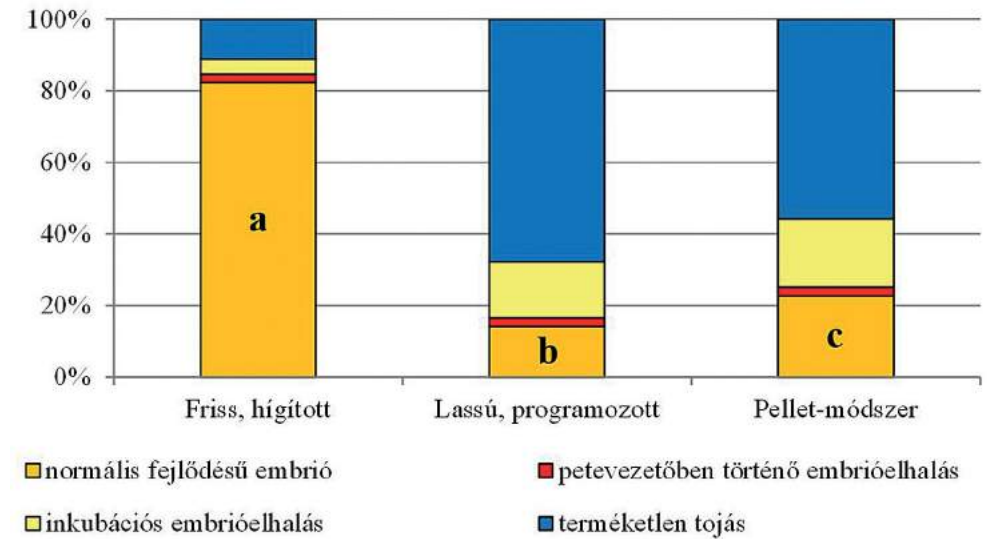
Egy összehasonlító vizsgálatunkban a lassú, programozott eljárással 32%-os, míg a pellet-módszerrel 44%-os termékenységet értünk el (Váradi, 2016) (10. ábra).



8. ábra. Spermiumtúlélés vitrifikációs eljárás után a tyúkfajban. A pellet méretének összehasonlítása



9. ábra. Élő, normális morfológiájú spermiumok túlélési aránya nitrogéngőzös eljárás után a tyúkfajban

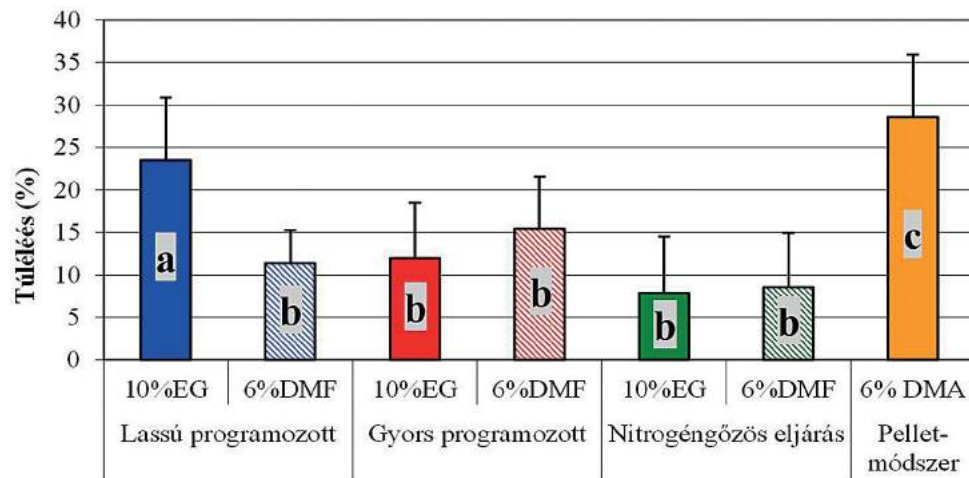


10. ábra. A termékenység és az embrióelhalás alakulása programozott, illetve pellet módszer alkalmazásával a tyúkfajban. Az eltérő betűk (a, b, c) szignifikáns különbségeket jelölnek, ahol  $p \leq 0,05$ .

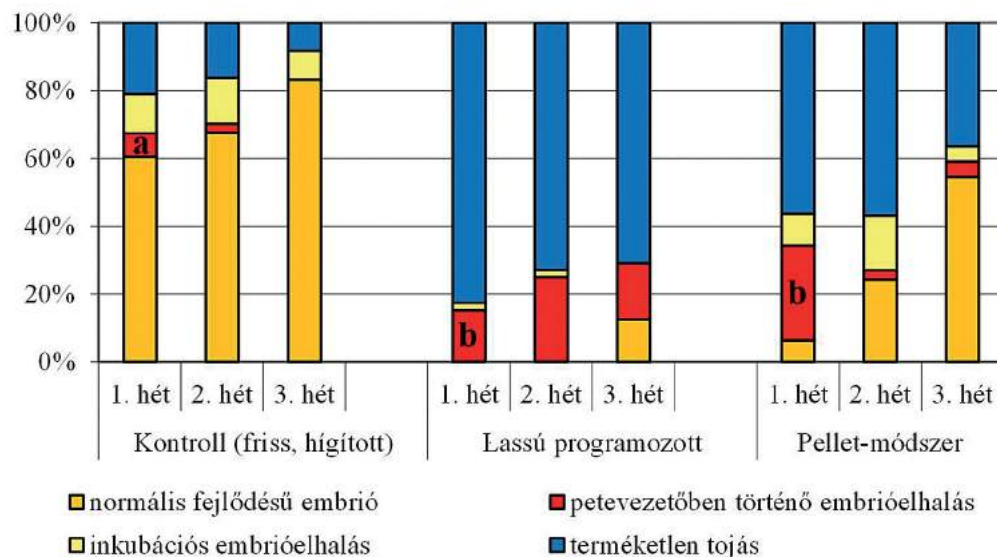
### A gyöngytyúkspermiumok mélyhűtéses tartósítása

A baromfifajok közül a gyöngytyúkspermiumok kevésbé tolerálják a mélyhűtést, mint a háziatyúk- vagy a pulyka-hímivarsejtek. A faj hímivarsejtjeinek alacsonyabb membrán-fluiditása és a magasabb koleszterol-foszfolipid aránya csökkenti a sejtmembrán rugalmasságát (Blesbois és munkatársai, 2005), ezáltal csökkentve a mélyhűtés/felolvasztás utáni túlélési képességüket (Seigneurin és munkatársai, 2013). Emellett a gyöngytyúk ondójának minősége is gyengébb





11. ábra. Az élő, normális morfológiájú gyöngytyúk-spermiumok túlélési aránya az egyes protokollokban. Az eltérő betűk (a, b, c) jelzik a szignifikáns különbségeket (a-b és b-c  $p \leq 0,01$ , a-c  $p \leq 0,05$ ) az egyes mélyhűtési módszerek alkalmazása során megfigyelt túlélési arányok között



12. ábra. A termékenység, a normális fejlődésű embriók és az embrióelhalások alakulása a mesterséges termékenyítések után gyöngytyúkban. Az eltérő betűk (a, b) jelzik a szignifikáns különbségeket, ahol  $p \leq 0,05$

(Massip és munkatársai, 2004), ezért a galliform fajok közül a legnehezebben mélyhűthető spermiumok közé sorolhatjuk.

Mivel a világban kevés helyen népszerű a gyöngytyúk tenyésztése, ezzel a fajjal végzett vizsgálatokat bemutató közlemények is csak korlátozott számban állnak rendelkezésre. Francia

kutatók kísérletei szerint a gyöngytyúk hímvarsejtjeinek DMF-ot és középgyors hűtési rátát (15 °C/perc) alkalmazó mélyhűtésével 20%-os (Seigneurin és Blesbois, 2006), míg 30 °C/perc hűtési sebesség alkalmazásával 71%-os termékenység érhető el (Seigneurin és munkatársai, 2013). Kutatócsoportunk különböző mélyhűtési eljárások (lassú-, illetve gyors programozott, nitrogéngőzös és pellet módszer) összehasonlítása során megállapította, hogy a pellet módszer a legalkalmasabb a faj ondósejtjeinek mélyhűtésére (11. ábra), mellyel 64%-os termékenységet (12. ábra) értünk el (Váradí és munkatársai, 2013).

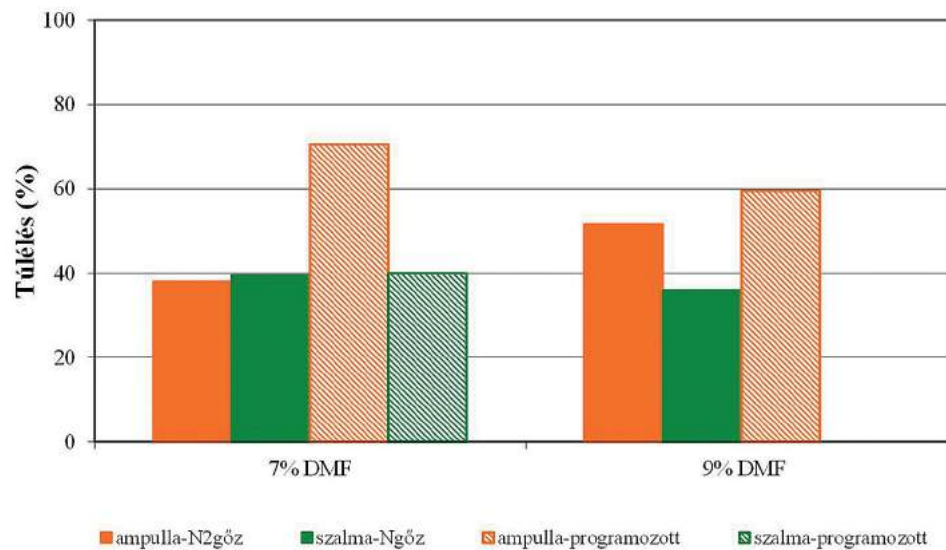
### A pulykaspermiumok mélyhűtési tartósítása

A pulyka (*Meleagris gallopavo*) hímvarsejtje az eddigi tapasztalatok szerint érzékenyebb a mélyhűtésre, mint a házityúk-spermiumok (Blanco és munkatársai, 2000). A rosszabb mélyhűtéssel szembeni toleranciának is tudható be, hogy kevesebb alkalmazható mélyhűtési módszer áll rendelkezésünkre a pulyka esetében. A legkorábbi vizsgálatok glicerol használatával csupán 20% körüli termékenységet eredményeztek a mélyhűtött/felolvasztott pulykaondóval történő inszeminálás után (MacPherson és munkatársai, 1969; Oderkirk és Buckland, 1977). Mások ugyanazt a glicerolos, programozott eljárást alkalmazva, házityúk-faj esetében 55%-os, pulykaspermiumok mélyhűtésénél csak 34%-os túlélést értek el (Wishart és Palmer, 1986). Egy másik kísérletben DMSO használata mellett a házikakas-spermiumok esetében 55%-os termékenységet értek el, a mélyhűtött pulykaondóval viszont egyáltalán nem sikerült termékeny tojást produkálniuk (Bakst és Sexton, 1979). A kevésbé sikeres ondómélyhűtést kompenzálja, hogy a pulykatojók – a tyúkfajhoz képest – hosszabb a fertilis periódusuk, ugyanis a spermiumtároló tubulusokból naponta csak a tárolt spermiumok 11%-a ürül ki, szemben a házi tyúkra jellemző 30%/nap ürülési aránnyal (Wishart és Hartley, 1998). Az elmúlt években számos kutatócsoport igazolta, hogy a lassú mélyhűtés alkalmasabb a faj spermiumainak tartósítására, mellyel 50%-os (Zavos és Graham, 1983), illetve 72%-os (Schramm és Hübner, 1988) termékenység is elérhető. Blanco és munkatársai (2011) szerint a 18% DMA és az 5% trehalóz/szacharóz kombinációja eredményezi a legjobb motilitást (39%) a túlélő sejtjeknél. Több kutatócsoport is alkalmazta a gyors pellet módszert pulykaspermiumok mélyhűtésére, kezdetben 19%-os (Schramm és Hübner, 1988), majd 71–84%-os termékenységet (Tselutin és munkatársai, 1995) és 42%-os sejt túlélést (Taffaldano és munkatársai, 2011) produkálva. A nitrogéngőzös eljárást is tesztelték a faj hímvarsejtjeinek tartósítására. A krioprotektánsként 6% DMA-t alkalmazó eljárás használatával 20%-os termékenységet értek el (Long és munkatársai, 2014).

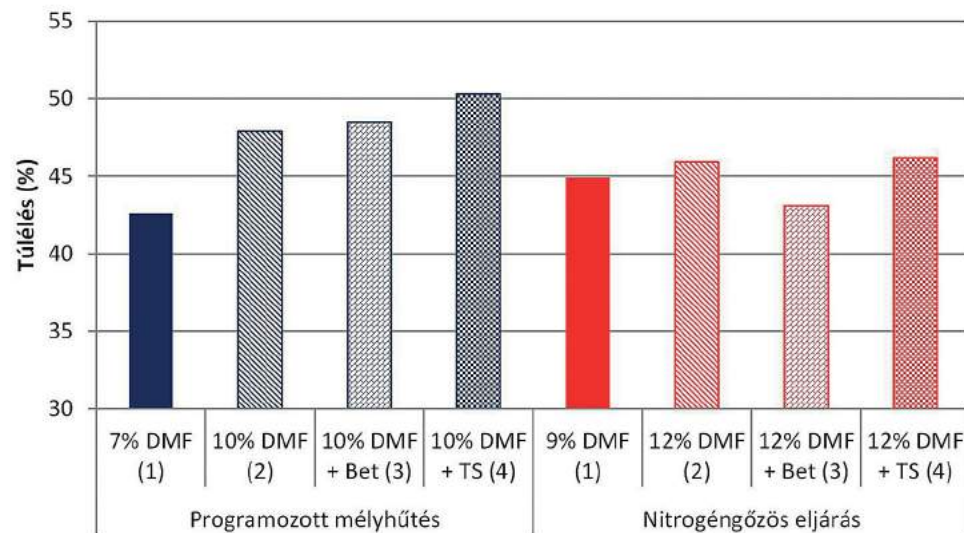
### A lúdspermiumok mélyhűtési tartósítása

A gúnárondő megbízható mélyhűtési tartósításának nemcsak génmegőrzési, hanem tenyésztői szempontból is nagy jelentősége van. A szakirodalomban számos ondómélyhűtési próbálkozást találhatunk a lúdfaj kapcsán, de elsősorban a programozott eljárások terjedtek el. Łukaszewicz (2002) az általa kifejlesztett programozott eljárással, 6% DMF használata mellett 90% feletti termékenységet produkált (Łukaszewicz, 2001). Egy francia kutatócsoport több különböző mélyhűtési protokollt hasonlított össze szürke landesi lúd génmegőrzése céljából. A többéves





13. ábra. A nitrogéngőzös és a programozott eljárás összehasonlítása élő, normális morfológiájú gúnárspermiumok túlélési aránya alapján



14. ábra. Az élő, normális morfológiájú spermiumok túlélési aránya az egyes protokollokban. A nitrogéngőzös és a programozott spermamélyhűtési eljárás *in vitro* összehasonlítása a lúdfajban

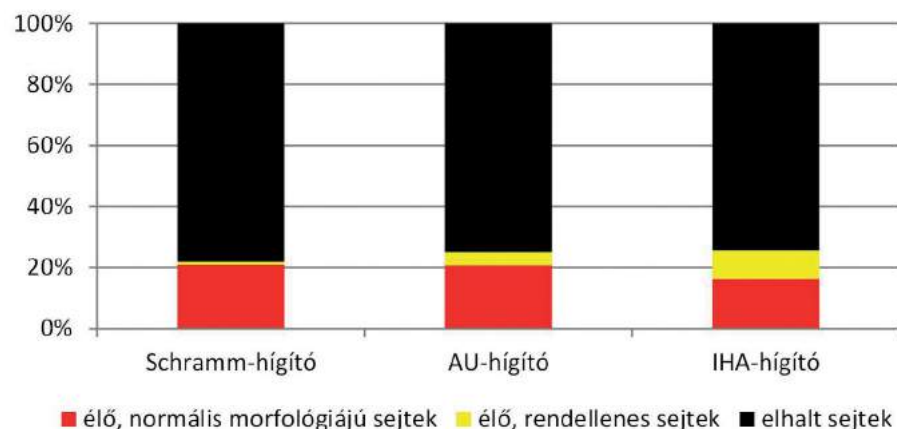
kísérlet végére a kezdeti 10%-os termékenységet a termékenyítési technika módosításával (gyakoribb termékenyítés, magasabb inszeminálási dózis) 60%-ra növelték (Dubos és munkatársai, 2008). Egy későbbi kísérletben házi- és vadlúdfajták keresztezésével kívántak létrehozni hibrideket mélyhűtött ondó alkalmazásával mesterséges termékenyítésben, melynek eredményeképpen 60%-os termékenységet tudtak elérni (Kowalczyk és Lukaszewicz, 2012).

A programozott eljárások mellett egyre nagyobb igény mutatkozott gyors, gyakorlatiasabb, akár telepi körülmények között is kivitelezhető mélyhűtési eljárások kidolgozására. Ezért számos kutatócsoport tesztelte a korábban más fajoknál is alkalmazott nitrogéngőzös, illetve a pellet módszert. A pellet módszerrel 57–77% közötti termékenységet értek el Tselutin és munkatársai (1995) kínai hattyúlúd (*Anser cygnoides*) ondómélyhűtése során. Egy másik ukrán kutatócsoport is 90% feletti termékenységet, valamint 70% feletti kelési százalékot ért el a pellet módszer alkalmazásával (Sakhatsky és munkatársai, 1995). Ezen eredmények reprodukálása azonban más kutatócsoportoknál nem járt sikerrel. Tai és munkatársai (2001) egy gyors, szárazjégen történő ondómélyhűtési protokoll és 9% DMA alkalmazásával 68–95%-os termékenységet ért el. Kutatócsoportunk a lassú, programozott (módosított Łukaszewicz-féle módszer) és a gyors, nitrogéngőzben történő mélyhűtés *in vitro* eredményességét hasonlította össze gúnárondő esetében. Vizsgálataink szerint a lassú, programozott protokollal értünk el jobb túlélést (70% vs. 38%), melyben krioprotektánsként 7%-os DMF-et használtunk és műszalma helyett kriocsovékkel dolgoztunk. A nitrogéngőzben végzett mélyhűtés a magasabb koncentrációjú (9%) DMF-fel hatékonyabb volt (52% túlélés), mint a programozott hűtésnél (60% túlélés) (13. ábra) (Barna és munkatársai, 2010).

Egy másik vizsgálatunkban a programozott eljárás hatékonyságát kívántuk elérni a nitrogéngőzös eljárás alkalmazásával, emellett különböző krio-, illetve ozmoprotektánsokat (DMF, trehalóz/szacharóz kombináció, betain) is teszteltünk. *In vitro* vizsgálataink alapján nem találtunk szignifikáns különbséget a programozott és a nitrogéngőzös eljárással mélyhűtött spermiumok túlélése között (14. ábra). A nitrogéngőzös eljárással mélyhűtött, majd felolvasztott ondómin-tákkal közel 60%-os termékenységet értünk el (Váradi és munkatársai, 2015).

### A kacsaspermiumok mélyhűtési tartósítása

A kacsá ondómélyhűtésével kapcsolatban kevés tapasztalat áll rendelkezésünkre, egyes vélemények szerint a pézsmaréce (*Cairina moschata*) spermiumai érzékenyebbek a mélyhűtésre, mint a pekingi kacsá (*Anas platyrhynchos*) hímivarsejtjei (Blesbois, 2007). Egy német kutatócsoport lassú, programozott mélyhűtést alkalmazva 80%-os termékenységet ért el pézsmarécénél (Schramm és Hübner, 1989), míg Tselutin és munkatársai (1995), szintén programozott mélyhűtési eljárással, 5% DMA-t használva krioprotektánsként, 75–83%-os termékenységet értek el pekingi kacsánál. Módosított pellet módszert alkalmazva hasonlították össze az egyes krioprotektánsok hatását pézsmaréce ondómélyhűtése során. Míg a 7% DMSO 25%-os, addig az 5% glicerol 35% feletti motilis sejtarányt eredményezett (Gerzilov, 2010). Nitrogéngőzös, közepgyors mélyhűtési eljárással is hasonló motilitási értékeket (4% DMSO-val 32%, 4% glicerollal 35%) kaptak nyíl farkú réce (*Anas acuta*) ondómélyhűtése során (Penfold és munkatársai, 2001). Han és munkatársai (2005) nitrogéngőzös eljárást alkalmazva a Jinding kacsá ondómélyhűtésének kidolgozása során 39%-os termékenységet értek el. Saját korábbi *in vitro* vizsgálataink során lassú, programozott mélyhűtés mellett három különböző ondóhígítót teszteltünk, mely során 20% feletti élő sejtarányt értünk el (Szóbeli közlés, Végi, 2005) (15. ábra). A közeljövőben tervezzük a különböző ondómélyhűtési technikák kidolgozását a kacsá- és a pulykafaj esetében is, spermabankunk további fejlesztése érdekében.



15. ábra. A kacsza ondómélyhűtési kísérletének *in vitro* eredményei. A spermiumok minőségében bekövetkező változások mélyhűtés/felolvasztás után

A fenti adatok jól érzékeltetik, hogy az egyes laboratóriumokból származó madárspermiumok mélyhűtési eredményei nagy eltérést mutatnak akár a spermiumok túlélésében, akár a termékenyítési adatokban, és sajnos a legtöbb esetben egyes sikeresnek tűnő metodikák mások számára nem megismételhetőek.

Laboratóriumunkban az őshonos és régen honosult magyar baromfifajták spermabankjának hatékony működése céljából folyamatosan végzünk ondómélyhűtési fejlesztéseket és *in vitro*, valamint *in vivo* teszteleket az egyes fajokkal, mindaddig, amíg meg nem találjuk az adott fajra, illetve fajtára a legsikeresebben alkalmazható és biztonsággal ismételhető módszert. A mélyhűtött mintákból félévente felolvasztás után *in vitro*, és – lehetőség szerint – *in vivo* termékenyítési vizsgálatokat végzünk, mellyel ellenőrizzük a minták eltarthatóságát, és szükség esetén kisebb-nagyobb módosításokkal újabb mintákat fagyasztunk le.

## Irodalomjegyzék

- Bakst, M. R. and Sexton, T. J. (1979): Fertilizing capacity and ultrastructure of fowl and turkey spermatozoa before and after freezing. *Journal of Reproduction and Fertility* 55: 1-7.
- Barna, J., Végi, B., Váradi, É. (2008): Comparison of various freezing protocols of native roosters' semen. *Reproduction in Domestic Animals* 43(3): 139.
- Barna, J., Végi, B., Váradi, É., Liptói, K. (2010): Comparative study on cryopreservation procedures of gander sperm. Proc. XIII European Poultry Conference, 23-27 August 2010, Tours, France. *World's Poultry Science Journal*, 66: 508.
- Barna, J., Váradi, É., Drobnyák Á. (2013): Trials on chicken sperm vitrification. CRYOBIRD Final Meeting, 15-16 October 2013, St Malo, France
- Blanco, J. M., Gee, G., Wildt, D. E., Donoghue, A. M. (2000): Species variation in osmotic, cryoprotectant and cooling rate tolerance in poultry, eagle and falcon spermatozoa. *Biology of Reproduction* 63: 1164-1171.
- Blanco, J. M., Long, J. A., Gee, G., Wildt, D. E., Donoghue, A. M. (2011): Comparative cryopreservation of avian spermatozoa: benefits of non-permeating osmoprotectants and ATP on turkey and crane sperm cryosurvival. *Animal Reproduction Science* 123: 242-248.

- Blesbois, E., Grasseau, I., Seigneurin, F. (2005): Membrane fluidity and the ability to survive cryopreservation in domestic bird spermatozoa. *Reproduction* 129: 371-378.
- Blesbois, E. (2006): Advances in avian semen cryopreservation. Proc. XII European Poultry Conference, 10-14 September 2006, Verona, Italy. *World's Poultry Science Journal* 62: 519.
- Blesbois, E. (2007): Current status in avian semen cryopreservation. *World's Poultry Science Journal* 63: 213-222.
- Chalah, T., Seigneurin, F., Blesbois, E., Brillard, J. P. (1999): *In Vitro* Comparison of Fowl Sperm Viability in Ejaculates Frozen by Three Different Techniques and Relationship with Subsequent Fertility *in Vivo*. *Cryobiology* 39: 185-191.
- Dubos, F., Lemoine, M., Seigneurin, F., Mialon-Richard, M. M., Grasseau, I., Guy, G., Blesbois, E. (2008): Cryopreservation of landese gander semen. Proc. XXIII. World's Poultry Congress, 30 June- 4 July 2008, Brisbane, Australia. *World's Poultry Science Journal* 64(2): 147.
- Ehling, C., Taylor, U., Baulain, U., Weigend, S., Henning, M., Rath, D. (2012): Cryopreservation of semen from genetic resource chicken lines. *Agriculture and Forestry Research* 62: 151-158.
- FAO (2012): Cryoconservation of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines, No. 12, Rome
- Gerzilov, V. (2010): Influence of various cryoprotectants on the sperm mobility of Muscovy semen before and after cryopreservation. *Agricultural Science and Technology* 2: 57-60.
- Gill, S. P. S., Buss, E. G., Mallis, R. J. (1996): Cryopreservation of Rooster Semen in Thirteen and Sixteen Percent Glycerol. *Poultry Science* 75: 254-256.
- Han, X. F., Niu, Z. Y., Liu, F. Z., Yang, C. S. (2005): Effects of Diluents, Cryoprotectants, Equilibration Time and Thawing Temperature on Cryopreservation of Duck Semen. *International Journal of Poultry Science* 4: 197-201.
- Hanzawa, S., Niinomi, T., Takahashi, R., Yamaguchi, K., Miyata, T., Tajima, A. (2006): New method of freezing chicken semen using N-methyl-acetamide as cryoprotecting agent. Proc. XII European Poultry Conference, 10-14 September 2006, Verona, Italy. *World's Poultry Science Journal* 62: 519.
- Holt, V. W. (2000): Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science* 62: 3-22.
- Hübner, R., Schramm, G. P. (1988): Untersuchungen über die kryoprotektive Eignung von Äthylenglykol und Dimethylacetamid zur Tiefgefrierkonservierung von Hahnensperma. *Monatshefte für Veterinarmedizin* 43(8): 279-282.
- Iaffaldano, N., Romagnoli, L., Manchisi, A., Rosato, M. P. (2011): Cryopreservation of turkey semen by pellet method: Effects of variables such as the extender, cryoprotectant concentration, cooling time and warming temperature on sperm quality determined through principal component analysis. *Theriogenology* 76: 794-801.
- Kowalczyk, A., Łukaszewicz, E. (2012): The possibility of obtaining intergeneric hybrids via White Koluda (*Anser anser* L.) goose insemination with fresh and frozen-thawed Canada goose (*Branta canadensis* L.) gander semen. *Theriogenology* 77: 507-513.
- Lake, P. E. (1968): Observation on freezing fowl spermatozoa in liquid nitrogen. 6th International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination, 22-26 July, 1968, Paris, France. 1633-1635. p.
- Lake, P. E., Stewart, J. M. (1978): Preservation of fowl semen in liquid-nitrogen – improved method. *British Poultry Science* 19(2): 187-194.
- Long, J. A., Purdy, P. H., Zuidberg, K., Hiemstra, S. J., Velleman, S. G., Woelders, H. (2014): Cryopreservation of turkey semen: Effect of breeding line and freezing method on post-thaw sperm quality, fertilization, and hatching. *Cryobiology* 68: 371-378.
- Łukaszewicz, E. (2001): DMF effects on frozen gander semen. *British Poultry Science* 42: 308-314.
- Łukaszewicz, E. (2002): An effective method for freezing White Italian gander semen. *Theriogenology* 58: 19-27.
- MacPherson, J. W., Chatterjee, S., Friars, G. W. (1969): Frozen turkey semen. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 33: 37-38.
- Massip, A., Leibo, S. P., Blesbois, E. (2004): Cryobiology of gametes and the breeding of domestic animals. In: Benson, E., Fuller, B., Lane, N. (eds.): *Life in the Frozen State*, Taylor and Francis Group, London, GBR. 12: 371-392. p.



- Mphaphathi, M. L., Luseba, D., Sutherland, B., Nedambale, T. L. (2012): Comparison of slow freezing and vitrification methods for Venda cockerel's spermatozoa. *Open Journal of Animal Sciences* 2: 204-210.
- Neville, W. J., Macpherson, J. W., Reinhart, B. (1971): The contraceptive action of glycerol in chickens. *Poultry Science* 50: 1411-1415.
- Oderkirk, A. H. F., Buckland, R. B. (1977): A comparison of diluents and cryopreservatives for freezing turkey semen. *Poultry Science* 56: 1861-1867.
- Penfold, L. M., Harnal, V., Lynch, W., Bird, D., Derrickson, S. R., Wildt, D. E. (2001): Characterization of Northern pintail (*Anas acuta*) ejaculate and the effect of sperm preservation on fertility. *Reproduction* 121: 267-275.
- Sakhatsky, N. I., Andreyev, V. I., Artemenko, A. B. (1995): Technology of goose sperm low temperature conservation. *Proc. 10th European Symposium on Waterfowl*, 26-31 March 1995, Halle, Germany. 283-285. p.
- Sasaki, K., Tatsumi, T., Tsutsui, M., Niinomi, T., Imai, T., Naito, M., Tajima, A., Nishi, Y. (2010): A Method for Cryopreserving Semen from Yakido Roosters using N-Methylacetamide as a Cryoprotective Agent. *Journal of Poultry Science* 47: 297-301.
- Schramm, G.P., Hübner, R. (1988): Einfluss differenzierter Kryoprotektiva und Gefrierverfahren auf die reproduktive Leistung von langzeitgelagertem Putersperma. *Monatshefte für Veterinärmedizin* 43: 426-427.
- Schramm, G. P., Hübner, R. (1989): Konservierung von Geflügelsperma. *Archiv für Tierzucht* 32: 51-61.
- Seigneurin, F., Blesbois, E. (1995): Effects of the freezing rate on viability and fertility of frozen-thawed fowl spermatozoa. *Theriogenology* 43: 1351-1358.
- Seigneurin, F., Blesbois, E. (2006): The first method of cryopreservation of guinea fowl semen. *Journées de la Recherche Avicole* 23: 1-2.
- Seigneurin, F., Grasseau, I., Chapuis, H., Blesbois, E. (2013): An efficient method of guinea fowl sperm cryopreservation. *Poultry Science* 92: 2988-2996.
- Sexton, T. J. (1980): Optimal freezing rate for cooling chicken semen from +5°C to -196°C. *Poultry Science* 59: 2765-2770.
- Tai, J. J., Chen, J. C., Wu, K. C., Wang, S. D., Tai, C. (2001): Cryopreservation of gander semen. *British Poultry Science* 42: 384-388.
- Tajima, A., Graham, E. F., Shoffner, R. N., Otis, J. S., Hawkins, D. M. (1990): Research Note: Cryopreservation of Semen from Unique Lines of Chicken Germ Plasm. *Poultry Science* 69: 999-1002.
- Tereshchenko, A. V., Artemenko, A. B., Sakhatsky, N. I. (1992): Cryopreservation of chicken semen. *Proc. of the 12th International Congress of Animal Reproduction*, 23-27 August 1992, Hague, The Netherlands. 1602-1604. p.
- Tselutin, K., Narubina, L., Mavrodina, D., Tur, B. (1995): Cryopreservation of poultry semen. *British Poultry Science* 36: 805-811.
- Van Voorst, A., Leestra, F. R. (1995): Fertility rate of daily collected and cryopreserved fowl semen. *Poultry Science* 74: 136-140.
- Váradí, É., Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2013): Methods for Cryopreservation of Guinea Fowl Sperm. *PLoS One* 8(4): e62759.
- Váradí, É., Drobnyák, Á., Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2015): Study on the effect of various combinations of cryoprotectants used in gander sperm freezing. *8th Hungarian-Vietnamese Symposium*, 23-27 September 2015, Budapest-Gödöllő, Hungary
- Váradí É. (2016): Himivarsejtek és a korai ivarszerv-szövetek mélyhűtéses tartósításának fejlesztése baromfifajokban génmegőrzési célokból. *Doktori értekezés*. Szent István Egyetem, Gödöllő
- Wishart, G. J. and Palmer, F. H. (1986): The effect of cryopreservation at -196°C on the viability of fowl and turkey spermatozoa assessed *in vitro*. *Animal Reproduction Science* 10: 317-324.
- Wishart, G. J., Hartley, P. S. (1998): Cryoconservation of avian species. *Cryoletters* 1: 39-46.
- Woelders, H., Zuidberg, C. A., Hiemstra, S. J. (2006): Animal genetic resources conservation in The Netherlands and Europe: poultry perspective. *Poultry Science* 85: 216-222.
- Zavos, P. M., Graham, E. F. (1983): Effects of various degrees of supercooling and nucleation temperatures on fertility of frozen turkey semen. *Cryobiology* 20: 553-559.

## Mindkét ivar megőrzése embrionális sejtek segítségével különböző baromfifajokban

PATAKINÉ VÁRKONYI ESZTER – GÓCZA ELEN – LÁZÁR BENCE – SZTÁN NIKOLETTA

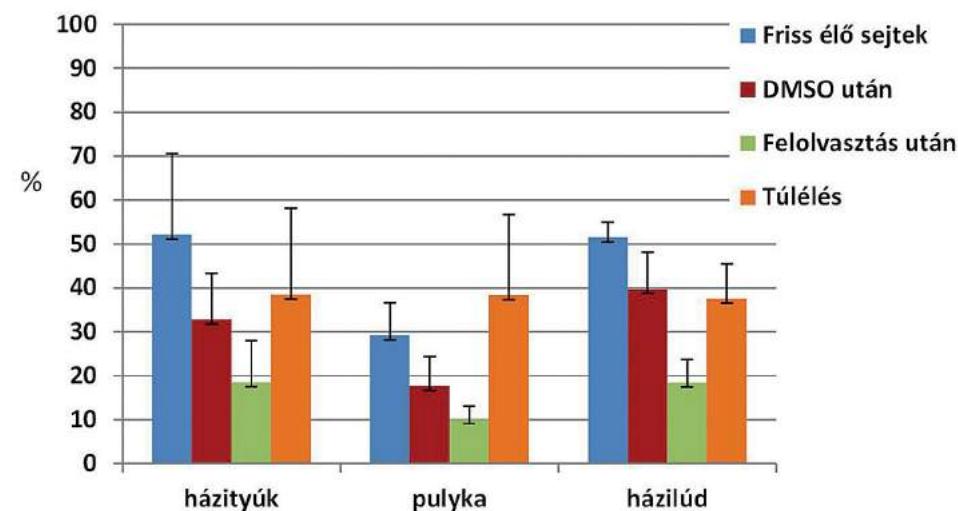


## Blasztodermális sejtek mélyhűtésének tapasztalatai különböző baromfifajokban (őshonos házityúk-fajták, réz- és bronzpulyka, házi lúd és gyöngytyúk)

A baromfi embrionális sejtek segítségével történő génmegőrzéséhez elengedhetetlen az embrionális sejtek mélyhűtéses tárolásának kidolgozása. Blasztodermális sejtek sikeres mélyhűtéséről, majd ezek felhasználásáról a génmegőrzésben elsőként 1992-ben Naito és munkatársai számoltak be. Japán fűrj blasztodermális sejteket izoláltak embrióból és a krioprotektív anyagok hozzáadása után (10% DMSO),  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on három órára mélyhűtőládába helyezték a fagyasztócsőben tárolt sejtszuszpenziót. A hűtési sebesség  $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{perc}$  volt. A lehűtött anyagot ezután folyékony nitrogénben tárolták 1–7 napig. A felolvasztás  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőben történt. 1993-ban Petite és munkatársai házi tyúk esetében számoltak be sikeres blasztodermális sejt mélyhűtéséről. Ezekben az első vizsgálatokban 2–3%-os kiméra produkciót értek el a felolvasztott sejtek mikroinjektálása után. A kimérelőállítás rossz hatékonyságát Reedy és munkatársai (1995) azzal magyarázták, hogy a szubgerminális üregbe 500 db sejtnek többet nem lehet injektálni, és a mélyhűtött/felolvasztott sejtek életképessége csak 33% körül mozog. Így az élő sejtek mennyisége sokkal alacsonyabb, mint friss sejtek injektálása esetén. Vizsgálatainkban az embriók 12,3%-a kelt ki, és ezekből 22,4% bizonyult kimérának a tollszín alapján. 1997-ben Kino és munkatársainak sikerült először ivarszervi kimérát előállítani mélyhűtött/felolvasztott házi tyúk blasztodermális sejtek visszaültetésével. A mélyhűtési paraméterek optimalizálásával, a különböző módszerek összehasonlításával, más madárfajok embrionális sejtjeinek mélyhűtésével nagyon kevés kutatócsoport foglalkozik. Sawiczka és munkatársai 2015-ben három lassú mélyhűtési program, a vitrifikáció, három védőanyag-kombináció (5% DMSO, 10% DMSO, többkomponensű védőanyag (MC)) és két felolvasztási módszer hatását vizsgálták házi tyúk blasztodermális sejtek életképességére vonatkozóan. A legjobb kombinációval 94%-os felolvasztás utáni túlélést sikerült elérniük.

A baromfi embrionális sejtek mélyhűtésére irányuló kutatásainkban a baromfifajok (házi lúd, gyöngytyúk, pulyka) speciális igényeire, illetve a fajtától származó embrionális sejtek mélyhűthetőségének esetleges különbségeire (őshonos tyúkfajták, réz- és bronzpulyka) helyeztük a hangsúlyt (Patakiné és munkatársai, 2008; 2010; 2016). Minden fajnál vizsgáltuk a különböző krioprotektáns kombinációk (20%, illetve 10% DMSO, 5% DMSO+5% etilén-glikol), a tároló konténerek (szalma, ampulla), illetve a hűtési sebesség hatásait (Sztán és munkatársai, 2012). Megállapítottuk, hogy se a házityúk-fajtáink (sárga magyar tyúk, fehér magyar tyúk, fogolyszínű magyar tyúk és a kendermagos erdélyi kopasz nyakú tyúk), se a két pulykafajta (réz- és bronzpulyka) embrionális sejtjeinek mélyhűthetősége között nincs különbség. Amennyiben a fajok közötti különbséget vizsgáljuk, megállapítható, hogy kiinduláskor az élő, friss sejtek aránya a pulykánál szignifikánsan alacsonyabb volt a másik két fajhoz képest ( $p \leq 0,01$ ). A védőanyag hozzáadása után a lúd élő sejtaránya szignifikánsan meghaladta a tyúkét és a pulykát ( $p \leq 0,01$ ), azaz a védőanyagok toxikus hatására a lúd embrionális sejtek voltak a legkevésbé érzékenyek. A mélyhűtés/felolvasztás utáni túlélést vizsgálva azonban sem a szalmák, sem az ampullák esetében nincs különbség a három faj között (16. ábra).

Hatékony protokollt dolgoztunk ki a gyöngytyúk blasztodermális sejtjeinek mélyhűtéses tárolására (Patakiné Várkonyi és munkatársai, 2016), mely szerint a  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő sejtki-



16. ábra. Őshonos házityúk-, pulyka- és házilúd-fajok embrionális sejtjeinek mélyhűtési eredményei

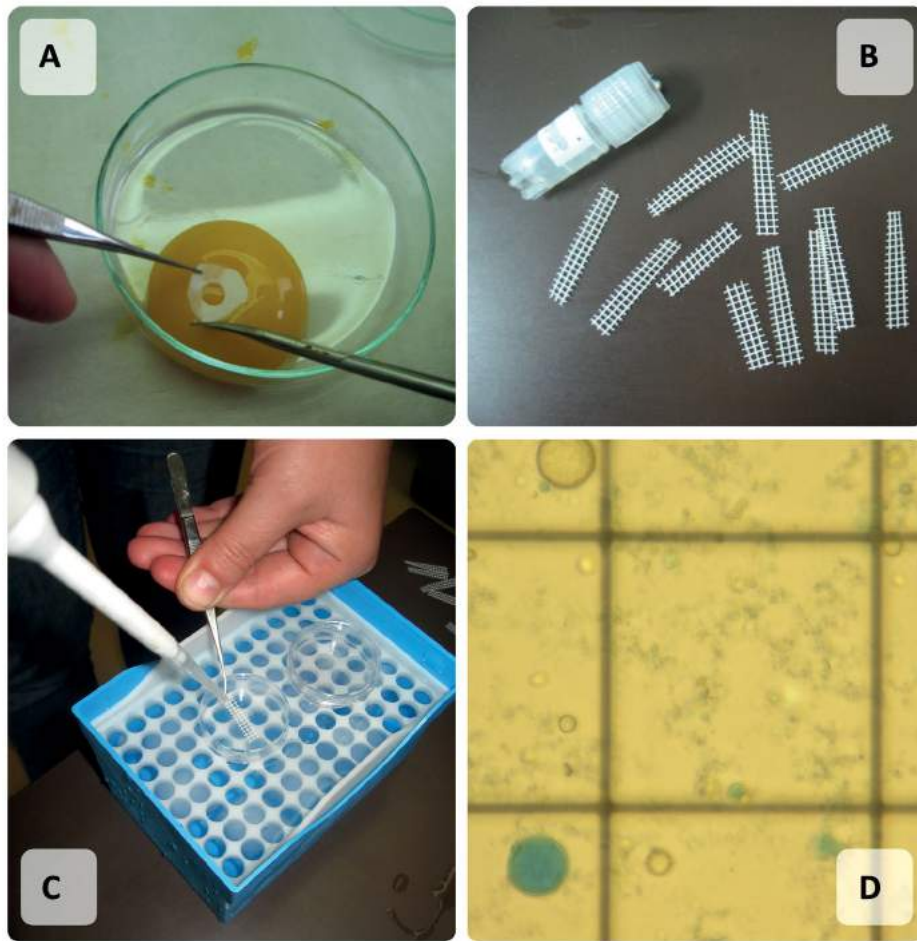
nyerés, az 5% DMSO + 5% EG krioprotektáns kombináció alkalmazása ampullás tárolással bizonyult a legalkalmasabbnak (túlélés 70,5%) a gyöngytyúk embrionális sejtek sikeres, hosszú távú megőrzésére.

A lassú mélyhűtés mellett megvizsgáltuk a vitrifikáció alkalmazásának lehetőségét is (Patakiné és munkatársai, 2012) házityúk-fajnál. A blasztodermális sejtek vitrifikálásánál az a probléma merült fel, hogy az injektáláshoz nem elég néhány sejt, nagyobb mennyiséget kell beültetni (800–1000 db) a hatékony kimérelőállításához. A vitrifikációnál általánosan használt eszközök (cryotop, cryoloop) viszont ezt nem teszik lehetővé. A kísérletek során egy általunk fejlesztett hálós hordozófelületet (17. ábra, A és B) hasonlítottunk össze a pellet formában történő extra gyors hűtéssel. Az eredményeink szerint a műanyag háló szignifikánsan jobb eredményt adott ( $p < 0,01$ ), mint a pellet (16 vs. 4%, 17. ábra, C és D).

## Kimérák előállítása blasztodermális sejtek injektálásával házi tyúk-, pulyka- és házilúd-fajokban

Mint azt már az előzőekben ismertettük, a tyúkfajban elsőként 1990-ben Petite és munkatársai állítottak elő kimérát. Ebben a vizsgálatban 53 tojásból 4 csibe (7,5%), és ebből egy élő fenotípusos kiméra kelt ki (1,88%). Azóta a módszer finomításával több kutatócsoport hozott létre tyúkkimérákat. Bednarczyk és munkatársai eddigi legeredményesebb, blasztodermális sejtek átvitelével végzett kimérelőállítás során 41%-os kelési eredményt értek el, és a kikelt naposcsibék 86,9%-a volt fenotípusos kiméra (Bednarczyk és munkatársai, 2002). Eddig a legtöbb vizsgálat házi tyúk, illetve fűrj embrionális sejtek felhasználására irányult. Saját vizsgálatainkon (Sztán és munkatársai, 2012) kívül víziszárnyas fajokon Bednarczyk és munkatársai (2003) próbálkoztak először kiméra-előállítással, sikertelenül. Kacsában 3,1%-os, libánál 6,1%-os kelési eredményekről számoltak be, és a kikelték között nem volt egyetlen fenotípusos kiméra





17. ábra. A: Blastodermális sejtsuszpenzió előállítása, B: Műanyag hordozófelület felhasználása a vitrifikáláshoz, C: A sejtsuszpenzió betöltése a hálóba jégen, D: Élő és holt embrionális sejtek a felolvasztás után (Fotó: Patakiné Várkonyi Eszter)

sem. Ezért saját vizsgálataink tervezésekor elsősorban olyan fajokra koncentráltunk, amelyeket a nemzetközi kutatások során mellőztek, de a génmegőrzésük ugyanúgy szükséges, mint a házi tyúké. Az alapvető munkafolyamatok baromfifajtól függetlenül a következők: a blastodermális sejtek kinyerése a megőrzendő (donor) fajtából, az embrionális sejtek injektálása a recipiens embrióba: a kiméra előállítása. A tojáson nyitott „ablak” lezárása és a tojások keltetése. A keltetés során kiesett tojások vizsgálata, a kikelt fenotípusos kimérák tesztelése, az esetleges ivarszervi kimériszmus feltárása vagy mikroszatellit markervizsgálata.

A módszertani alapokat házityúk-fajtákon dolgoztuk ki (Várkonyi és munkatársai 1995; 1996; 1997). Blastodermális sejtsuszpenzió X. stádiumú (EG-K) recipiens embrió szubgerminális üregébe injektálásával sikeresen állítottunk elő kimérákat. A 312 db injektált tojásból 59 db naposcsibe (19%) kelt ki, ebből 11 csibe bizonyult fenotípusos kimérának. A kidolgozott

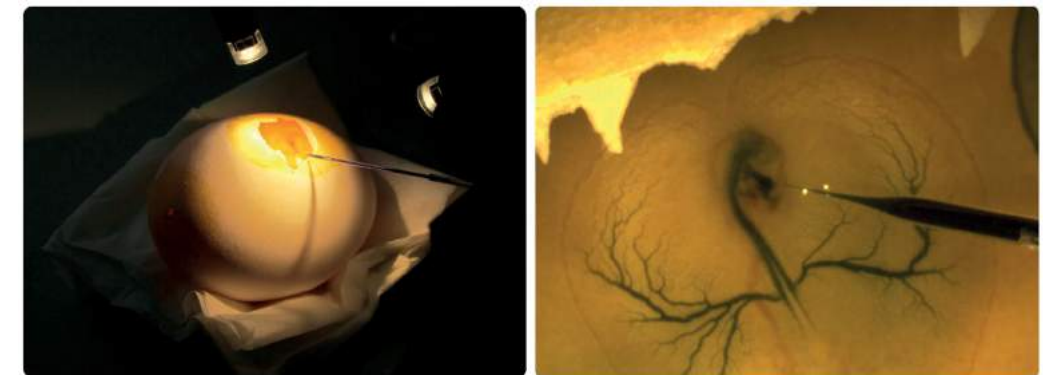
módszert az őshonos bronzpulykára adaptáltuk először (Héjja és munkatársai, 2006). A vizsgálat során a 107 injektált tojásból 31 pulykapipe kelt ki (29%), melyek közül 2 db (6,5%) bizonyult fenotípusos kimérának (18. ábra, bal oldali kép). A módszert házilúd-fajra is átdolgoztuk, néhány módszertani változtatással. Ennél a fajnál a csírákorong nem emelkedik fel a tárolás folyamán, így a tojás oldalán készített ablakon keresztül injektáltunk. Injektálás után az ablakot kétrétegű laboratóriumi parafilmmel fedtük le. A 48 db kezelt tojásból 1 naposliba kelt ki (2,08%), amely fenotípusos kimérának (18. ábra, jobb oldali kép) bizonyult.

Egy véletlenül kilámpázott élő embrió is a tollszín alapján kiméra volt, és az elhalt embriók vizsgálata során további két fenotípusos kimérát találtunk. Tehát a 48 db injektált tojásból összesen 4 fenotípusos kiméra (8,33%) kelhetett volna ki.

Mint azt a következő fejezetben részletesen leírjuk, az ősvarsejtek donor embrióból való kinyerésének, tisztításának és felsokszorosításának nagy az infrastruktúra- és a képzett humán erőforrás-igénye, ami nem minden laboratóriumban áll rendelkezésre. A blasztodermális eredetű összejtek nagyon korai embrióba (X. stádium) történő injektálásának viszont kisebb a hatékonysága az ivarszervi kiméraelőállítást illetően. Ezért a két módszert ötvözve kidolgoztunk ki egy új technikát, amely szerint blasztodermális sejtsuszpenziót injektáltunk 3 napos



18. ábra. Növendék pulyka- és ivarérett házilúd-kiméra (Fotó: Patakiné Várkonyi Eszter)



19. ábra. Lúdembrió injektálása mikromanipulátor segítségével. A vitális festékkel (Fast green) jelölt blasztodermális sejtsuszpenzió szétáramlása az embrió vérkeringésében (Fotó: Sztán Nikolettta)

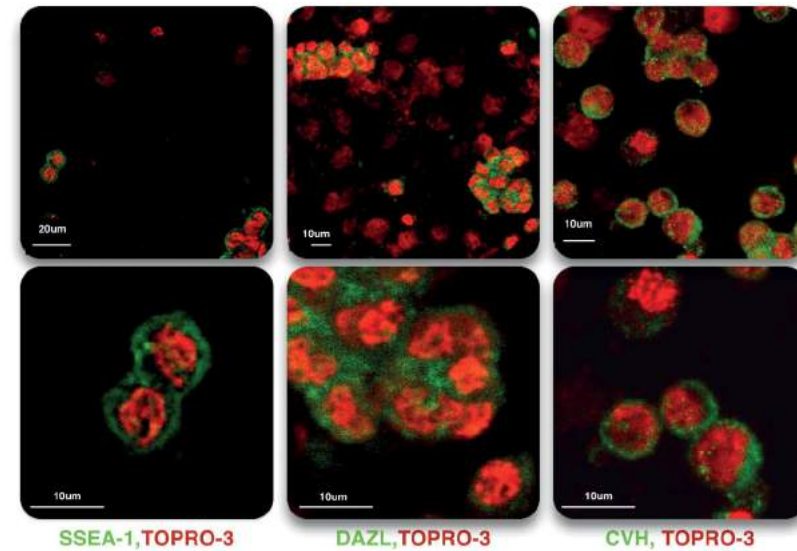
lúdembrió (HH14-17) véráramába, abban az időszakban, amikor az ősvarsejtek vándorlása történik az embrionális ivarszervekbe (19. ábra). Abból indultunk ki, hogy már a korai embrionális őssejtek között is található ősvarsejtek, amelyeket a megfelelő időszakban az embrióba juttatva azok elvándorolnak a rendeltetési helyükre, így növelve az ivarszervi kimérák arányát.

A vizsgálatok pontos kivitelezéséhez először meghatároztuk a lúd embriófejlődésének azt az időszakát, amikor a PG-sejtek vándorolnak az embrióban (HH14-17). Megállapítottuk, hogy lúdban ez a keltetés 69–84 órája között következik be, tehát a donor blasztodermális sejteket ebben az időszakban kell bejuttatni. 249 egészséges lúdembriót injektáltunk blasztodermális sejtszuszpenzióval a 19. ábrán bemutatott módszerrel. 83 embrió haladta meg a fejlődés 10. napját és ezek közül 19 db kelt ki (7,63%). Az elhalt embriókon és a kikelt naposlibákon mikroszatellit markeranalízist végeztünk, hogy megállapítsuk a donor sejtek jelenlétét és elhelyezkedését a recipiens egyedekben. A vizsgálatok alapján négy egyed (4,8%) bizonyult kimérának, melyek közül 3 ivarszervi kiméra volt. Megállapítottuk azt is, hogy a keltetés 74–75. órájában végzett injektálás a leghatékonyabb lúd ivarszervi kiméra előállítására (Sztán és munkatársai 2017).

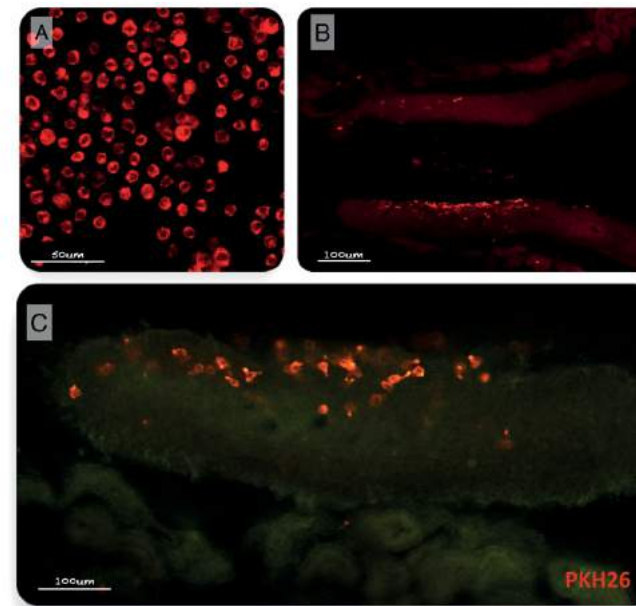
### PG-sejtek átültetésén alapuló ivarszervi kimérelőállítás házityúk-fajban (a sejtek kinyerése, tenyésztése, mélyhűtése, jellemzése és visszaültetése), mint a génbanki megőrzés egyik alternatívája

Számos nemzetközi példát találunk értékes őshonos fajták, illetve veszélyeztetett fajok megőrzését célzó, ősvarsejt alapú génmegőrzési programokra. Sikeresen alkalmazták ezt a módszert a japán őshonos Gifujidori házityúk-fajta genetikai megőrzésében (Nakamura és munkatársai, 2010). Szintén japán kutatók adaptálták az ősvarsejt alapú módszert japán fűjre (*Coturnix japonica*) (Nakamura és munkatársai, 2013). Érdekes kísérletet folytattak továbbá a galléros tűzokkal (*Chlamydotis undulata*) az Egyesült Arab Emírségekben, mert a faj populációcsökkenését a hagyományos módszerekkel nem tudták megállítani, és az ősvarsejt alapú megőrzéshez fordultak. A kutatók sikeresen hoztak létre ivarszervi kiméra utódokat, majd azokat keresztezve tisztán tűzokfiókat (Wernery és munkatársai, 2010). Koreai kutatók sikeres kísérletet hajtottak végre fácán esetében is, ahol az izolált fácán PG-sejteket házi tyúk recipiensbe injektáltak és így kaptak egészséges ivarszervi kimérákat, majd a donor genotípussal megegyező utódokat a visszakeresztezést követően (Kang és munkatársai, 2008). Láthatjuk tehát, hogy az ősvarsejt alapú génmegőrzési rendszer működőképes.

Magyarországon a Haszonállat-génmegőrzési Központ feladata az őshonos haszonállatfajok megőrzése, az országos munka koordinálása. Az intézetben kialakított *ex situ, in vitro* génbankban eddig elsősorban az őshonos baromfifajok és -fajták spermamintáit helyezték el. A NAIK MBK közreműködésével célunk az *in vitro* génmegőrzés kiterjesztése a nőivarra is, ősvarsejtek tárolásával. Az ősvarsejtek szövettenyésztésben történő fenntartása és a sejtek felszaporítása nagyon speciális tápoldat-összetevőket igényel, amelyeket a leggyakrabban használt kísérleti fajtára, a White Leghorn-ra dolgoztak ki. Ezért egyáltalán nem volt biztos, hogy ennek segítségével őshonos tyúkfajtáink PG-sejtjei is fenntarthatók lesznek. Első lépésként a fogolyszínű magyar tyúkfajtát használtuk a módszerek tesztelésére a későbbi munkákhoz.



20. ábra. A fogolyszínű magyar tyúkfajta ősvarsejtjei szövettenyésztésben. A fenntartás során az ivarsejtképző képességet folyamatosan ellenőriztük immun-hisztokémiai festésekkel. Az SSEA-1 őssejtekre, míg a DAZL és a CVH ősvarsejtekre specifikus marker. A sejtmagokat TOPRO-3-mal jelöltük (Fotó: Lázár Bence)



21. ábra. A fogolyszínű magyar tyúkfajta *in vitro* fenntartott és mélyhűtött sejtjeinek funkcionális ellenőrzése. A. Az ősvarsejteket fluoreszcens sejtfelületi festékekkel jelöltük (PKH26); B-C. A jelölt sejteket recipiens embriókba injektáltuk, ahol a vérkeringés segítségével elvándoroltak a fejlődő ivarszervekig és kolonizálták azokat (Fotó: Lázár Bence)



Nem egyedi ősvarsejt-tenyészetek kialakítása volt a cél, hanem minél több sejt begyűjtése a tenyésztés, fagyasztás és a recipiens embrióba injektálás kidolgozásához. Hús fogolyszínű magyar tyúkembrióból származó vérmintát kevertünk össze, majd PG sejtspecifikus médiumban CO<sub>2</sub> termosztátba helyeztük (*Whyte és munkatársai, 2015*). Három hét elteltével a tenyészetben a vérésejtek elhaltak, míg a PG-sejtek osztódni kezdtek, és homogén tenyészetet hoztak létre. Ezek után további két hónapon keresztül folytattuk az *in vitro* fenntartást, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy az ősvarsejtek hosszú távon is osztódnak a tenyésztő közegben. A tenyésztés során mintát vettünk immun-hisztokémiai vizsgálatokhoz (*20. ábra*), és mélyhűtöttük az ősvarsejteket. A mélyhűtéshez 8% DMSO és 10% házityúk-szérum tartalmú DMEM médiumot használtunk (*Nandi és munkatársai, 2016*). A felolvasztás után mért túlélés átlagosan 50% volt, mely megfelel a szakirodalmi adatoknak. Setioko és munkatársai White Leghorn fajtán (*Setioko és munkatársai, 2007*), míg Nakamura és kollégái az egyiptomi eredetű *Fayoumi* (*Nakamura és munkatársai, 2011*) és a japán Gifujidori fajtával (*Nakamura és munkatársai, 2010*), illetve japán fűrjével érték el hasonló arányú fagyasztás utáni túlélést (*Nakamura és munkatársai, 2013*). A felolvasztott sejteket további tenyésztést követően fluoreszcens sejtfelületi festékkel jelöltük (PKH26, Sigma), majd HH16-os stádiumú recipiens embriókba injektáltuk. A recipiens embriók ivarszerveit 6 napos korban vizsgáltuk a jelölt donor sejtek jelenlétét kutatva. Az embriók felében erős beépülés volt tapasztalható. Ebből arra következtethetünk, hogy az általunk adaptált tenyésztési és mélyhűtési protokollok alkalmasak az őshonos tyúkfajták ősvarsejtjeinek fenntartására és tárolására (*21. ábra*). Ezt követően megkezdtük a fogolyszínű magyar tyúktól és a kendermagos erdélyi kopasz nyakú tyúktól származó minták egyedi tenyészetek alapítását, mely jelenleg is folyamatban van. Célunk olyan génbanki gyűjtemények létrehozása és fenntartása, amely fajtánként 50, ezen belül ivaronként 20–25 PG-sejtvonalból áll.

A jövőben szeretnénk adaptálni a módszert további őshonos házityúk-fajtákra (fehér magyar, sárga magyar, kendermagos magyar) és más őshonos baromfifajokra is (pl. fodros tollú magyar lúd, bronzpulyka, rézpulyka vagy magyar parlagi gyöngytyúk).

„Az *in vitro* génmegőrzés tudományos alapjai” című fejezetben bemutatott technikák tehát együttesen lehetőséget biztosítanak madaraknál mindkét ivar genetikai erőforrásainak hatékony *in vitro* megőrzéséhez. Ennek lépései leegyszerűsítve: 1. ősvarsejteket tartalmazó szövet gyűjtése a megőrizni kívánt fajból, fajtából, 2. a sejtek tisztítása, majd megsokszorozása *in vitro* sejtenyészetben, 3. a sejtek mélyhűtéses tárolása, 4. a felolvasztás után a PG-sejtek injektálása fertilis (vagy csökkentett saját PG-sejtszámú) recipiensbe, 5. a megőrizni kívánt donor populáció helyreállítása a kiméra ivarszervet hordozó hím és tojó recipienssek keresztezésével.

## Irodalomjegyzék

- Bednarczyk, M., Lakota, P., Slomski, R., Plawski, A., Lipinski, D., Siemieniako, B., Lisowski, M., Czekalski, P., Grajewski, B., Dłuzniewska, P. (2002): Reconstitution of a chicken breed by inter se mating of germline chimeric birds. *Poultry Science* 81: 1347-1353.
- Bednarczyk, M., Lakota, P. and Grajewski, B. (2003): Evaluating survival chances of duck and goose embryos injected into the subgerminal cavity with blastodermal cells of donors. / *Ocena przeżywalności zarodków*

kaczycy i gęsiach po iniekcji do jamy podzarodkowej komórek blastodermalnych dawców. *Medycyna weterynaryjna* 59(6): 521-524.

- Héjja I., Várkonyi E., Zöldág L., Barna J. (2006): Génmegőrzés lehetősége kimérizmussal pulykában. (előzetes közlemény) *Magyar Állatorvosok Lapja* 128(6): 351-357.
- Kang, S. J., Choi, J. W., Kim, S. Y., Park, K. J., Kim, T. M., Lee, Y. M., Kim, H., Lim, J. M., Han, J. Y. (2008): Reproduction of wild birds via interspecies germ cell transplantation. *Biology of Reproduction* 79: 931-937.
- Naito M., Nirasawa, K., Oishi T. (1992): Preservation of quail blastoderm cells in liquid nitrogen. *British Poultry Science* 33: 449-453.
- Naito, M., Tajima, A., Tagami, T., Yasuda Y., Kuwana, T. (1994): Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable offspring. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 321-325.
- Nakamura, Y., Tasai, M., Takeda, K., Nirasawa, K., Tagami, T. (2013): Production of functional gametes from cryopreserved primordial germ cells of the Japanese quail. *Journal of Reproduction and Development* 59: 580-587.
- Nakamura, Y., Usui, F., Miyahara, D., Mori, T., Ono, T., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2010): Efficient system for preservation and regeneration of genetic resources in chicken: concurrent storage of primordial germ cells and live animals from early embryos of a rare indigenous fowl (Gifujidori). *Reproduction Fertility and Development* 22: 1237-1246.
- Nakamura, Y., Usui, F., Miyahara, D., Mori, T., Watanabe, H., Ono, T., Takeda, K., Nirasawa, K., Kagami, H., Tagami, T. (2011): Viability and functionality of primordial germ cells after freeze-thaw in chickens. *The Journal of Poultry Science* 48: 57-63.
- Nandi, S., Whyte, J., Taylor, L., Sherman, A., Nair, V., Kaiser, P., McGrew, M. J. (2016): Cryopreservation of specialized chicken lines using cultured primordial germ cells. *Poultry Science* 95: 1905-1911.
- Patakiné Várkonyi E., Molnár M., Sztán N., Váradi É., Végi B., Pusztai P. (2016): Egy értékes hazai baromfifajtánk, a magyar parlagi gyöngytyúk (*Numida meleagris*) embrionális blasztoderma sejtjeinek mélyhűtése génmegőrzés céljából. *Magyar Állatorvosok Lapja* 138: 673-680.
- Patakiné Várkonyi, E., Horváth, G., Sztán, N., Váradi, É., Barna, J. (2012): Vitrification of early avian blastodermal cells with a new type of cryocontainer. *Acta Veterinaria Hungarica* 60(4): 501-509.
- Patakiné Várkonyi, E., Végi, B., Váradi, É., Barna, J. (2010): Comparison of cryopreservation methods of blastodermal cells of various indigenous Hungarian poultry breeds. *World Poultry Science Journal* 66(Supplement): 485.
- Patakiné Várkonyi, E., Végi, B., Váradi, É., Liptói, K., Barna, J. (2008): Embryonic cell manipulation of geese for gene preservation purposes. *World's Poultry Science Journal* 64(2): 552.
- Petitte J. N., Brazolot C. L., Clark M. E., Liu G, Verrinder Gibbins A. M. Etches R. J. (1993): Accessing the genome of the chicken using germline chimeras. In *Manipulation of the Avian Genome*. R. J. Etches and A. M. Verrinder Gibbins eds. CRC Press, Boca Raton. 81-101 p.
- Reedy, S. E., S. P. Leibo, M. E. Clark, R. J. Etches, (1995): Beyond freezing semen. Pages 251-261 in: *Proceedings First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry*. M. R. Bakst and G. J. Wishart, eds. Poultry Science Association, Savoy, IL.
- Sawicka D., Chojnacka-Puchta L., Brzezinska J., Lakota P., Bednarczyk M. (2015): Cryoconservation of chicken blastodermal cells: Effects of slow freezing, vitrification, cryoprotectant type and thawing method during *in vitro* processing. *Folia Biologica* 63(2): 129-134.
- Setioko, A. R., Tagami, T., Tase, H., Nakamura, Y., Takeda, K., Nirasawa, K. (2007): Cryopreservation of primordial germ cells (PGCs) from White Leghorn embryos using commercial cryoprotectants. *The Journal of Poultry Science* 44: 73-77.
- Sztán N., Patakiné Várkonyi E., Liptói K., Barna J. (2012): Baromfifajok embrionális sejtjeinek kezelésével szerzett tapasztalatok. *Magyar Állatorvosok Lapja* 134(8): 475-481.
- Sztán, N., Lázár, B., Bodzsár, N., Végi, B., Liptói, K., Pain, B., Patakiné Várkonyi E. (2017): Successful chimera production in the Hungarian goose (*Anser anser domestica*) by intracardiac injection of blastodermal cells in 3-day-old embryos. *Reproduction, Fertility and Development Online early*: <http://dx.doi.org/10.1071/RD16289>

- Várkonyi E., Hidas A., Szalay I. (1995): Production of chicken chimaeras by blastoderm cell transfer. In: Proceedings of First Egyptian-Hungarian Poultry Conference, 17-19 September, Alexandria, Egypt. Part I. 10-13 p.
- Várkonyi E., Hidas A., Szalay I. (1997): Manipulation of poultry embryonic cells. Zeszty Naukowe Przeglądu Hodowlanego 31: 240-241.
- Várkonyi, E. (1996): Using of new methods in the poultry breeding and the gene preservation. In: Proceedings of XX. World's Poultry Congress and Exhibition, 2-8 September, New Delhi, India. Vol. IV., 14 p.
- Wernery, U., Liu, C., Baskar, V., Guerineche, Z., Khazanehdari, K.A., Saleem, S., Kinne, J., Wernery, R., Griffin, D.K., Chang, I. K. (2010): Primordial germ cell-mediated chimera technology produces viable pure-line Houbara Bustard offspring: potential for repopulating an endangered species. PLoS One 5(12): e15824.
- Whyte, J., Glover, J.D., Woodcock, M., Brzeszczynska, J., Taylor, L., Sherman, A., Kaiser, P., McGrew, M. J. (2015): FGF, insulin, and SMAD signaling cooperate for avian primordial germ cell self-renewal. Stem Cell Reports 5: 1171-1182.

## **A naposkori ivarszervszövet-átültetés, mint a nőivar megőrzésének alternatív módszere baromfiban**

LIPTÓI KRISZTINA – HORVÁTH GABRIELLA – VÁRADI ÉVA – BARNA JUDIT

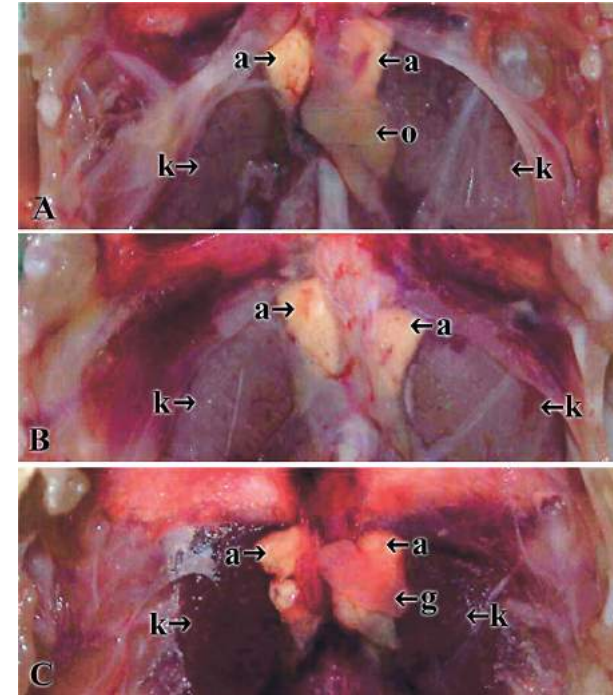




## Baromfi *in vitro* génmegőrzés ivarszervszövet-átültetés segítségével

A baromfi *in vitro* génmegőrzés jelenleg a gyakorlatban a spermium mélyhűtött tárolására korlátozódik. Madarak esetében a nőivar heterogametikus (ZW), a hímivar homogametikus (ZZ), így a spermiumok csak Z ivari kromoszómát tartalmaznak. Ha az eredeti genotípust a spermabankban tárolt minták segítségével szeretnénk rekonstruálni, ez közelítőleg 99%-ban lehetséges akkor, ha egy tetszőleges tyúkfajtát kiválasztva, az utódokat 6–7 generáción keresztül mindig a tárolt spermiummal termékenyítve szaporítjuk. A W ivari kromoszómát is hordozó petesejt és az embrió madarak esetében nem fagyasztható. Ennek oka egyrészt az, hogy a nagy mennyiségű szik magas víztartalma nem teszi lehetővé a jégkristályok képződése nélküli mélyhűtést, másrészt az embrionális fejlődéshez szükség van a többi tojásalkotóra (fehérje, tojásbél), amelyek pótlása komoly technikai problémát jelentene. Felmerült az igény baromfi esetében is egy olyan módszer kidolgozására, amelynek segítségével a nőivar bevonható a génmegőrzésbe. Több emlősfajban dolgoztak ki hatékony eljárást a petefészek-szövet fagyasztására és átültetésére, amely felkeltette a baromfi *in vitro* génmegőrzéssel foglalkozó kutatók érdeklődését. Madaraknál azonban a petefészkekben már igen korán, az első életheten olyan méretű tüszők alakulnak ki, amelyek a sziktartalom miatt nem teszik lehetővé a roncsolásmentes fagyasztást és felolvasztást. Bizonyítást nyert viszont, hogy a baromfi petefészek szövetei szerkezete és felépítése napos korban nagyon hasonlít a felnőtt egér petefészkekhez. Az elsődleges oociták marginálisan, a fejlődés szempontjából nyugvó állapotban helyezkednek el. Az emlősöknél alkalmazott módszerekből kiindulva, azokat módosítva madarakban is beszámoltak arról, hogy 35–40 napos korban végzett transzplantáció után 7–12 hónapos korban végzett boncolás során működő donor ivarszervet sikerült kimutatni (Kosenko, 2006). Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a kelést követő első 24 órában létezik egy „immunológiai ablak”, amelyben az átültetett szervek kilökődésének a valószínűsége rendkívül csekély (Song és Silversides, 2007a). A transzplantált szövetek megtapadnak, fejlődnek (22. ábra). Az így létrehozott ivarszervi kiméra tyúkokat az ivaréret követően a donor genotípustól származó fagyasztott/felolvasztott spermiummal mesterségesen termékenyítve, már az első utódgenerációban 100%-ban visszanyerhetjük a megőrizni kívánt genotípust (Song és Silversides, 2006; 2007a; 2007b). Eredményes ivarszervszövet-transzplantációt hajtottak végre japán fürjekben is. Az állatok kis méretüknél fogva nehezen műthetők, így 1 hetes életkorban, immunszuppresszáns adagolása mellett végzett beültetést követően sikerült a donortól származó utódokat nyerni. Elsősorban a baromfi génmegőrzés számára rendkívül előremutató, hogy 1 hetes recipiensekbe 17 hetes, felnőtt fürjektől származó petefészek-szövetdarabkákat ültetve szintén sikerült donor genotípusú utódokat előállítani (Liu és munkatársai, 2013a; 2013b). Song és munkatársai (2012) pekingi naposkacsákba azonos korú pézsmarécből származó petefészekszöveteket ültettek. Az ivarszervi kiméra tojókat ivaréret után pézsmaréce spermiummal termékenyítve pézsmaréce utódokat kaptak, így elsőként számoltak be fajok közötti sikeres ivarszerv-átültetésről.

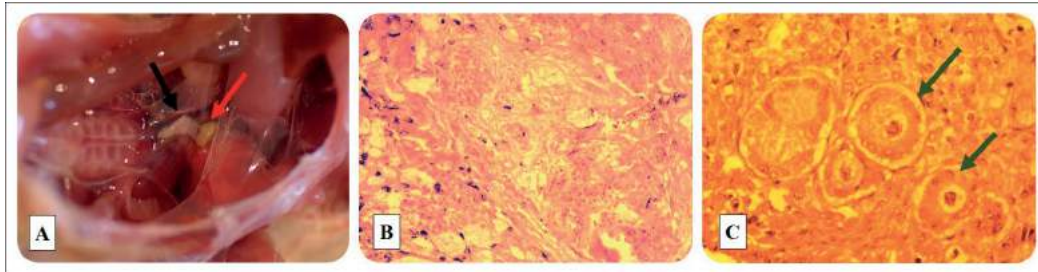
Az emlősökhöz hasonlóan baromfi esetében is történtek kísérletek a hereszövet átültetésére. Ivartalanított fehér leghorn napos kakas hátán, illetve hasán a bőr alá, valamint a hasüregbe helyeztek azonos korú, plymouth rock fajtától származó heréket. A recipiensek 43. életheten történő boncolása során azt tapasztalták, hogy az ivarszervek az életkornak megfelelő méretűre nőttek, és szövettani vizsgálattal ivarsejttermelést mutattak ki bennük (Song és Silversides,



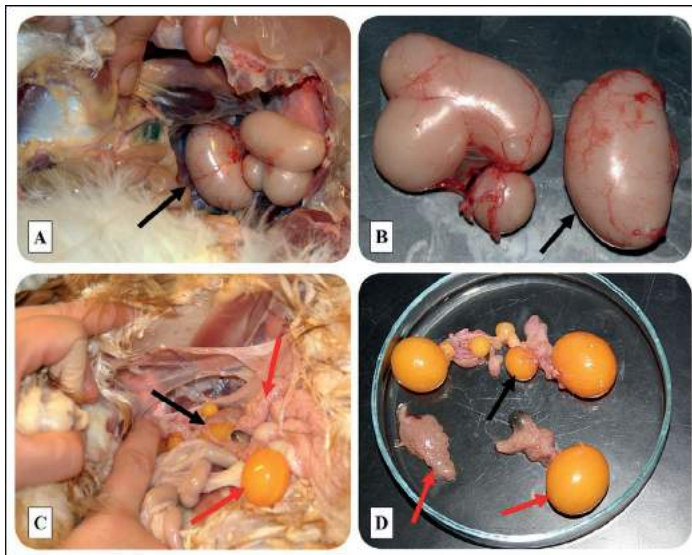
22. ábra. A naposkori petefészek elhelyezkedése. A) 2 hetes fehér leghorn ép petefészke; B) Ovariectomia után a 2 hetes egyed; C) Beültetés után. a: mellékvese, k: vese, o: normál petefészek, g: beültetett petefészek (Song és Silversides, 2006 nyomán)

2007a). Madarak esetében a spermiumok kapacitációja feltételezhetően az ondóvezetőben zajlik. Mivel ennek hiányában önálló mozgásra nem képesek, a donor heréből nyert spermiummal nem lehetséges a vaginába történő mesterséges termékenyítéssel utódot nyerni. Ugyanakkor a petevezető magnum szakaszába injektált spermiumokkal a petesejt sikeresen termékenyíthető (Song és Silversides 2007a). A hereszövet tárolása abban az esetben lehet indokolt, ha az adott, értékes tulajdonsággal rendelkező, nagy genetikai értékű egyed ondója nem begyűjthető.

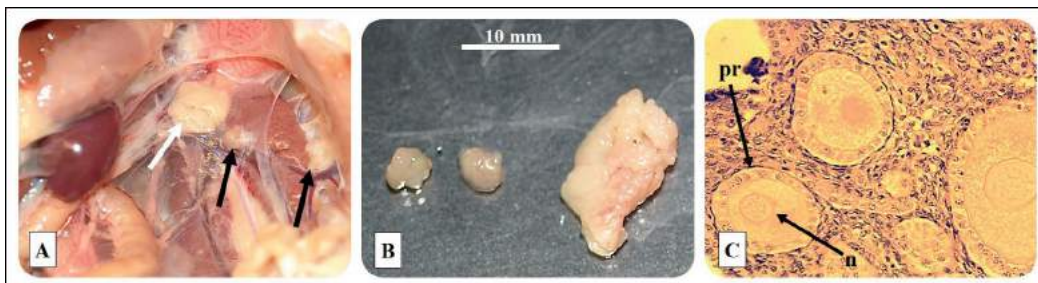
A kanadai génmegőrzési gyakorlatban már tárolnak baromfi ivarszervszöveteket. Azonban bebizonyosodott, hogy egyes genotípusok alkalmasabbak recipiensnek, míg mások kevésbé, illetve egyes genotípusokat egymással párosítva nem eredményeznek a donortól származó, funkcionáló ivarszervet (Liptói és munkatársai, 2013). Korábbi irodalmi adatok alapján ismert, hogy fehér leghorn x new hampshire, plymouth x new hampshire, Tetra SL x Tetra SL donor-recipient párosítások ebből a szempontból sikeresnek bizonyultak (Song és Silversides 2007a; 2007b; Kosenko 2006). Genetikai diverzitásvizsgálatok kimutatták, hogy őshonos tyúkfajtáink közül a fehér magyar a fehér leghornhoz, míg a sárga magyar a new hampshire-hez közeli genetikai távolságú (Bodzsár és munkatársai, 2012). Fehér magyar x sárga magyar recipient-donor kombináció esetén 80%-os arányban találtak megtapadt, szövettani vizsgálatok alapján működőképes ivarszerveket (Liptói és munkatársai, 2014). Ezeket az eredményeket már hasznosíthatják azok a tenyésztő cégek, amelyek tenyésztőmunkájuk során megszüntetik egyes vonalaikat, de elképzelhetőnek tartják, hogy egyes tulajdonságokra



23. ábra. 8 napos Tetra SL tyúk boncolása a Busulfán kezelés hatásának ellenőrzésére. A: Fekete nyíl jelzi a saját, piros a beültetett petefészket. B: A saját petefészek szövettani képe nem mutat funkcionális részeket. C: A beültetett petefészekben fejlődő ivarsejtek találhatóak (zöld nyíl).  
Készítette: Liptói Krisztina



24. ábra. 16 hetes Tetra SL / Tetra SL donor-recipient kombináció boncolása. A. és B.: A saját herét fekete nyíl jelzi. C. és D. A saját petefészket fekete, a beültetettéket piros nyíl jelzi. Készítette: Liptói Krisztina



25. ábra. 8 hetes TetraSL donor/recipient tojó. A. A beültetett petefészeket fekete, a sajátot fehér nyíl jelzi. B. Ugyanannak az állatnak a petefészkei. Baloldalt a két beültetett látható. C. Mindhárom petefészket jellemző szövettani kép. pr: elsődleges oocita; n: sejtmag (Liptói és munkatársai, 2013)



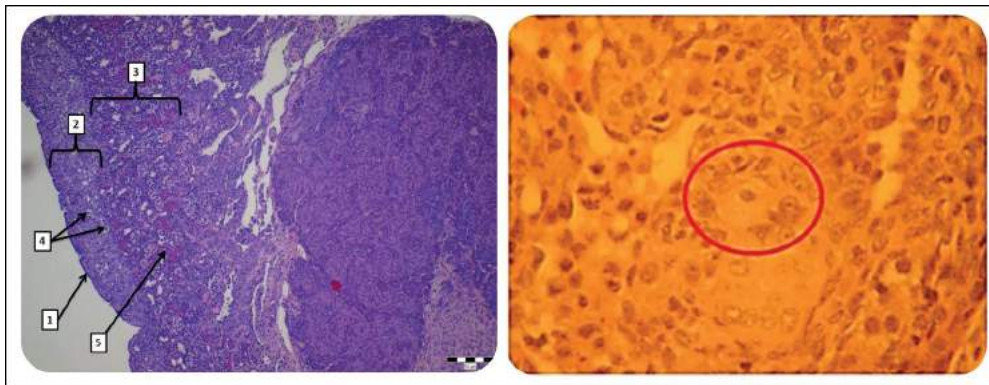
26. ábra. 8 hetes Tetra SL donor/recipient kakas. A.) A beültetett herét fekete, a saját heréket fehér nyíl jelzik. B.) Ugyanannak az állatnak a heréi. Jobbra látható a beültetett here. C.) Mindhárom herére ugyanez a szövettani kép volt jellemző. set: sertolli sejt; sc: ondócsatorna; T: here kapszula (Liptói és munkatársai, 2013). Készítette: Váradi Éva

a későbbiekben még szükségük lehet, hiszen az intenzív tartásra alkalmas genotípusokban a módszer jól működik. Azonban ahhoz, hogy ez az eljárás valóban génmegőrzési célokra is szolgáljon, olyan kommersz vonal szükséges recipiensnek, amely az őshonos donoroktól származó ivarszervekből nagy valószínűséggel képes utódot előállítani. A HÁGK-ban végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy fehér leghorn x sárga magyar recipiens-donor pár megfelel ennek a feltételnek, és egyúttal ez az első olyan kombináció, amely őshonos baromfi génmegőrzésére használható (Liptói és munkatársai, 2016, *in press*; Hidas és Liptói, 2016). További cél az összes, *in vivo* génbankban őrzött tyúkfajtaéhoz a megfelelő recipiensek azonosítása a genetikai távolságok alapján.

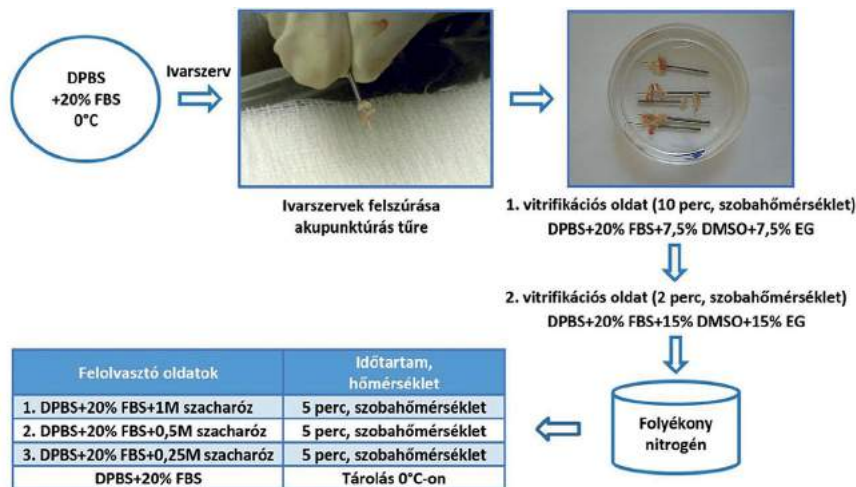
Napos korban a petefészek helyzetét, illetve az ovariectomia és a donor petefészek ideális elhelyezését az 22. ábra mutatja. Ugyanakkor a beavatkozást kicsiny műtéti területen végezve, a recipiens petefészkének teljes eltávolítása rendkívül nehéz, tökéletesen ivartalanítani sebészeti úton szinte lehetetlen, mivel a petefészek szorosan a mellékvesén fekszik, a két szerv között található hasi aorta könnyen sérül és elvérzést okozhat. Ez az oka annak, hogy a recipiens madár később saját- és donor-genotípusú utódokat egyaránt termelhet. Történtek kísérletek embrionális korban a recipiens ivarsejtek képződésének blokkolására kémiai úton. Busulfán szezámolaj és dimetil-formamid keverékét injektálták 24 órás, forgatásmentes inkubációt követően a tojás tompa végén keresztül a szikbe. Az olaj felemeli a hatóanyagot a szik legmagasabb pontján található embrióhoz (23. ábra). Azonban ez a keverék rendkívül instabil, nagyon könnyen frakcionál, így megbízhatóan alkalmazni nehéz. A szövettani vizsgálatkor gyakran funkcionális szövet is látható volt a gátolt szervben. Ezért ennek a módszernek az alkalmazása nem vált a gyakorlat részévé. Saját vizsgálatok során kiderült, hogy az ivarszervszövetek az immunrendszer gátlása nélkül is tökéletesen megtapadnak és fejlődnek (24. ábra). A transzplantáció sikeressége sokkal inkább függ a megfelelően megválasztott recipiens/donor kombinációtól, mint a beavatkozás előtt és után adagolt kémiai anyagoktól (25. és 26. ábra) (Liptói és munkatársai, 2013). A korábbi szakirodalmak alapján úgy tűnik, hogy ha immunszuppresszáns kezelést alkalmazunk a műtétet követően, azzal a donor szervek beépülését és későbbi működését segítjük. Ezért a humán gyógyászatban is alkalmazott micofenolát készítményt adagoltuk a madaraknak a felnevelés során az első két hónapban.



További kihívást jelent a szövetek fagyasztási és felolvasztási módszerének fejlesztése. Korábbi közleményekben már beszámoltak a naposkori ivarszervszövetek sikeres fagyasztásáról (Liu és munkatársai, 2012a, 2012b; Silversides és munkatársai, 2013). Váradi (2016) különböző mélyhűtési technikákat (nitrogéngőzben történő mélyhűtés, pellet módszer, illetve vitrifikációs eljárás) hasonlított össze házi tyúk korai ivarszervszöveiteinek hatékony tartósítására, mindkét ivarban. Eredményei alapján a vitrifikációs eljárás őrizte meg leginkább a herék eredeti szerkezetét. Ezért a hereszövet fenti eljárással történő mélyhűtése, mint alternatív génmegőrzési módszer, lehetővé teszi veszélyeztetett fajok esetében az értékes hímek genetikai állományának megőrzését. A módszer alkalmazását olyan nagy genetikai értékű hímek esetében javasoljuk, amelyeknél az ondó mélyhűtése valamilyen okból nem kivitelezhető. A naposkori petefészekszövetek esetében mindhárom mélyhűtési eljárás megőrizte a szervek normális szerkezetét. A mélyhűtött ivarszervek épségét szövettani és szövettényezési vizs-



27. ábra. A friss (kontroll), ill. a mélyhűtött/felolvasztott petefészek ép szöveti szerkezete. 1. csirahám, 2. kéregállomány, 3. velőállomány, 4. ősvarsejtek, 5. kapillárisok. Piros kör: oogonium és a primer oocita átalakulás határán lévő petesejt. Készítette: Váradi Éva



28. ábra. Ivarszervszövetek vitrifikációjának menete. Készítette: Liptói Krisztina

gálatokkal is igazolták, a naposkori ivarszervek túléltek a mélyhűtés/felolvasztás folyamatát (27. ábra). A tesztelt mélyhűtési eljárások közül mindkét ivar esetében – a minták könnyebb kezelése és azonosítása miatt – génmegőrzési célból a vitrifikációs eljárás (28. ábra) alkalmazását javasoljuk.

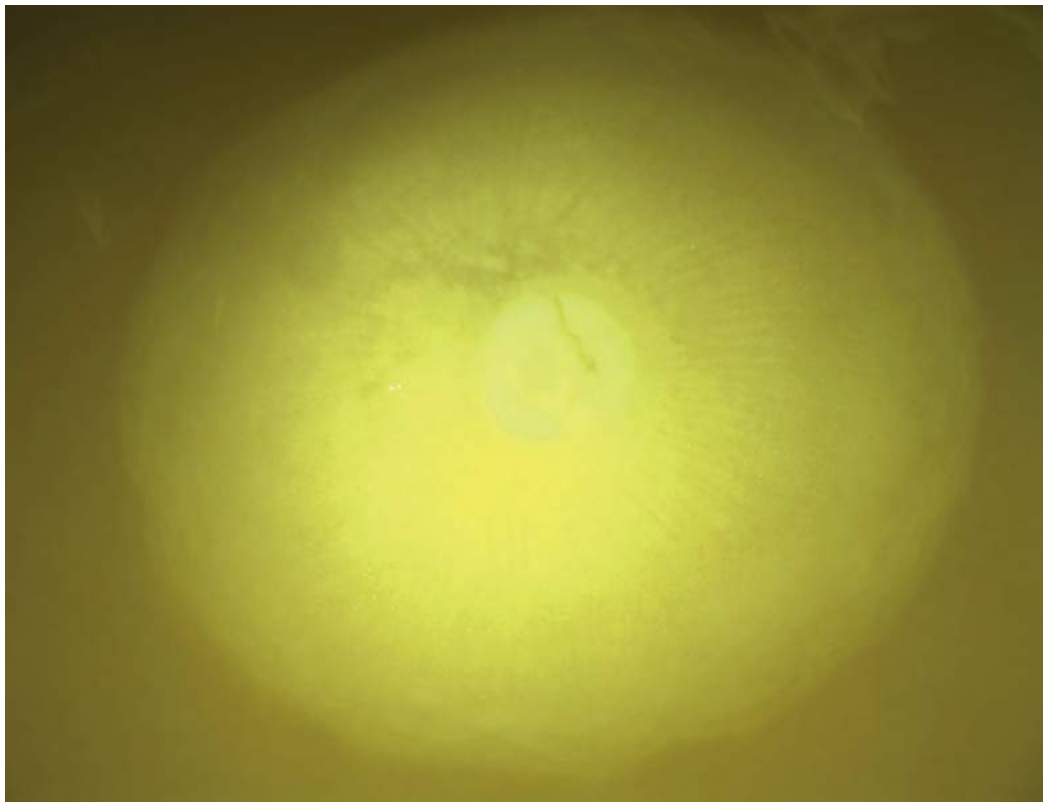
## Irodalomjegyzék

- Bodzsar, N., Weigend, A., Janssen-Tapken, U., Weigend S. (2012): Large scale analysis of genetic diversity using a comprehensive dataset from different studies in chickens. *Worlds Poultry Science Journal* 68 (Supplement 1): 61-64.
- Kosenko, O. V. (2006): Orthotopic Transplantation of Donor Ovary as an Alternative Method of Artificial Reproduction of Fowl. *Doklady Rossiiskoi Akademii Sel'skokhozyaistvennykh Nauk* 33(3): 44-46.
- Liptói K., Horváth G., Gál J., Váradi É., Barna J. (2013): Preliminary results of the application of gonadal tissue transfer in various chicken breeds in the poultry gene conservation. *Animal Reproduction Science* 141(1-2): 86-89.
- Liptói K., Horváth G., Rohn E., Gál J., Váradi É., Barna, J. (2014): Various donor/recipient combinations for gonadal tissue transfer in chicken. *Proceedings of XIVth European Poultry Conference. WPSA*, P262. 3 p.
- Liu, J., Cheng, K. M., Purdy, P. H., Silversides, F.G. (2012a): A simple vitrification method for cryobanking avian testicular tissue. *Poultry Science* 91: 3209-3213.
- Liu, J., Cheng, K. M., Silversides, F. G. (2012b): Novel needle-in-straw vitrification can effectively preserve the morphology, viability, and vascularization of ovarian tissue in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Animal Reproduction Science* 134: 197-202.
- Liu, J., Cheng, K. M., Silversides, F. G. (2013a): A model for cryobanking female germplasm in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poultry Science* 92: 2772-2775.
- Liu, J., Cheng, K. M., Silversides, F. G. (2013b): Recovery of fertility from adult ovarian tissue transplanted into week-old Japanese quail chicks. *Reproduction, Fertility and Development* 27(2): 281-284.
- Silversides, F. G., Robertson, M. C., Liu, J. (2013): Cryoconservation of avian gonads in Canada. *Poultry Science* 92: 2613-2617.
- Song, Y., Cheng, K. M., Robertson, M. C., Silversides, F. G. (2012): Production of donor-derived offspring after ovarian transplantation between Muscovy (*Anas platyrhynchos*) and Pekin (*Cairina moschata*) ducks. *Poultry Science* 91: 197-200.
- Song, Y., Silversides, F. G. (2006): The technique of orthotopic ovarian transplantation in the chicken. *Poultry Science* 85:1104-1106.
- Song, Y., Silversides, F. G. (2007a): Offspring produced from orthotopic transplantation of chicken ovaries. *Poultry Science* 86:107-111.
- Song, Y., Silversides, F. G. (2007b): Heterotopic Transplantation of Testes in Newly Hatched Chickens and Subsequent Production of Offspring via Intramaginal Insemination. *Biology of Reproduction* 76(4):598-603.
- Váradi É.(2016): Hímivarsejtek és korai ivarszerv-szövetek mélyhűtéses tartósításának fejlesztése baromfifajokban génmegőrzési célokból. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő



# Termékenység-ellenőrző eljárások

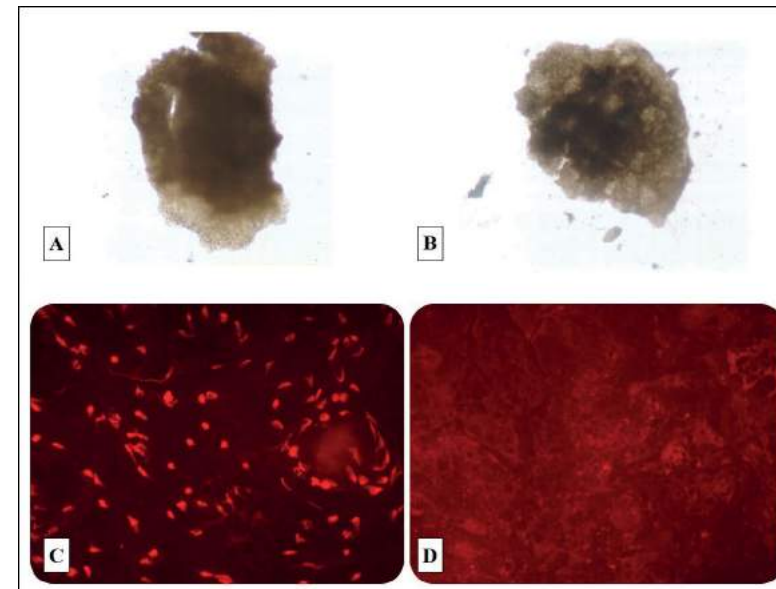
LIPTÓI KRISZTINA – VÁRADI ÉVA – VÉGI BARBARA – BARNA JUDIT



Egy baromfiállomány szaporításának eredményességét, legyen szó akár természetes párzásról, akár mesterséges termékenyítésről, a termékeny tojások mennyisége tükrözi. A termékenység vizsgálatának a gyakorlatban elsősorban szülőpárállományok esetében van nagy jelentősége, azonban a baromfi *in vitro* génmegőrzésben, illetve a kutatásban az ondómélyhűtés eredményességét is a termékenység meghatározásával ellenőrizhetjük. A termékenység megállapításához, valamint a termékenységi problémák észleléséhez és megoldásához szükséges a termékenység minél korábbi és minél pontosabb meghatározása.

A tojások termékenységének meghatározása a gyakorlatban általában lámpázással történik. A módszer hátránya azonban, hogy a terméketlenségre csak több hetes késéssel derül fény, így az esetleges termékenységi problémákra késve lehet csak reagálni és a szükséges intézkedéseket megtenni. A lámpázás során a terméketlen tojások közé kerülnek azok a tojások is, melyekben az embriófejlődés kezdetén, még a petevezetőben, a vérszigetek kialakulása előtt következett be embrióelhalás. A termékenység pontos meghatározása miatt a korán, az inkubáció első hetében, illetve nagyon korán, még a petevezetőben, a megtermékenyülés és a megtojás közti időszakban elhalt embriók felismerése nem egyszerű, bár a tenyésztők számára nagyon fontos feladat. *Eyal-Giladi és Kochav (1976)* mutatta be elsőként a házi tyúk embrionális fejlődésének egyes lépéseit a petevezetőben, a megtermékenyüléstől a megtojásig, majd később *Dupuy és munkatársai (2002)* írták le ugyanezt kacsában.

A termékenység megítélésének egy másik gyakori módszere a nem inkubált tojásokban a csírákorong egyszerű vizuális vizsgálata, az ún. Kosin-teszt (*Kosin, 1945*). Ha a frissen tojt tojásokat feltörve a csírákorong jellegzetes, gyűrű formájú, akkor az nagy valószínűséggel termékeny. Ha az első lámpázás során a feltört tojások szemre terméketlennek tűnnek, csíráko-



29. ábra. Termékeny (A) és terméketlen (B) csírákorong sztereomikroszkópos képe (80x). Termékeny (C) és terméketlen (D) csírákorong képe propídiium-jodidos festés után (200x) (tyúktojásból) (Fotó: Liptói Krtisztina)

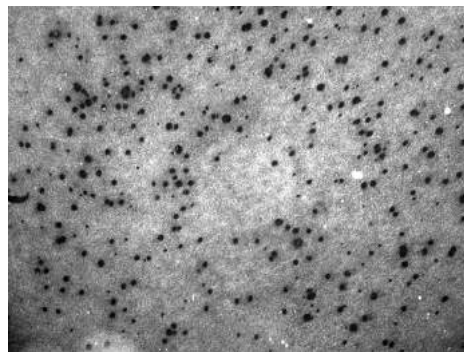
rongjukat leválasztva és fiziológias sóoldatba helyezve sztereomikroszkóp alatt megfigyelhető, hogy a valóban terméketlen csírákorong sok vakuólumot tartalmaz. A termékeny csírákorong szerkezete lényegesen tömörebb, de a megítélés nem tökéletesen biztos (29. ábra, A és B). Ha azonban a leválasztott csírákorongot propidium-jodiddal festjük meg, amely egy nukleinsav specifikus fluoreszcens festék, akkor fluoreszcens mikroszkóp alatt az embrionális sejtek magjai pirosan világítanak (Liptói 2004; Liptói és munkatársai 2004). A valóban terméketlen csírákorongok egységes, sötétvörös hátteret mutatnak (29. ábra, C és D).

Az előzőekben említett két módszer (lámpázás, Kosin-teszt) további lényeges hátránya a termékenység megítélésében rejtőzik, ugyanis a tojás termékeny volta csupán arról ad tájékoztatást, hogy egyetlen spermium megtermékenyítette-e a petesejtet vagy sem, azonban nem tudjuk, mi van a feltételezhetően ott levő többi százmillió spermiummal, azaz a későbbiekben várható termékenységgel. Ugyanis a termékenyítés hatékonysága, a fertilis periódus hossza, a normális fejlődésű embriók aránya a petevezetőben jelenlevő hímivarsejtek mennyiségétől függ, ezért érthető, hogy a termékeny tojások százalékos arányának ismerete nem eléggé informatív.

A sikeres spermiumtranszport meghatározásának közvetlenebb módja a letojít, nem inkubált tojásokban kimutatható spermiumok meghatározása, amelyek a termékenyítés idején és helyén körülveszik a petét, azaz kapcsolatba kerülnek a szikhártyával. Az itt kimutatható akár több ezer spermium a szaporítás hatékonyságáról sokkal többet árul el, mint az egyszerű kétesélyes „termékeny–nem termékeny” meghatározás (Wishart, 1997). Ennek egyik lehetséges módszere azoknak a spermiumoknak a kimutatása, amelyek a külső perivitellin membránban úgymond csapdába estek („outer perivitellin layer” = OPVL-spermiumok) (30. ábra). Több szerző is rávilágított arra, hogy az inszeminált spermiumok száma és az OPVL spermiumok száma között összefüggés van (Wishart, 1987; Brillard és Antoine, 1990; Wishart és munkatársai, 1992). Wishart (1997) megállapította, hogy 3 OPVL-spermium/mm<sup>2</sup>-nél már biztos a termékenység. Egy évvel később kimutatták, hogy egy állomány tojásaiban található OPVL-spermiumok mediánja szorosan összefügg az állomány termékenységével (Staines és munkatársai, 1998). A módszer hátránya, hogy a spermiumok kimutatásához karcinogén fluoreszcens festékre és viszonylag nagy nagyítású fluoreszcens mikroszkópra van szükség (Staines és munkatársai, 1998).



30. ábra. Fluoreszcens festékkel megfestett, lúdtojásból származó OPVL-spermiumok mikroszkopikus képe (Fotó: Barna Judit)



31. ábra. Az akroszóma reakció során, a szikhártyán hidrolizált nyílások mikroszkopikus képe (tyúkjtojásból) (Fotó: Végi Barbara)

A petesejttel kapcsolatba kerülő spermiumok („inner perivitellin layer” = IPVL spermiumok) kimutatásának másik módszere az akroszóma reakció során keletkező hidrolizált nyílások számának meghatározása (31. ábra). A csírákorong fölött található nyílások száma akár 1000 is lehet, bár már 6 nyílás jelenléte jelzi, hogy a petesejt termékenyülhetett. Ha 6-nál kevesebb a nyílások száma, kicsi a valószínűsége a termékenyülésnek, és ha nincsenek nyílások, biztos, hogy nem termékenyült a tojás (Wishart, 1997). Nagy előnye a módszernek, hogy elvégezhető egy egyszerű, sötét látóteres mikroszkóppal és fiziológias sóoldattal (Wishart és Barna, 2001).

Laboratóriumunkban a fenti módszereket rutinszerűen alkalmazzuk, elsősorban az ondómélyhűtés hatékonyságának ellenőrzése céljából, továbbá nagylétszámú szülőpárralományok termékenységének előrejelzésére (Varga és munkatársai, 2004; Barna és munkatársai, 2005; Végi és munkatársai, 2005).

## Irodalomjegyzék

- Brillard, J.-P., Antoine, H. (1990): Storage of sperm in the uterovaginal junction and its incidence on the numbers of spermatozoa present on the perivitelline layer of hens' eggs. *British Poultry Science* 31: 635-642.
- Dupuy, V., Neressian, B., Bakst, M. R. (2002): Embryonic development from first cleavage through seventy-two hours incubation in two strains of Pekin duck (*Anas platyrhynchos*). *Poultry Science* 81: 860-868.
- Eyal-Giladi, H., Kochav, S. (1976): From cleavage to primitive streak formation: A complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. *Developmental Biology* 19: 321-337.
- Kosin, I. I. (1945): The accuracy of the macroscopic method in identifying fertile unincubated germ discs. *Poultry Science* 24: 281-295.
- Liptói, K. (2004): A korai embrióelhalás genetikai okainak vizsgálata lúdban. Doktori értekezés, Szent István Egyetem, Gödöllő
- Liptói, K., Varga, Á., Hidas, A., Barna, J. (2004): Determination of the rate of true fertility in duck breeds by the combination of two *in vitro* methods. *Acta Veterinaria Hungarica* 52(2): 227-233.
- Staines, H. J., Middleton, R. C., Laughlin, K. F., Wishart, G. J. (1998): Quantification of a sperm: egg interaction for estimating the efficiency of broiler breeder flocks. *British Poultry Science* 39: 273-277.
- Wishart, G. J. (1987): Regulation of the length of the fertile period in the domestic fowl by numbers of oviducal spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility* 80: 493-498.
- Wishart, G. J., Staines, H. J., Steele, M. G. (1992): A method for predicting infertility in naturally-mated chickens and demonstration of gross variation in sperm transfer efficiency. In: *Proceedings of the 19th world poultry congress*, ed. M. G. Steele. 631-634 p.
- Wishart, G. J. (1997): Quantitative aspects of sperm-egg interaction in chickens and turkeys. *Animal Reproduction Science* 48: 81-92.



# További fontosabb kisállatfajok és -fajták génmegőrzése

## A házi nyúl génmegőrzése

EIBEN CSILLA – ZÖLD ORSOLYA – KOPPÁNY GÁBOR – SZALAY ISTVÁN –  
HIDAS ANDRÁS – PÁLINKÁS-BODZSÁR NÓRA –  
DEBNÁR VIKTÓRIA JOHANNA – BODÓ SZILÁRD – GÓCZA ELEN – HIRIPI LÁSZLÓ



*Hoffmann (2011)* az állati biodiverzitás megőrzésének társadalmi, kulturális, környezeti és gazdasági összefüggéseit feltárva kiemeli, hogy világszerte gyorsan csökken az állatfajok genetikai változatossága. A helyi fajták leírása hiányos, alkalmazkodó képességük alig ismert.

*Matheron és Poujardieu (1984)* már a fenntarthatóság koncepciójának kezdete (1987) előtt leírták, hogy a nyúltenyésztés egyik következménye a genetikai variabilitás csökkenése, az őseinktől hagyományozott számos fajtából néhány eltűnőben van. Ugyanakkor az immunogenetikai eredmények a vadon élő és a helyi fajtákban olyan polimorfizmusokat mutatnak, ami hiányzik a szelektált fajtákban. Szerintük sürgősen jellemezni kell a világon létező összes fajtát. Ennek oka többcélú: segít a reális génmegőrzési politika kialakításában, felhasználhatók a feltárt adaptációs és immunológiai eredmények és biztosítható a jövő. A génmegőrzésre és a termelésre is ügyelve, javasolták a helyi anyanyulak keresztezését javító bakokkal a nyúltenyésztés elterjesztéséhez a fejlődő országokban.

Felismerve, hogy az intenzív termelés csökkenti a biodiverzitást és gátja a fenntartható fejlődésnek, Franciaországban 1999-ben lépett életbe egy mezőgazdasági irányelv, amelynek egyik pontja a természeti erőforrások védelme. Az elmúlt évtizedekben csökkent a termelésben résztvevő fajták száma. Franciaországban a nyulak több mint 90%-át négy, magántulajdonban lévő tenyésztővállalattól szereztek be. A vonalakat mind az új-zélandi fajtából szelektálták, fajtatiszta nyulakkal csak a családi farmokon termelnek (*Fortun-Lamothe és munkatársai, 2009*).

A nyúl genetikai erőforrások megőrzésének indoklásához érdemes röviden áttekinteni a faj domesztikációját, a biológiai és a felhasználási sajátosságait, a veszélyeztetettség okait.

## Az üregi és a házi nyúl génmegőrzésének jelentősége

### Domesztikáció

A házi nyúl (*Oryctolagus cuniculus* L., 1758) történetének érdekessége, hogy a nyúl az egyetlen faj, amelyet Nyugat-Európában alig kétszáz éve házasítottak, ugyanakkor az őse, a nagy genetikai variabilitást mutató üregi nyúl ma is létezik (*Monnerot és munkatársai, 1996; Rochambeau, 1997; Alves és munkatársai, 2015*). Ezért a nyúl jó modellje a domesztikációs genetikai kutatásoknak (*Carneiro és munkatársai, 2014*).

Az első, 6,5 millió éves csontleleteket Spanyolországban találták (*Callou és munkatársai, 1996*). Az üregi nyulak élőhelye a pliocén-pleisztocén korban (5–2 millió éve) az Ibériai-félszigetre, majd az utolsó jégkorszaktól (18 ezer éve) az Ibériai-félszigetre és Dél-Franciaországra, a természetes akadályt képező Loire-völgyig korlátozódott. Két alfajt különítettek el, melyek 2 millió éve már léteztek, és ma is létező alfajok. A nagyobb termetű *O. c. cuniculus* Ibéria északkeleti részén és Franciaországban, míg a kisebb *O. c. algirus* (*Loche, 1858*) Ibéria délnyugati felén, Észak-Afrikában, a mediterrán térségben és a portugál atlanti szigeteken él. A fehérje- és DNS-polimorfizmus vizsgálatok a két alfaj eltérő anyai származási vonalát igazolták (A vonal: *O. c. algirus*; B vonal: *O. c. cuniculus* és a legtöbb házi nyúl). A két alfaj az ismétlődő jégkorszakok idején elkülönült, de a felmelegedésekkor újra találkozott, és a közös zónában egymással is szaporodott. A populációk szerkezetére a vegetációtól és a talajszerkezettől is függő társas viselkedés is hatott (*Hardy és munkatársai, 1995; Rochambeau, 1997; Branco*



és munkatársai, 2000 és 2002; Lo Valvo és munkatársai, 2014; Alda és Doadrio, 2014; Alves és munkatársai, 2015).

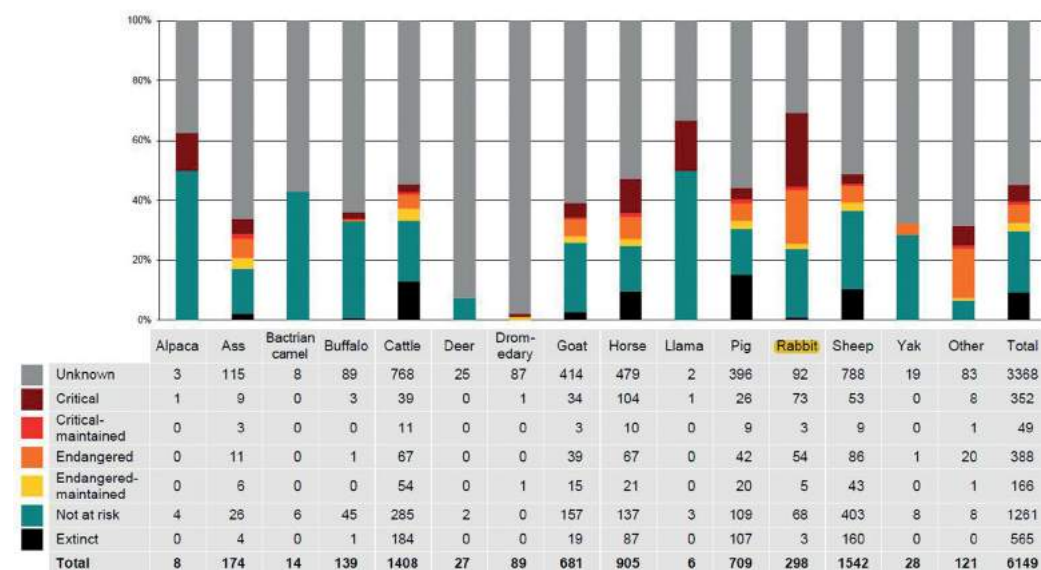
Az ősidők óta vadászott nyúl az ókorban, a rómaiakkal jutott túl a természetes gáton, akik a befogott, húsért és bőrért fogságban tartott állatokat továbbvitték. A nyúl rohamosan elterjedt a középkorban, ami a XVII. századig folytatódott. A domesztikáció a dél-franciaországi kolostorokban, 500–900 körül kezdődött. A szaporulatért kezdték körülzárt kertekben tartani az üregi nyulat. Hazánkba a XVI. században jutott (*Callou és munkatársai, 1996*). A tenyésztés, a valódi házasítás csak a XVIII. század végén, a XIX. században zajlott. Ez a többi háziállatfajhoz képest igen rövid idő. Az eredeti génkészlet fel-lelhető a vadon élő populációkban, a domesztikációval nem csökkent a genetikai variabilitás (*Rochambeau, 1997*).

A nyúlajták kialakításának fő lépései a XX. század elejére tehetőek (*Bolet, 2008*). A helyi populációkat a szőrzet, a testsúly és a küllemi bélyegek alapján kezdték sportcélra, majd prém- és hústermelésre szelektálni, létrehozva a genetikailag homogénebb fajtákat. Létrejöttek a fajtaszövetségek és klubok, majd a nemzeti tenyésztő szervezetek, amelyek meghatározták és frissítették a fajtastandard követelményeket, a tenyésztési programot. A szelektációs kritériumok jelentősen változtak. Kezdetben csak a küllem volt a fontos, a két világháború alatt a gazdasági hasznosítás (bőr, prém, hús, gyapjú) is szempont lett. A fajtákra nézve az újabb fordulatot a 60-as évektől a nagyüzemi nyúlhústermelés igénye hozta. Az összes fajta közül egyedül az új-zélandi fehér viselte el a rácspadlót (*Maertens és Peeters, 1988*), a kaliforniai pedig hústermelésével tűnt ki. A küllemtől eltekintve e két fajtából állították elő a homogén termelésű törzseket, és világszerte elindult velük a helyi fajták keresztezése. A 80-as évektől intenek, hogy meg kell óvni a helyi fajtákat, mert elveszhet az értékes genetikai variabilitás. A helyi fajták úgy tűnhetnek el, hogy meg sem ismertük őket. Génbankot kell létrehozni és a megőrzéshez kutatni kell az ondó- és embriómélyhűtés módszereit (*Lukefahr, 1988; Pagano Toscano és munkatársai, 1992; Bolet és munkatársai, 1996*). Közzétettek egy génbanki célú leíró modellt és kiemelték, hogy a génmegőrzés minden országban állami feladat és nemzeti ügy (*Khalil, 1993*).

### Az üregi és a házi nyúl hasznosítása

Faji különlegességük, hogy számos, egyformán fontos célra használják az érdeklődési iránytól és az országtól függően. A sokféle fajta, törzs és populáció nagymértékben különbözik a fenotípust és a termelést illetően (*Fontanesi, 2016*). FAO adatok szerint (2014) a világon 298 nyúlajta van, a helyi fajták száma 236, három fajta kihalt. A nyúl a fajon belüli veszélyeztetett fajták aránya alapján (45%) az egyik legveszélyeztetettebb emlős (32. ábra).

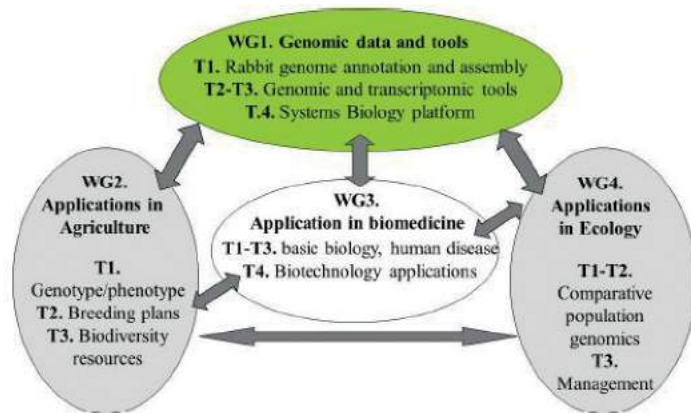
*Az üregi nyúl:* Az ősi üregi nyúl csontleletei segítik a humán evolúciós kutatásokat, vadászata és fogyasztása hatott a törzsfajlásra (*Fa és munkatársai, 2013*). A mediterrán élőhelyek fő zsákmányállata, prédája a kritikusan veszélyeztetett ibériai sas és az ibériai hiúz fajoknak, az ökoszisztéma és a biodiverzitás megőrzéséhez elengedhetetlen. Az üregi nyúl populációk létszáma nemcsak Spanyolországban, de nálunk is jelentősen csökkent az élőhely elvesztése, az elszigetelődés, a betegségek és a helytelen vadászat miatt (*Altbäcker, 2003; Angulo és Villafuerte, 2003; Ferreira és Ferreira, 2014; Pacios-Palma és munkatársai, 2016; Debnár*



32. ábra. A világ emlős fajtáinak veszélyeztetettsége 2014. júniusban: abszolút (táblázat) és százalékos (grafikon) adatok fajonként (FAO, 2014). Az abszolút adatok szerint a ló, a juh és a szarvasmarha fajokban van a legtöbb veszélyeztetett fajta. Azonban a nyúl (45%), ezután a ló (22%) és a szamár (17%) azok a fajok, amelyeknél a veszélyeztetett fajták aránya a legnagyobb

és munkatársai, 2016). Az üregi nyúlra vonatkozó törzsfajlás kutatások nemrég kezdődtek, a két alfaj és a hibridjük vizsgálatával. A domesztikációs kutatáshoz a dél-francia üregi nyulak és a szelektált fajták genetikai összehasonlítását javasolták (*Alda és Doadrio, 2014; Carneiro és munkatársai, 2014; Lo Valvo és munkatársai, 2014; Alves és munkatársai, 2015*). Az üregi nyulat az Ibériai-félszigeten és Franciaországban vadászat, visszatelepítés és vadhústermelés céljából is tenyésztik (*González-Redondo és munkatársai, 2008; 2014*). Egy EU kutatási programban (33. ábra) az üregi nyúl genomvizsgálatai a vadon élő populációk, a ritka génaváltozatok, a genetikai diverzitás megőrzését célozzák (*Garreau és munkatársai, 2012*). Angliában az 1060-körül betelepített nyúl megítélése jelentősen változott az idők folyamán. A középkorban vadászott vagy értékes társállatot ma már idegen, a biodiverzitást veszélyeztető, invazív fajnak tartják (*Baker, 2010*). Ausztráliába a nyúl 1859-től az angolokkal érkezett, mint apróvad vagy társállat, és ott súlyos invazív fajnak bizonyult (*Fenner, 2010; Moutou és Pastoret, 2010*).

*A házi nyúl:* A domesztikáció során több gén működése változott meg, a génvesztés szerepe kisebb. Kevés gén fixálódott, viszont számos lokuszon változott az allélgyakoriság. A nyúl az egyik leginkább polimorf emlős (*Carneiro és munkatársai, 2014*). Hasznosítási formáinak (hús, bőr, prém, gyapjú, kiállítási-, társ-, labor-, modellállat, ún. bioreaktor) jelentősége koronként, de országoként is gyakran változik. A helyi fajták az organikus, speciális nyúlhústermelésbe vonva óvhatók (*Szendrő és munkatársai, 2015; Dalle-Zotte és munkatársai, 2016*). A nyúlbor kevésbé jó alapanyag (*Souza és munkatársai, 2016*), a prém és gyapjútermelés csak néhány országban cél. A spanyolok, a franciák és az olaszok intenzív hústermelők, míg a né-



33. ábra. A COST TD1101 „Rabbit Genome Biology-Net” (RGB-NET) akció munkacsoportjainak (WG) feladatai (Tn) és egymással való kapcsolatuk (Garreau és munkatársai, 2012).

WG2/T3: A nyúl genetikai erőforrások felmérése, az adatbankok (pl. FAO DAD-IS, EFABIS) adatainak frissítése.

WG4/T1-T2: Összehasonlító és populációgenetikai kutatások a domesztikációs folyamat és a vadon élő populációk helyzetének megismerésére.

WG4/T3: Az üregi nyúl populációk feltárt genetikai jellemzőinek hasznosítása új génmegőrzési programok kidolgozásához és fenntartásához

metek, az angolok, az amerikaiak, a kanadaiak és újabban az olaszok is hobbi nyulászok (Ricci és munkatársai, 2010), ami nálunk is terjed. A hobbiként tartott, főleg törpe fajták kezelésekor gond, hogy a biokémiai- és vérparamétereiket alig ismerjük, eltérhetnek a labornyulakétól (Simék és munkatársai, 2017). A cseh fajták egymástól különbözők (Martinec és munkatársai, 2012). A nyúl a XX. század eleje óta a genetikai kutatások kísérleti modellje (Rouvier, 1980; Brunner és munkatársai, 1992). A humán betegségek modelljeként és az orvosi biológiai kutatásokban a nyúl egyik előnye a beltenyésztett rágcsálókkal (egér, patkány) szemben a fenntartott genetikai változatossága (Bősze és munkatársai, 2016; Valentino és munkatársai, 2016), keresik és őrzik a ritka géntípusokat (Bolet és munkatársai, 1996; Garreau és munkatársai, 2012). A nyúl anatómiai és élettani szempontból is sokszor jobb modell, mint más állatfaj (Táncos és munkatársai, 2012; Baczkó és munkatársai, 2016; Hoffmann és munkatársai, 2016; Lossi és munkatársai, 2016; Niimi és munkatársai, 2016). Felhasználási lehetőségeit, előnyét vagy hátrányát többen leírták (Bősze és Houdebine, 2006; Zhao és munkatársai, 2010; Chavatte-Palmer és munkatársai, 2016). A nyúl a legkisebb állat, amellyel, mint ún. bioreaktorral, a tejben vagy a vérszérumban kísérleti vagy kereskedelmi célra gyógyászati hatóanyagok termelhetők (Bősze és Houdebine, 2006).

### Fajtavédelem, génmegőrzés

Felismerve a helyi fajták eltűnésének veszélyét, és azt, hogy a termelési vizsgálatokat csak néhány világfajtán végezték, 1985-ben egy nemzetközi kutatás indult a mediterrán térség nyúlpopulációinak és -fajtáinak jellemzésére. Bolet és munkatársai (1999; 2000) figyelmeztet-

tek, hogy a 60 feletti európai fajtából csak néhány vesz részt a kereskedelmi hústermelésben. Ennek okán indult 1996-ban egy európai program (RESGEN CT95-060 1996–2000), amely a nyúl genetikai erőforrások feltárását, megőrzését és hasznosítását célozta tíz kiválasztott fajta genetikai változatosságának és termelési mutatóinak átfogó vizsgálatával. A nyúl 1996-ban még hiányzott a FAO (DAD-IS) és az EAAP genetikai adatbankokból (Bolet és munkatársai, 1996). Az *ex situ* génmegőrzés (mélyhűtött ondó vagy embrió) módszerét és hatékonyságát a kétéves tapasztalatok alapján Joly és munkatársai (1996) foglalták össze. A 90-es évektől több ország jellemezte helyi fajtáit és közölte a génmegőrzési és hasznosítási programját (például: Pagano Toscano és munkatársai, 1992; Lazzaroni és Pagano Toscano, 1996; Ajani és Oseni, 2012; Ben Larbi és munkatársai, 2012 és 2014; Bielanski és munkatársai, 2012; Tümová és munkatársai, 2012).

A magyar üregi nyúl populációit is védeni kell, mert az ismétlődő vírusos járványok (nyár-ősz: mixomatózis, tél-tavaszi: RHD) és az extrém környezeti hatások (fagy, eső, tűz) megtizedelik az állományt. Az üregi nyúl fontos része a kiskunsági Ősborókás létének, kulcsfaj a bugaci ökoszisztéma fenntartásában (Altbäcker, 2003). Az üregi nyulak megőrzéséhez jobban kellene ismerni az élettani és a populációs mutatókat (Pacios-Palma és munkatársai, 2016; Lo Valvo és munkatársai, 2014). A 100 km távolságra élő populációk már genetikailag is különbözhetnek (Alda és Doadrio, 2014). Az RHD vírus új variánsa (RHDV2) a kis populációkra veszélyes, akár el is tűnhetnek (Guerrero-Casado és munkatársai, 2016).

Az üregi nyúl genetikai változatosságának megőrzése és a palacknyak hatás elkerülése érdekében az *in situ* génvédelem mellett célszerű *ex situ* génmegőrzési eljárásokat is alkalmazni (Debnár és munkatársai, 2016). Az ELTE kutatói az 1994–1995-ben mindkét fertőzés (mixomatózis, RHD) által pusztított bócsai és orgoványi üregi nyúl állományokból *ex situ*, *in vivo* génvédelmi céllal hoztak létre egy zárt tartásban tenyésztett populációt (Altbäcker, 2003). Azonban a fogságban félős és stresszérzékeny üregi nyulak szaporítása problémás, nem csak szabadon tartva (agresszió, egészségügy, szaporodás), de ketreces elhelyezésben is (szaporodás, nevelés) (González-Redondo és Sánchez-Martínez, 2014). González-Redondo (2010) a befogott üregi nyulaktól (*O. c. algirus*) származó, szabadtéri ketreccben született és tartott nyulak anyai viselkedésének zavarait észlelte, emiatt volt nagy a szopósnyúl-kiesés. Szerinte ez az üregi nyulak adaptációs hiányát jelzi a ketreces tartáshoz és gondozáshoz. Az extenzíven tenyésztett üregi nyúl populációk fejlődésére az egyedszám is hat, kevesebb, mint 30 nyúl/ha ajánlott (Ruiz-Aizpurua és munkatársai, 2014). A fenti gondok tudatában Debnár és munkatársai (2015; 2016) az üregi nyúl *in vitro ex situ* megőrzése kapcsán egy spermabank létrehozásához vizsgálták az ondó vételének, szállításának és tárolásának eljárásait.

A magyar óriás fajtáról a HÁGK az 1953–1962 közötti évekből őriz archív adatokat (*in libro* génmegőrzés). A fajta részt vett a fenti RESGEN programban. A genetikai és a termelési eredményeket Bolet és munkatársai (2000), Virág és munkatársai (2002; 2003), Virág és Balogh (2003), legutóbb pedig Alves és munkatársai (2015) közzölték. A magyar óriás termelését és testalakulását csak néhányan vizsgálták (Fekete és munkatársai, 2001; Fodor és munkatársai, 2001; 2002; 2003). A legtöbb országnak van óriás, lassú érésű helyi fajtája, amelyet hobbialtként vagy befejező keresztezési partnerként, a színes fajtákat pedig az organikus termelésben használják, de ezek termelési tulajdonságai alig ismertek (Dalle-Zotte és munkatársai, 2015; 2016). A hazai őshonos állatokra alapozott ökológiai típusú kisállattenyésztés fejlesztése prog-

ramban (AGR\_PIAAC\_13-1-2013-0031) tesztelték a magyar óriást, mint apai partnert: magyar óriás vagy pannon nagytestű nyulakkal keresztezték a *Pannon Ka* anyanyulakat. A magyar óriás géneket hordozó nyulak növekedésére és húsminőségére a másik genotípussal szemben a tartási és a takarmányozási mód jobban hatott (*Szendrő és munkatársai, 2015; Dalle-Zotte és munkatársai, 2015*). A hungarikum termékek előállításához magyar fajtákra van szükség (*Mihók, 2006*). A magyar óriás nyúl ilyen célra is felhasználható lehet. A nyúl az emberi fogyasztásra alkalmatlan növényi forrásokkal is felnevelhető. A helyi nyúlfajták extenzív takarmányozása összekapcsolható a helyi növényfajok biodiverzitásának fenntartásával is.

A magyar óriás nyúl történetét, küllemi jellemzőit és a fajtastandard követelményeket *Holdas Sándor (2000; 2009)*, *Holdas Sándor és Szendrő Zsolt (2002)*, legutóbb pedig *Tóth Zsigmond (2017)* foglalta össze. A magyar óriás az egyetlen nyúlfajtánk, amely 2004-től nemzeti kincs, védett őshonos fajta (32/2004. (IV. 19.) OGY határozat; 4/2007. (I. 18.) FVM-KvVM együttes rendelet). A magyar óriás megőrzése, tenyésztése és terjesztése érdekében 2009-ben alapították meg a Magyar Óriásnyúl-tenyésztők Országos Egyesületét. Céljuk a fajta *in situ, in vivo* megőrzése. A tagok 2–6 baknyúlból és 1–25 anyanyúlból álló tenyészeteket tartanak fenn. A magyar óriás nyúl populációméretét 2011 és 2013 között a 7. táblázat mutatja.

A magyar óriás nyúlfajta populációmérete			
Év	2011	2012	2013
Populáció	129	215	239
Tenyészbak	38	56	60
Tenyészanya	91	159	179

7. táblázat. A regisztrált magyar óriás nyúlállomány 2011–2013. évi létszáma (Forrás: DAD-IS adatbázis, <http://dad.fao.org>)

### **In vivo nyúl génbank a HÁGK-ban: Az őshonosként védett magyar óriás fajta**

A génbanki megőrzés szükségessége és formája összefügg a magyar óriás eredetével, sajátosságaival és helyzetével. Érdemes ezeket génmegőrzési szempontból röviden áttekinteni.

#### **A magyar óriás nyúl kialakulása**

Hazánkban az 1700-as évektől *kinigli, kárnikus, tengeri, istálló* vagy *parlagi nyúl* néven ismerték a német, olasz és francia közvetítéssel bejutott, nálunk honosuló, de még csak tartott üregi nyulat (*Eiben, 2001*), amely vadon élve az 1850-es évektől terjedt el, az 1860-as években Pustavacs, az 1880-as években Gödöllő környékén (*Faragó, 2012*). A kistestű, de igénytelen és jól szaporodó honi parlagi nyúl nemesítése érdekében az 1910-es években nagyobb termetű fajtákkal (francia kosorrú, francia ezüst, bécsi kék, normandi) való keresztezéseket javasoltak. Ennek eredményeként jött létre a magyar óriás fajtához később felhasznált, középtestű parlagi nyúlállomány.

A magyar óriás kialakításában szereplő másik fajta a *flamand (belga)* óriás nyúlfajta volt, amelyet a XIX. század végén, Gent környékén hoztak létre. Gent piacán egy vasárnaponkénti játékban tippelték, melyik a heti legnehezebb nyúl. A nyulakat nem mérték, de nézték a mérlegtálcák elmozdulását. Mivel a játék igen kedvelt volt, szelekció történt a nagyobb termetre. Akkoriban csak a súlygyarapodás és a felnőtt súly volt a fontos, a szín és a többi tulajdonság még nem (*Maertens és Peeters, 1988*). A XX. század elején a fajta eltérő standardjai jöttek létre: az angolok csak az egyöntetű és egyforma színű szőrzetre, a németek a jó húsformákra és vágóértékre, míg a flamandok kizárólag az extra termetre törekedtek. Hazánkba a múlt század elején százával hozták be a fajtát, és vált belga óriás néven közkezdetté. A származásából adódóan jellemző, hogy voltak nagytestű (6–8 kg) nyurga és erős csontozatú, de még inkább a hústermelésnek jobban megfelelő, kisebb testű (4 kg) zömök és finom csontú példányok. Sportra, prém-, bőr- és hústermelésre tartották. Volt, hogy a fekete és a hófehér prém értékesebb volt, így inkább az ilyen szőrzetűeket tenyésztették a többi színváltozattal és a tarka nyulakkal szemben. 1918-ban a hústermelést célzó katonai házinyúl-telepeken a belga óriás volt az uralkodó fajta, ám anyaként a közönséges magyar parlagi nyúl bizonyult a legjobbnak, tekintve, hogy a nagytestű fajták kevésbé bírták a szokatlan hőséget és a gyengébb takarmányozást, így ezeknél nagy volt az elhullás.

A belga óriás a két világháború között is keresett fajta volt, de nem volt elég tenyészállat. Ezért a rokontenyésztés elkerülésére sokan vadas színű parlagi nyulakkal keresztezték a belga óriásokat, tudatosan vagy önkéntelenül csökkentve a testsúlyt és megváltoztatva a testalkatot. Mások viszont ragaszkodtak a standard óriás fajtajelleghez, és a vérfrissítéshez flamand óriás vagy német szürke óriás nyulakat használtak. Mindez két súlyváltozat létrehozásához és a magyar óriás – magyar vadas történeti vitájához vezetett. A kistestű, rövid fülű „gazdasági” változatot *magyar vadas* néven illették és sokan önálló fajtának tekintették. Végül az a ma is érvényes álláspont született, hogy nincs magyar vadas fajta, hanem a *magyar óriás* (újabb nevén *magyar óriásnyúl*) fajtának létezik két, testsúlyban, küllemben és testalkatban eltérő típusa. A képet tovább árnyalja a színváltozatok megítélése. Korábban a vasderes, ma a fehér óriásokat tekintik önálló szintípusnak. A sárga vadas elfogadottsága koronként változott.

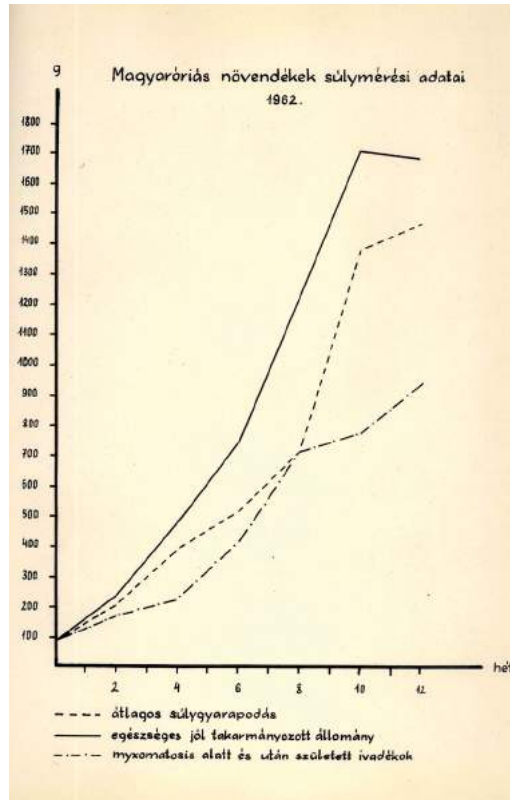
A HÁGK jogelőd intézete a magyar óriás kialakításában, jellemzésében és felkarolásában is nagy szerepet vállalt. 1953-ban még a vágósúly és a prémminőség alapján vizsgálták azokat a középtestű színváltozatokat (magyar vadas, magyar vasderes, zsanet fekete), amelyek közrejátszottak a magyar óriás tulajdonságainak kialakulásában. Az 1954. évi kutatási jelentés szerint „rengeteg a vadas nyúl, annak éppen a gazdaságilag leghasznavehetőbb típusa a hosszú, megnyúlt testű, rossz formákat mutató, nagyfülű változata, amely a régebbi belga nyulak ésszerűtlen importjának és tervszerűtlen keresztezésének a következménye. A hazai »húsnyúl« állomány nem felel meg a kívánalmaknak, rossz vágósúlya, kedvezőtlen testarányai, gyenge biológiai és tenyész tulajdonságai miatt.” Fentiek ellenére, 1955-ben a fedezőbak állományokon az anyanyulak 42%-a volt magyar vadas vagy belga óriás. Azonban tudnunk kell, hogy korábban – és a tenyésztők egy részénél ma is – a sportirány volt a fontos, a tenyésztési cél pedig a minél hosszabb fül (20 cm) és a minél nagyobb test (6–10 kg). Az intézetünkben 1958–1962 között végzett „a gazdasági típusnak megfelelő húsnyúl kitenyésztése” program célja egy 5–6 kg-os testsúlyú, jó prémminőségű és vágósúlyú, szilárdabb szervezetű húsnyúl-állomány létrehozása volt. 1958-ban az állami telepeken, ahol volt törzskönyvezés, a magyar





15. kép. Vasderes színű magyar óriás nyúl. KÁTKI archívum, 1961

óriások tenyésztésével nem foglalkoztak. Ezért a kiinduló állományhoz kistermelőktől vásároltak fel kis létszámban kizárólag vasderes magyar óriás és magyar vadas nyulakat. 1959-ben belga óriásokat is behoztak. A kísérleti populáció kialakításához 1958-ban felszorították és jellemezték a magyar óriás, a magyar vadas és a cseppvér keresztezésük-ből származó nyulak adatait (testsúly, törzshossz, övméret, mellkas mélység, fülhossz, szőrsűrűség). 1959-ben kiválogatták a célnak megfelelő almokat, ami a heterogén magyar óriás fajtának a gazdasági típus felé való eltolását jelentette. Másik cél volt a francia kosorrú meghonosítása, és a magyar óriással való keresztezés kipróbálása. Az óriások élősúlya elmaradt a várttól, amit a nagyüzemi körülményekkel (kisebb törődés) magyarítottak. A magyar óriás x magyar vadas keresztezés jónak bizonyult a hústípus kialakításához. Kosorrú fajtatiszta nyulakat alig tudtak felnevelni, ám a magyar vadas génjeit is hordozó nyulak életképessége jó volt. 1960-ban a magyar óriás tenyésztési tulajdonságainak (fedeztethetőség, alomlétszám) javulásáról, 1961-ben jobb testformáiról számoltak be (15. kép). A magyar óriás több színváltozatról (vadas, vasderes, fekete és egyéb átmeneti színek), azok állandó hasadásáról és az egyes színváltozatok eltérő életképességéről is említést tettek. 1961-ben aszály miatti takarmányozási problémák és átszervezési gondok voltak, amire a magyar óriások érzékenyebben reagáltak, mint a többi fajta. 1962-ben mixomatózis tört ki a telepen, a járvány és a selejtezés, valamint a folytatódó aszály főleg a magyar óriás állományát tizedelte meg, a túlélők teljesítménye jelentősen csökkent (16. kép). 1963-tól a bővülő nyúlhúsexport miatt az üzemszerű és tömeges nyúlhústermelés vált aktuálissá, az intézeti kutatók figyelme más nyúlfajták felé fordult, és megszűnt a magyar óriás kutatása.



16. kép. A magyar óriás nyúl növekedési görbéje. KÁTKI archívum, 1962

## A magyar óriás nyúl génbanki megőrzésének és kutatásának indokai

A magyar rögon kitenyészett magyar óriás nyúl agrártörténelmünk és hagyományaink része. A kistermelők körében és a kiállítási bírálatokon a természetét és a megjelenését illető állandó vita ellenére mindig is népszerű honi fajta volt, kevesen, de ma is ragaszkodnak hozzá. Génbanki megőrzésének és kutatásának indokai a következők:

A hobbitenyésztők birtokában lévő populációk létszáma ma nagyon kicsi. A kisüzemi nyúltelepeken 1984–1994 között még 4–9%-ban használtak magyar óriás anyanyulakat (Kustos, 1994). Azonban a kisüzemi termelés megszűntével a fajta kiszorult a termelésből. A mai populációkról kevés a dokumentált adat, az állományok küllemi, élettani és genetikai jellemzőit alig ismerjük.

A fajta korrekt megőrzéséhez indokolt lenne a magyar óriás két típusának elkülönítése, a hústermelésre szelektált kisebb testű gazdasági típusnak, illetve a nagytestű, a fajtastandard szerint szelektált kiállítási típusnak a céltudatos védelme. Ehhez genetikailag is jellemezni és védeni kell a fajta mindkét típusát.

Genetikailag a magyar óriás minden színváltozatát érdemes megőrizni. A nyúl szőrszínének genetikáját és öröklődését régóta kutatják. Vrillon és Rochambeau 1980-ban még öt színgén lókusztól írt. Jelenleg hat színgén lókusztól molekuláris szintű jellemzését végezték el (Fontanesi, 2016). Egy adott szőrszín (fenotípus) megjelenéséért sokszor több gén és azok egymásra hatása a felelős. Az is előfordulhat, hogy különböző genetikai háttér vezet hasonló szőrszínhez. A génmegőrzés szempontjából fontos, hogy a recesszív és ritka allélok ne hagyjuk elveszni. Eleink a vadas színű magyar óriások jobb ellenálló képességéről, míg a fehérek kedvezőbb vágóértékéről számoltak be. Feltehető, hogy ez nem a színgéneknek, sokkal inkább a genom többi részének és/vagy együttes hatásuknak köszönhető. Ebből következik, hogy a magyar óriás fajtában érdemes lenne a szőrszín és bizonyos tulajdonságok kapcsolatát is ellenőrizni.

## Magyar óriás nyúl nukleuszállomány és génbanki kutatás a HÁGK-ban

Az állami támogatással létrehozott és 2013 tavaszán hivatalosan átadott magyar óriás nyúl nukleusztelep több célt szolgál. A kialakított és *in vivo* fenntartott gödöllői populáció géntartálékot képez olyan esetekre, mint például a járványos nyúlbetegségek kitérőse (legutóbb az RHD-vírus új, RHDV2 variánsa), ami az érintett állományok kipusztulását, kényszerű kiirtását okozhatja. A magyar óriást tartók zöme csak 3–15 nyúllal dolgozik, bármikor nagy szükség lehet a kieső egyedek pótlására. A nukleuszállomány a genetikai bázist szélesebb alapokra helyezve segíti a fajta genetikai változatosságának fenntartását, és igény szerint megfelelő tenyészállományt kínál a nyúltenyésztőknek a rokon- vagy beltenyésztés elkerülésére. A nukleusztelepen korrekt és megbízható vizsgálatok végezhetőek, mert nagyobb létszám áll rendelkezésre, így pontosan ismertek és értékelhetőek a környezeti hatások.

A nukleuszállomány kialakításához 2012-ben és 2013-ban kistermelőktől szereztünk be középtestű, vadas színű növendék nyulakat. Az állományt műanyag rácspadozatú pihenővel, önetetővel és önitatóval felszerelt, mélyalmos fülkékben helyeztük el (17. kép). Jelenleg a termelő nyulakat nagyméretű, almozott ketrecekben tartjuk. Az állományt 30–40 termelő anyanyúl, 10 baknyúl és a szaporulata képezi (18–20. kép).



17. kép. Műanyag padozaton pihenő magyar óriás növendéknyulak a mélyalmozott fülkében (HáGK magyar óriás nyúl génbank) (Fotó: Eiben Csilla)



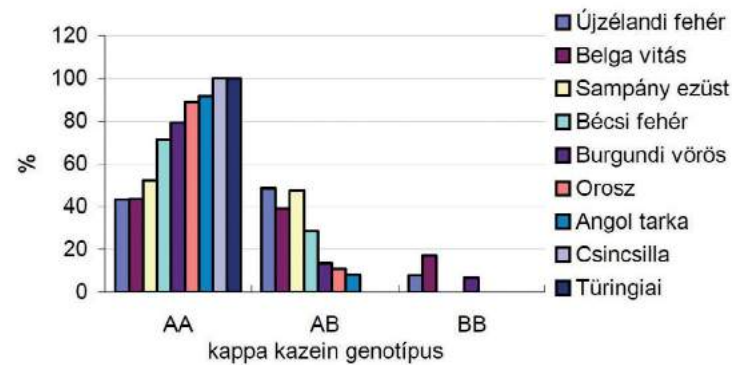
18. kép. Vadas színű magyar óriás anyanyúl (HáGK magyar óriás nyúl génbank) (Fotó: Eiben Csilla)



19. kép. Színváltozatok a vadas nyulaktól származó alomban (HáGK magyar óriás nyúl génbank) (Fotó: Eiben Csilla)



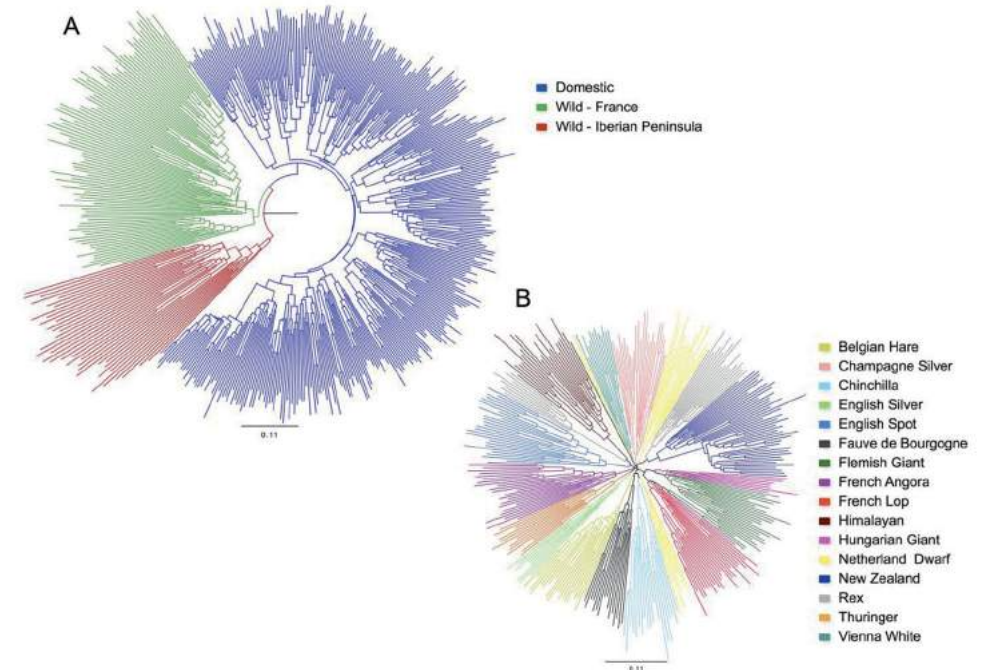
20. kép. A szőrzetbe fújva látható a szőrszálak sávos színeződése (HáGK magyar óriás nyúl génbank) (Fotó: Eiben Csilla)



34. ábra. Tejfehérje (kappa kazein) genotípusok gyakorisága különböző nyúlfajtákban (Bősze és munkatársai, 1999)

Lókuszt	Átlagos allélszám	Heterozigotitás	
		Várt ( $H_E$ )	Észlelt ( $H_O$ )
9 mikroszatellit (C.N.R.S.)	4,1	0,55	0,56
19 mikroszatellit (U.E.A.)	2,6	0,17	0,16
MHC RFLP (I.N.R.A.)	4	0,72	0,76
Kappa kazein RFLP (MBK)	2	0,36	0,33

8. táblázat. A magyar óriás genetikai változatossága DNS polimorfimuszok alapján (Virág és munkatársai, 2002)



35. ábra. Az üregi és a házi nyulak eredete a genetikai távolság alapján (Alves és munkatársai, 2015). A származási fák elkészítéséhez 45 mikroszatellit használtak. Az ágak színe 471 nyúl egyedi származása szerint készült.

(A) Az ibériai üregi nyulakból (piros) erednek a francia üregi nyulak (zöld), amelyekből a házi nyulak (kék) származnak.

(B) A 16 fajtából származó, 340 házi nyúl csoporton belüli származási kapcsolata. A magyar óriás (Hungarian Giant) 8 nyúlból álló csoportjának szerkezetét világos lila szín jelöli. A genetikai elemzés visszaigazolja, és jól tükrözi a magyar óriás eredetét

A helyes génmegőrzéshez a nyúlfajták genomjának feltárása is szükséges. Virág és munkatársai (1996) új-zélandi fehér, majd a RESGEN programban a magyar óriás fajtán is vizsgálták a tejfehérje gének polimorfizmusát (Bősze és munkatársai, 1999; Virág és munkatársai, 2002) és kapcsolatát a szaporasággal (Bolet és munkatársai, 2007), a szopósnyulak növekedésével (Bősze és munkatársai, 2000). A kappa kazein genotípusok gyakorisága különbözött az egyes



fajtákban, a csincsilla nyulakban csak az A allél volt kimutatható. A kappa kazein AB nyulaknál a születési alomlétszám meghaladta az AA genotípusú nyulakét. Az említett szerzők szerint a kappa kazein polimorfizmus markerként is használható a tenyésztésben (34. ábra, 8. táblázat).

A házi nyúl genetikai erőforrásainak felmérését, megőrzését és hasznosítását célzó közös európai kutatás (RESGEN) feladata volt egy adatbank létrehozása, tíz kijelölt fajtában a termelési mutatók értékelése, valamint a biodiverzitás jellemzése fehérje, mtDNS és mikroszatellit polimorfizmus vizsgálatokkal (genetikai változatosság és távolság, származási fa). A génmegőrzéshez *in vitro* mélyhűtött embrió- és spermabank létrehozását, a farmokon *in situ*, *in vivo* megőrzést is terveztek (Bolet és munkatársai, 1999). Alves és munkatársai (2015) további öt fajtát és az üregi nyulat is bevont a háziítás és a populációszerkezet vizsgálatához. Eredményeik alapján a francia üregi nyulakat az ibériai üregi nyulak genetikai csoportjába, az összes házi nyulat a francia üregi nyulakéba sorolták (35. ábra). A magyar óriás fajtánál a várt heterozigotitás ( $H_E=0,463$ ) és az allélgazdagság ( $A_r=2,52$ ) nagyobb volt, mint a vizsgált házi nyúl-fajták átlaga ( $H_E=0,457$  és  $A_r=2,39$ ; 9. táblázat). A fajták mikroszatellit alapú osztályozása jól tükrözte a magyar óriás történetét: genetikailag a flamand óriás és a francia kosorrú fajtákhoz állt közel (36. ábra).

Strains		$n^a$	$Na^b$	$A_r^c$	$Par^d$	$He^e$	
Groups	Wild (Iberian Peninsula)	39	11.044	10.68	4.11	0.825	
	Wild (France)	92	8.444	7.27	0.67	0.723	
	Domestic	340	6.356	4.80	0.15	0.581	
Breeds	Belgian Hare	21	2.822	2.14	0.03	0.369	
	Champagne Silver	25	3.378	2.45	0.06	0.465	
	Chinchilla	20	3.178	2.51	0.10	0.490	
	English Silver	8	2.667	2.39	0.05	0.479	
	English Spot	25	3.000	2.24	0.04	0.426	
	Fauve de Bourgogne	16	3.178	2.42	0.07	0.462	
	Flemish Giant	25	3.222	2.35	0.05	0.442	
	French Angora	25	3.200	2.39	0.07	0.457	
	French Lop	25	3.578	2.60	0.10	0.498	
	Himalayan	23	3.244	2.37	0.05	0.434	
	<b>Hungarian Giant</b>	<b>8</b>	<b>2.933</b>	<b>2.52</b>	<b>0.04</b>	<b>0.463</b>	
	Netherland Dwarf	25	3.644	2.60	0.08	0.489	
	New Zealand	42	3.111	2.28	0.07	0.435	
		INRA 1077	24	2.089	1.78	0.03	0.305
		INRA 9077	18	2.800	2.39	0.07	0.469
	Rex		25	3.333	2.33	0.05	0.505
		Castor	9	2.000	1.90	0.00	0.357
		Chinchilla	9	2.311	2.04	0.02	0.372
		White	8	2.489	2.29	0.02	0.439
	Thüringer		13	2.778	2.28	0.05	0.436
Vienna White		14	2.911	2.39	0.02	0.460	
<b>Mean*</b>			3.136	2.39	0.06	0.457	
<b>SE*</b>			0.069	0.032	0.006	0.008	

<sup>a</sup> Number of individuals

<sup>b</sup> Number of observed Alleles

<sup>c</sup> Allelic Richness

<sup>d</sup> Private Allelic Richness

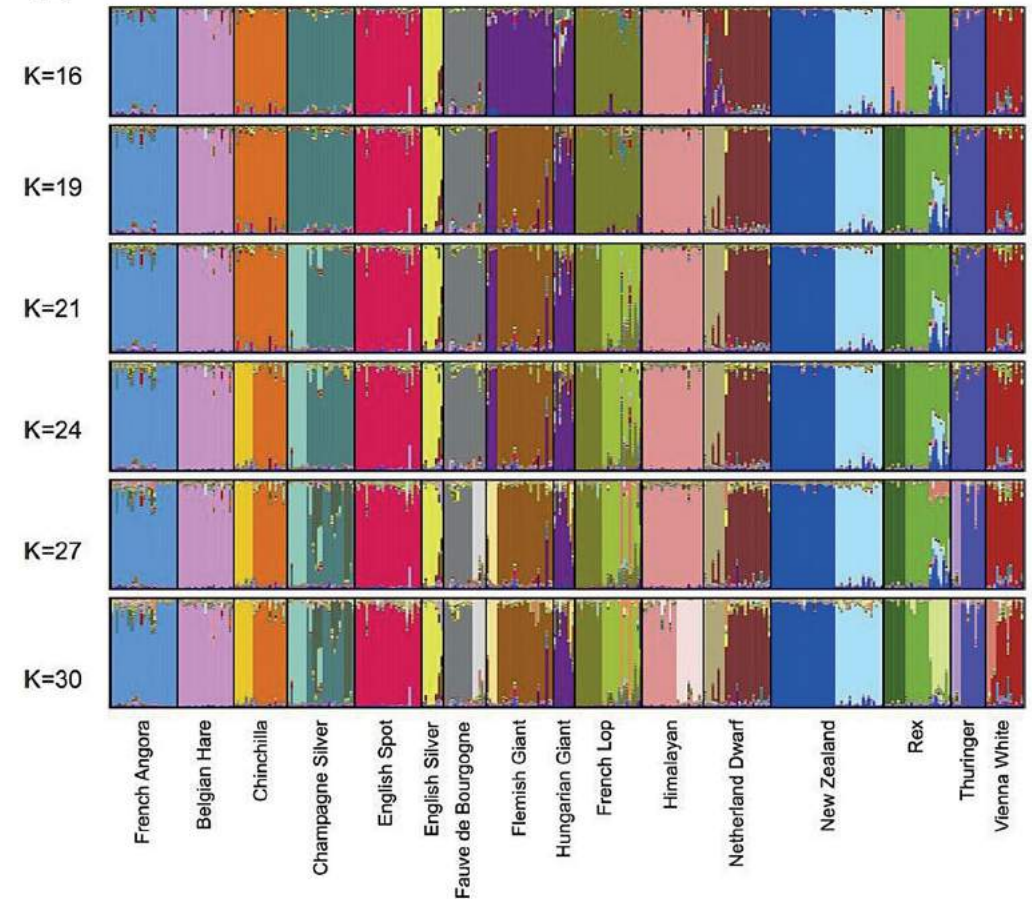
<sup>e</sup> Expected Heterozygosity

\* Values for breeds only. The strains were not considered in the calculation.

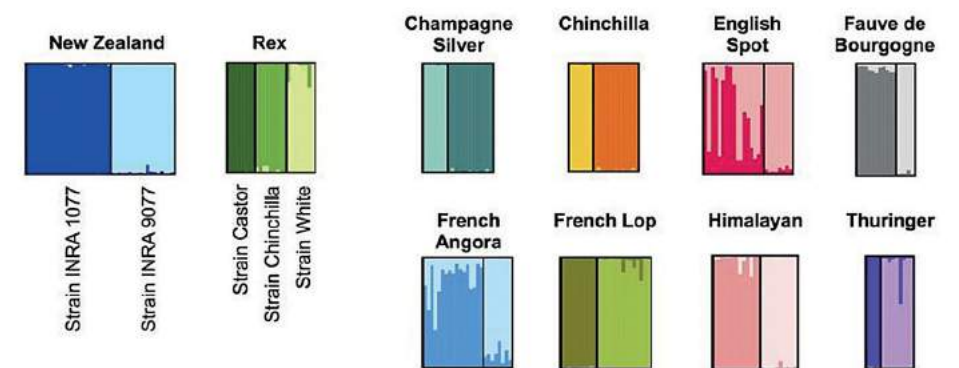
9. táblázat. A csoportok és fajták genetikai diverzitásának jellemzői (Alves és munkatársai, 2015).

a: egyedszám; b: megfigyelt allélok száma; c: allélgazdagság; d: egyedi allélgazdagság; \* elvárt heterozigotitás; \* az értékek csak a fajtákra vonatkoznak, a törzseket nem vették figyelembe a számításokhoz

A



B



36. ábra. A házi nyulak egyedi besorolása Bayesian klaszter analízissel (STRUCTURE) (Alves és munkatársai, 2015).

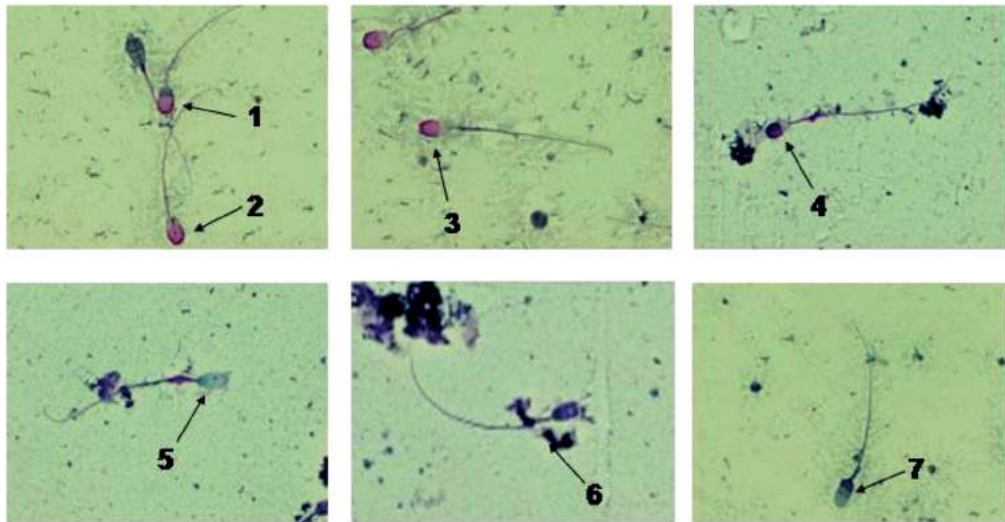
(A) reprezentatív futások 16 fajtából származó 340 házi nyúllal, különböző K-értékekkel

(B) reprezentatív futások 10 fajtával, K=2 és K=3 értékekkel (kizárólag rex)



Intézetünk a mesterséges termékenyítés kezdetétől foglalkozott az ondóminősítéssel és tárolással. *Baranyai és munkatársai (2001)* kétféle mélyhűtési protokollt új-zélandi fehér nyulakkal előzetesen tesztelve a spermák túlélési arányának a 91%-ról 70 és 19%-ra való csökkenését észlelték. Feltételezték, hogy egyedi különbség lehet az ondó mélyhűthetőségében a baknyulak között.

*Polgár és munkatársai (2005)* új-zélandi fehér fajtán a mélyhűtésnek az ondósejtekre gyakorolt hatását vizsgálva (37. ábra) egyedi különbségeket kaptak az egyes bakoktól nyert spermák fagyasztási érzékenységében. A magyar óriás spermamélyhűtésének génmegőrzési kutatása részfeladat volt az „Alternatív biotechnológiai módszerek bevezetése a magyar *in vitro* baromfi- és nyúlgénbank fejlesztése céljából” című, intézeti KTIA\_AIK\_12-1-2013-002 kutatási programban.



37. ábra. Kovács-Foote módszerrel festett spermasejtek (Polgár és munkatársai, 2005). 1: holt sejt ép akroszómával; 2: élő sejt ép akroszómával; 3: élő sejt ép akroszómával és festődő farokkal; 4: holt sejt sérült akroszómával; 5: élő sejt akroszóma nélkül; 6: holt sejt akroszóma nélkül; 7: élő sejt sérült akroszómával

## A házi nyúl *in vitro* génmegőrzése: ondó/petefészek/petesejt/embrió hosszú távú tárolása

### Ondósejt

A mesterséges termékenyítést gyakran végzik hűtött és rövid ideig tárolt (max. 36 óra) ondóval, amellyel jó a termékenyülés és a szaporaság. A mélyhűtött spermabank létrehozása iránt a szaporító állomások is érdeklődnek. Többféle nyúlsperma-mélyhűtési/kiolvasztási eljárás van (*Mocé és Vicente, 2009*), melyeket a génmegőrzési programokban használnak, de a szaporasági eredmény ma még gyengébb, mint a friss ondóval. Az ondó fagyaszthatósága

a friss spermakonzentrációtól és a motilitástól függ, ami fajtánként és bakonként is változó. A fagyaszthatóság örökölhető lehet (*Lavara és munkatársai, 2013a*). A sperma fejének jellemzői örökölhetők, a fej kisebb felülete csökkent termékenyüléssel jár. A kis spermafej oka lehet környezeti, de úgy tűnik, hogy a nagyobb súlygyarapodást segítő gének rontják az akroszóma állapotát, és növelik a rendellenes spermák arányát (*Lavara és munkatársai, 2013b*). A nagyobb élősúly rontotta a libidót és a sperma minőségét, ezáltal az új-zélandi fehér bakok szaporító képességét (*Rodríguez-De Lara és munkatársai, 2015*). *Brun és munkatársai (2016)* szerint az ondótulajdonságok örökölhetőségi értéke ( $h^2$ ) 0,05 és 0,18 közötti. A mozgó sejtek aránya öröklődött a legjobban (0,18) és a kiszámított genetikai korrelációk alapján jó szelekciós kritérium lehet a spermasejtszám és a motilitás egyidejű szelekciójához. A magyar óriás és más, nagytestű fajta *in vitro* génmegőrzése során mindezt érdemes figyelembe venni.

*Joly és munkatársai (1996)* az ondó- és az embriómélyhűtés hatékonyságát vizsgálták. A motilitás alapján az ejakulátumok 1/3-a volt használható. Egy mélyhűtött ondóadagból vagy embrióból átlagosan 2,5, illetve 0,3 termékeny utódot nyertek. Egy populáció biztonságos *ex situ* megőrzéséhez szerintük 400 adag mélyhűtött ondó és 500 mélyhűtött embrió szükséges.

A humán betegségek modelljeként használt transzgenikus nyulak megőrzésében olcsóbb és egyszerűbb mód a sperma mélyhűtése az embrió helyett. Azonban a többgénés tulajdonságoknál, amikor egy fenotípus kifejeződéséhez több gén együttes hozzájárulása kell, mélyhűtött embrió szükséges, mert a fenotípus eltűnhet a mélyhűtött sperma és a vad genotípusú petesejt gének kombinálódásával. Tojássárgája-acetamid hígítóval a transzgenikus sperma felolvasztás utáni motilitása 38% volt. Anyánként 20 millió mozgó spermiumot tartalmazó termékenyítő adaggal a vemhesülés 60–80%, az alomlétszám 4–5 volt. A termékenyítéshez több mint 40 millió mozgó spermiumot használva az eredmény közel hasonló, mint a friss ondóval (*Kitajima, 2008*).

Magyar kutatók szerint (*Kerekes és munkatársai, 2012*) a mélyhűtött spermiumok túlélési aránya ritkán éri el a termékenyítéshez szükséges 35–40%-os minimumot, ezért vizsgálták a mélyhűtési eljárásokat. *Balogh és munkatársai (2013)* a tej alapú hígítók használhatóságát vizsgálták a sperma mélyhűtésnél. *Varga és munkatársai (2009)* a mélyhűtött ondóval való termékenyülés javítását célozták.

Hazánk üregi nyúl populációinak génmegőrzéséhez egy spermabank létrehozását tervezik. Adaptálták a házi nyúlnál bevált spermamélyhűtési módszert (*Bodó és munkatársai, 2012*), amivel termékenyítőképes sperma tárolható (*Debnár és munkatársai, 2015*). Kritikus pont az ondó elszállítása a spermavételi helytől a fagyasztóhelyig. A számítógépes (CASA) ondóvizsgálat alapján a szállítás előtti Weitze-Tris hígítással javultak a spermiumok mozgási mutatói. Előnyös, hogy a Weitze-Tris hígítót a mélyhűtéskor nem kell eltávolítani (*Debnár és munkatársai, 2016*).

### Petefészek, petesejt

Az éretlen tüszők ezreit tartalmazó petefészekszövet mélyhűtése az anyai oldalról teszi lehetővé a génmegőrzést. *Neto és munkatársai (2005)* a fagyasztáshoz a petefészek optimális szállítási közegét és idejét vizsgálták (38. ábra). A lassú mélyhűtési módokat értékelve kimutatták, hogy a tüszők morfológiájára főképp a hűtési sebesség hatott. A normális tüszők mélyhűtés

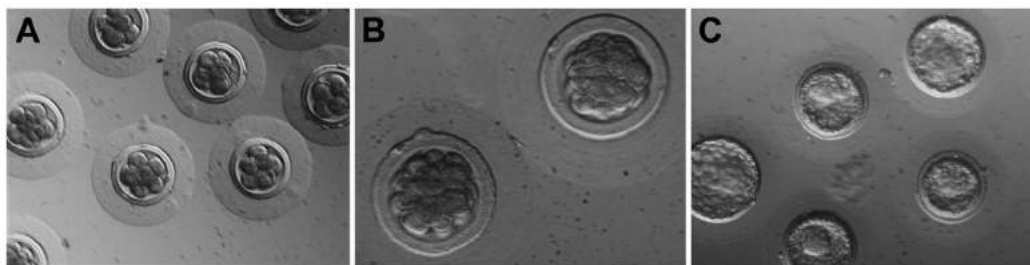
utáni aránya (66%) nagymértékben csökkent a friss kontrollhoz képest (83%). A sikeres átültetésből utódok születtek (*Neto és munkatársai, 2008*). A petefészek-mélyhűtést *Joly és munkatársai 2008*-ban még új génmegőrzési eljárásként említik.

*Polgár (2012)* a petesejtek és az embriók gazdaságos kinyeréséhez és *in vitro* érleléséhez vizsgálta a hőmérséklet és az érlelő közeg hatásait. A műszalmás, ultragyors mélyhűtési (vitrifikációs) technikával (VS3a) a blasztocisztaarány csak 9%, de az apró térfogatossal eljárással (SSV) sokkal jobb, 43% volt. A kéméletesebbnek bizonyult SSV technikát *in vitro* előállított zigótán is tesztelve szintén jó embriófejlődést (36%) kapott.

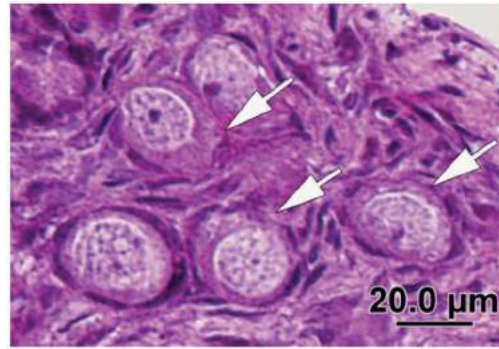
A lassan mélyhűtött petesejtek beültetésével az élve születés 13% (*Jiménez-Trigos és munkatársai, 2014*). A nyúl petesejtjei nagyon érzékenyek az alacsony hűtési hőmérsékletre és védőanyagokra (krioprotektánsokra). Mindössze négy közlemény jelent meg petesejt vagy zigóta beültetését követő élő születésről (3–13% vagy 4–36%), egy a 80-as években és három nemrégiben. A 8 sejtes embriók már jobban tűrik a mélyhűtést (*Kulíková és munkatársai, 2016*).

## Embrió

Az embriómélyhűtés előnye, hogy megőrizhető a teljes apai és anyai genom, a populációintegritás és -heterozigotitás (*Saenz-de-Juano és munkatársai, 2014*). A nyúl sajátossága, hogy az ovuláció időpontja ismert (a pázás vagy hormonkezelés váltja ki), ezért pontosan tudjuk a levált petesejt vagy embrió korát és fejlődési állapotát (*39. ábra*). Faji különlegessége, hogy a petevezetőben haladva a zigóta körül egy mucinréteg alakul ki, ami védi az embriót és segíti a beágyazódást. Az *in vitro* tenyésztett embrióknál ez hiányzik, ami implantációs gondot okoz. Az alomlétszámra végzett szelekcióval változhat az embriófejlődés (*García és munkatársai, 2016*). A génmegőrzést tekintve, a mélyhűtés sikere függ az embrió és a recipiens anya genotípusától is.



39. ábra. Új-zélandi fehér embriók (A) 38–40 órával a termékenyítés, és további (B) 24 és (C) 48 óra *in vitro* tenyésztés után (*Viudes-de-Castro és munkatársai, 2015*)



38. ábra. Optimálisan szállított (TCM 199, 10 °C) nyúlüzőzők (*Neto és munkatársai, 2005*)

*Joly és munkatársai (1996)* kétféle embriómélyhűtés hatékonyságát vizsgálták a nyúl genetikai erőforrások megőrzéséhez (FSH+lassú mélyhűtés és vitrifikáció). Az embrió mélyhűtésekor – a spermával ellentétben – a mitokondriális genom is megőrizhető (*Joly, 2008*). Kidolgoztak egy lassú mélyhűtési standard módszert, amellyel az anyanyulak 65–75%-ától 20–30 mélyhűtött embriót nyertek, a fajtától és a fiziológiai állapottól függően. Az embriófelolvasztás és beültetés után a nyulak 80%-a legalább egy élő utódot fialt. Az embrió túlélés aránya (született nyulak száma/beültetett embriók száma) átlagosan 40% körüli, de jelentős eltérések tapasztalhatók (17–53%) a genotípustól és a környezeti hatásoktól függően. A francia nemzeti kriobank több mint 15 ezer mélyhűtött embriót tárol 50 különböző genotípusból (veszélyeztetett fajták, kereskedelmi törzsek, transzgenikus vonalak) (*Joly, 2008*).

Az évekig mélyhűtve tárolt embriók életképességéről keveset tudunk. *Salviatti és munkatársai (2008)* ezért vizsgálták egy veszélyeztetett fajta (*Brun Marron de Lorraine*) 1992-ben lassan lefagyasztott embrióinak (morula) 2006-ban történt felolvasztása és beültetése utáni túlélését, ami 51% volt.

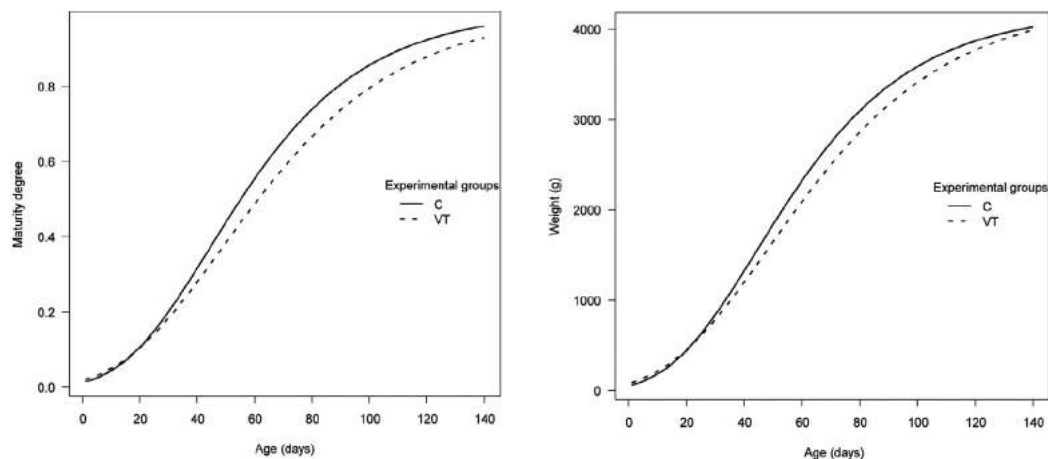
A szuperovulációval sok érett petesejt (20–40) és jó minőségű embrió nyerhető. A mélyhűtött embriók beültetése utáni túlélés 50% körüli, de ez függ az embriók és a recipiens anya genotípusától és állapotától. Az embriófagyasztás eszköz lehet a biodiverzitás megőrzését célzó, állattenyésztési- és laborgénbankok (transzgenikus klónok) létrehozásában, védelmet jelent a veszteségek (betegség, egyéb kockázatok) ellen (*Vicente, 2008*).

Genetikai szempontból, a beltenyésztett törzsektől származó embriók fagyasztása hasznos lehet kontroll populációk kialakításához, amelyekkel a genetikai sodródás és előrehaladás pontosabban vizsgálható a tenyésztési programokban (*Piles és Blasco, 2003; Vicente, 2008*). Az embrió mélyhűtése az intenzív szelekcióban is segíthet. *García-Ximénez és munkatársai (1996)* egy anyai vonal létrehozásához nagy szelekciós intenzitással szelektáltak több nyúltelepen az alomlétszámra. A fagyasztás oka, hogy a kijelölt csúcstermelésű anyákat ne kelljen egy telepre szállítani és összefűzve továbbszaporítani, jelentősen csökkentve a vonalkialakítás idő- és helyigényét, a betegségek kockázatát. A normális embriókból a fagyasztás/felolvasztás, a beültetés és a megszületés után 43% érte el a 9 hetes életkort.

*Lavara és munkatársai (2010)* egy embrióbank háromévi működését közölték. A valenciai egyetem (UPC) öt törzset képviselő 300 anyanyulától 3 ezer gyorsfagyasztott embriót tároltak. A genetikai előrehaladás vizsgálatához a felolvasztott embriókból két törzset újraalkottak. A mélyhűtött embriókat sikeresen exportálták.

Az ultragyors fagyasztás (vitrifikáció) a 80-as évektől ismert, de drágább, mint a régebbi lassú fagyasztás, ezért lassabban terjedt el. A vitrifikációval jobb eredmény érhető el, mint a lassú mélyhűtéssel (*Saenz-de-Juano és munkatársai, 2014; Kulíková és munkatársai, 2016*). Ennek egyik oka, hogy lassú fagyasztáskor gyakran sérül az embriót körülvevő *zona pellucida* és a mucinréteg. Ma számos vitrifikációs technika létezik. A Cryotop és a CPIL eszközt használva az embriók gyorsfagyasztáshoz, az embrionális (44 és 50%) és a magzati elhullás (10 és 15%) megegyezett, de a CPIL költségkímélőbb. A gyorsfagyasztott embrióknál, a frissel ellentétben volt egy elhullási csúcs az implantáció előtt (*Marco-Jiménez és munkatársai, 2016*).

Az embriómélyhűtésnek és az átültetésnek hosszú, generációkon átnyúló, öröklődő epigenetikai hatásai lehetnek. A szaporaságban pozitív változást tapasztaltak (*Lavara és munkatársai,*



40. ábra. A kontroll (C) és a gyorsfagyasztott-beültetett (VT) nyulak növekedési és fejlődési görbéje (Lavara és munkatársai, 2015).

Age (days): életkor (napok); Weight (g): Élő súly (g); Maturity degree: fejlettségi szint

2014), de a növekedési és a fejlődési ütemben is eltérés volt (Lavara és munkatársai, 2015) (40. ábra). A vitifikációnak hatása lehet a méhen belüli, sőt, a felnőtt életre is, az embriófagyasztás nem semleges, további vizsgálatok szükségesek hatásai kiderítésére (Saenz-de-Juano és munkatársai, 2015).

## Molekuláris genetikai markerek és genomvizsgálatok házi nyúlban

A nyúlban kevés fajtán és kevés genetikai markerrel végeztek molekuláris genetikai vizsgálatokat. A populációszerkezetéről, a fajták genetikai polimorfizmusairól kevés az adat (Tumová és munkatársai, 2012; Alves és munkatársai, 2015; Sternstein, 2015).

Rouvier 1980-ban még csak 70 ismert lókuszt írt: 1/3-uk a szőrzettel, 1/3-uk a vércsoportok és az antitestek termelésével, mások az öröklődő betegségekkel kapcsolatosak. A termelést befolyásoló, nagyhatású géneket még alig ismerték, de tudták, hogy vannak káros, recesszív gének. A 90-es években kromoszómvizsgálatok is folytak (Brunner és munkatársai, 1992).

Rochambeau (1988) összegezte a nyúl molekuláris biológiai ismereteket. A több mint 60 leírt genetikai marker egy része látható hatású, mások enzimeket kódolnak. Később 37 markert lokalizáltak 8 autoszómán és az X kromoszómán, 23 markert soroltak 6 kapcsoltságú csoportba, de 6 marker helye még tisztázatlan volt (Rochambeau, 1997).

Mulsant és Rochambeau (1996) a genetikai változatosság, a géntérképezés és a szelekció kapcsán összegezték a molekuláris genetikai lehetőségeket. A többi állatfajjal szemben 1990-ig nem volt nyúl géntérkép, a Genbank és EMBL adatbázisban 1000 feletti, elsősorban cDNS szekvenciát rögzítettek. Ekkor még drága volt a QTL kutatás és a markerszelekcióhoz kevés mikroszatellit markert és nagyhatású gént ismertek.

A biokémiai, vércsoport, immun- és enzimfehérje polimorfizmusokat a származás ellenőrzésére (Varga és Pálovics, 1988), mások az allélgyakoriság, a genetikai variabilitás és a fajták

közötti genetikai távolság becslésére (Martin-Burriel és munkatársai, 1996), a fajták jellemzésére és a köztük lévő különbségek feltárására használták (Martinez és munkatársai, 2012). Rangoju és munkatársai (2007) RAPD technikával, El-Sabrouh és Aggag (2015) ISSR- (inter simple sequence repeat) és fehérjemarkerekkel vizsgálták a fajták közötti genetikai variabilitást.

Mikroszatellit markerekkel többen kutatták a nemzeti vagy a helyi fajták eredetét, genetikai sajátosságait (Ben Larbi és munkatársai, 2012; Grimal és munkatársai, 2012).

A színgének kutatása a magyar óriás nyúl génmegőrzésében és jellemzésében is segíthet. Fontanesi és munkatársai (2007a) többféle eljárást teszteltek az MC1R génmutáció genotipizálásához. Azonosítottak 4 SNP-t az aguti (ASIP) génben, amelyek markerek lehetnek a különböző fajták szőrszínének vizsgálatánál (Fontanesi és munkatársai, 2007b). Transzkripció, származási és génkifejeződési vizsgálatokkal epiztatikus hatást észleltek két színgén között, és leírták, hogy az aguti színt meghatározó gének más tulajdonságra is hatása lehet (Fontanesi és munkatársai, 2010).

A nyúl genetikai erőforrások értékelése során fontos a mtDNS és a genetikai polimorfizmusok vizsgálata (fehérje, mikroszatellit lókusztok, allélgyakoriság), a fajták közötti genetikai távolság mérése (Bolet és munkatársai, 1996; 1999; 2002). A molekuláris markereket felhasználták a házi nyúl eredetének és domesztikációjának genetikai vizsgálatához, az üregi- és a házinyúl-populációk szerkezetének kutatásához (Hardy és munkatársai, 1995; Monnerot és munkatársai, 1996; Branco és munkatársai, 2000; Bolet és munkatársai, 2008; Alda és Doadrio, 2014; Ben Larbi és munkatársai, 2014; Alves és munkatársai, 2015; Emam és munkatársai, 2016; 2017). Carneiro és munkatársai (2014) teljes genom szekvenálással és 1635 SNP vizsgálatával megállapították, hogy a domesztikációval kevés SNP fixálódott, ám sok lókuszon az allélgyakoriság változott.

A géntérképezés fontos eszköz a termelési tulajdonságokért és betegségekért felelős QTL-ek (kvantitatív tulajdonságokat meghatározó lókusztok) azonosításában és helyük megtalálásában. Korstanje és munkatársai (2000) AFLP és SLP markereket használtak a géntérképezéshez. Fadiel és munkatársai (2003) a nyúl genom kodon- és aminosavelemzését végezték. Franciaországban 2001-től dolgoznak egy genetikai és citogenetikai géntérkép létrehozásán (Chantiry-Darmon és munkatársai, 2005). A mikroszatellit alapú géntérkép és adatbázis 2008-ban már lehetővé tette a genetikai változékonyság vizsgálatát, a QTL-ek keresését és a markerszelekciót. FISH módszerrel 250 gént térképeztek a 23 kromoszómán és feltérképezték az albinizmus és az angóra jelleget (OCU1 és 15) (Bolet, 2008; Hayes és munkatársai, 2008). A nyúl genom (OryCun2.0) 2005-től érhető el ([http://www.ensembl.org/Oryctolagus\\_cuniculus/index.html](http://www.ensembl.org/Oryctolagus_cuniculus/index.html)). Pontosítása ma is tart, a szekvenciák mindössze 82%-át sikerült kromoszómákra térképezni. A nyúlgenetikai kutatások eredményeit legutóbb Fontanesi (2016) foglalta össze: a genomszekvenálás és az új genomikai eszközök (DNS-chip) új lehetőséget teremtettek a tenyésztés, a biotechnológia, a génmegőrzés és a genetikai erőforrások kezelése terén. Több kutatás a gazdasági tulajdonságokkal (hústermelés és minőség, takarmányértékesítés, szaporaság, betegségrezisztencia) összefüggő DNS-markerek azonosítását célozta. Számos szőrszín- és szőrmorfológiai lókuszt már molekuláris szinten jellemeztek és azonosították az oki mutációt. A nyúl genomban 2016-ig 19 203 kódoló gént és 3375 nem-kódoló gént írtak le, 50 millió az azonosított pontmutációk (SNP), 5,6 millió az inzerció/deléción mutációk és 155 a kópiaszám-variációk (CNV) száma. Új módszer az SNP alapú genomikus szelekció, ami felgyorsíthatja a szelekciót



ős előrehaladást. Azonban a gyengén öröklődő tulajdonságoknál a használhatósága még nem tisztázott (*Blasco és Toro, 2014*).

Az orvosbiológiai és a génműködési kutatásokhoz nemcsak összejtvonalat, transzgenikus vagy újabban génkiütött (KO) nyulakat hoztak létre, de a spontán mutációkat, a genetikai betegségeket hordozókat is keresik, és használják a génkifejeződési (génexpressziós) vizsgálatokban. A génmegörzés része az érdekes fenotípusok, a ritka génváltozatok kutatása. A genetikai diverzitás vizsgálata és fenntartása a klímaváltozással, a vadon élő populációk hasznosíthatóságával is összefügg. A génszerkesztés fejlődésével a transzgenikus modellek már könnyen elérhetőek lesznek. A biotechnológia az elmúlt 4–5 évben fejlődött odáig, hogy jó hatékonysággal képes az új génszerkesztési módszerekkel (CRISPR/CAS) KO nyulakat létrehozni. Ez nagyon értékes lehet, mert bizonyos emberi betegségek (szívbetegségek, érelmeszesedés) sokkal jobban modellezhetőek nyulakban, mint rágcsálókban (*Bodó és munkatársai, 2004; Bősze és Houdebine, 2006; Táncos és munkatársai, 2012; Garreau és munkatársai, 2012; Hoffmann és munkatársai, 2015, 2016; Niimi és munkatársai, 2016; Bősze és munkatársai, 2016; Chavatte-Palmer és munkatársai, 2016; Tan és munkatársai, 2016; COST Action BM1308*).

A korrekt génmegörzéshez a magyar óriás nyúlajtában is érdekes lehet a genetikai polimorfizmusok keresése, és az olyan vizsgálatok, mint például a gének kapcsolata a testsúllyal vagy húsmínőséggel (*Sternstein és munkatársai, 2015; Abdel-Kafy és munkatársai, 2016*), a betegségekkel szembeni rezisztenciával (*Fu és munkatársai, 2015; Zhang és munkatársai, 2014*), a szaporasággal (*Bolet és munkatársai, 2007*) vagy a szőrzettel (*Fontanesi és munkatársai, 2010; Liu és munkatársai, 2016*).

## Irodalomjegyzék

- Abdel-Kafy, E. M., Darwish, S. F., Elkhishin, D. (2016): Correlating single nucleotide polymorphisms in the myostatin gene with performance traits in rabbit. *World Rabbit Science* 24(3): 213-221.
- Ajani, B. A., Oseni, S. O. (2012): Morphological characterisation and principal component analysis of body dimensions in Nigerian population of adult rabbits. *Proc. 10th World Rabbit Congress*, 3-6 September, Sharm El-Sheikh, Egypt. 229-230 p.
- Alda, F., Doadrio, I. (2014): Spatial genetic structure across a hybrid zone between European rabbit subspecies. *PeerJ* 2: e582.
- Altbäcker, V. (2003): Borókás üreginyúl: Egy állati tradíció kialakulása és következményei. *Magyar Tudomány* 48(8): 970-975.
- Alves, J. M., Carneiro, M., Afonso, S., Lopes, S., Garreau, H., Boucher, S., Allain, D., Queneys, G., Esteves, P. J., Bolet, G., Ferrand, N. (2015): Levels and patterns of genetic diversity and population structure in domestic rabbits. *PLoS One* 10(12): e0144687.
- Angulo, E., Villafuerte, R. (2003): Modelling hunting strategies for the conservation of wild rabbit population. *Biological Conservation* 115: 291-301.
- Baczkó, I., Jost, N., Virág, L., Bősze, Zs., Varró, A. (2016): Rabbit models as tools for preclinical cardiac electrophysiological safety testing: Importance of repolarization reserve. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 121: 157-168.
- Baker S. J. (2010): Control and eradication of invasive mammals in Great Britain. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties* 29(2): 311-327.
- Balogh, L., Kerekes, A., Debnár, V. J., Ray, K., Bodó, Sz. (2013): Tej alapú hígítók alkalmazásának lehetősége nyúl sperma mélyhűtésénél. *Animal Welfare Ethology and Housing Systems* 9(3): 69-72.

- Baranyai, B., Somfai, T., Virág, Gy., Laczkó, L., Chol, R. H., Polgár, Zs., Gócza, E. (2001): Nyúlsperma hosszútávú tárolási lehetőségek vizsgálata. 13. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 23, Kaposvár. 47-53 p.
- Ben Larbi, M., San-Cristobal, M., Chantry-Darmon, C., Bolet, G. (2012): Genetic diversity of rabbit populations in Tunisia using microsatellite markers. *Proc. 10th World Rabbit Congress*, 3-6 September, Sharm El-Sheikh, Egypt. 31-35 p.
- Ben Larbi, M., San-Cristobal, M., Chantry-Darmon, C., Bolet, G. (2014): Population structure in Tunisian indigenous rabbit ascertained using molecular information. *World Rabbit Science* 22(3): 223-230.
- Bielanski, P., Kowalska, D., Wrzecionowska, M. (2012): Conservation programme for the native Polish breed of Popielno white rabbits. *Proc. 10th World Rabbit Congress*, 3-6 September, Sharm El-Sheikh, Egypt. 119-122 p.
- Blasco, A., Toro, M. A. (2014): A short critical history of the application of genomics to animal breeding. *Livestock Science* 106: 4-9.
- Bodó, Sz, Gócza, E, Révay, T, Hiripi, L, Carstea, B, Kovács, A, Bodrogi, L., Bősze Zs. (2004): Production of transgenic chimeric rabbits and transmission of the transgene, through the germline. *Molecular reproduction and development* 68(4): 435-440.
- Bodó, Sz., Kerekes, A., Kriczky, N., Balogh, L., Bősze, Zs. (2012): Nyúlsperma mélyhűtési eljárás optimalizálása. 34. Óvári Tudományos Nap, október 5, Mosonmagyaróvár. 225-229 p.
- Bolet, G. (2008): From wild rabbits to INRA strains: Genetic diversity of *Oryctolagus cuniculus*. *World Rabbit Science* 16(1): 51-52.
- Bolet, G., Baselga, M., Monnerot, M., Rouvier, R., Roustan, A., Brun, J. M. (1996): Evaluation, conservation and utilization of rabbit genetic resources: Situation and prospects in the Mediterranean region and in Europe. *Proc. 6th World Rabbit Congress*, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 249-253 p.
- Bolet, G., Monnerot, M., Arnal, C., Arnold, J., Bell, D., Besenfelder, U., Boucher, S., Bősze, Zs., Brun, J. M., Chanteloup, N., Ducourouble, M. C., Durand-Tardif, M., Ferrand, N., Hewitt, G., Joly, T., Koehl, P. F., Laube, T., Lechevestrier, S., López, M., Masoero, G., Piccinin, R., Renard, J. P., Saleil, G., Surridge, A., van der Loo, W., van Hommerig, J., Vicente, J. S., Virág, Gy., Zimmermann, J. M. (1999): A házinyúl genetikai forrásainak felmérésére, értékelésére, megőrzésére és hasznosítására irányuló európai kutatási együttműködés ismertetése. 11. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 26, Kaposvár. 97-102 p.
- Bolet, G., Brun, J. M., Monnerot, M., Abeni, F., Arnal, C., Arnold, J., Bell, D., Bergoglio, G., Besenfelder, U., Bősze, Zs., Boucher, S., Chanteloup, N., Ducourouble, M. C., Durand-Tardif, M., Esteves, P. J., Ferrand, N., Gautier, A., Haas, C., Hewitt, G., Jehl, N., Joly, T., Koehl, P. F., Laube, T., Lechevestrier, S., López, M., Masoero, G., Menigoz, J. J., Piccinin, R., Querney, G., Saleil, G., Surridge, A., van der Loo, W., Vicente, J. S., Viudes de Castro, M. P., Virág, Gy., Zimmermann, J. M. (2000): Evaluation and conservation of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) genetic resources. First results and inferences. *Proc. 7th World Rabbit Congress*, 4-7 July, Valencia, Spain. Vol. 8(Suppl. 1): 281-315 p.
- Bolet, G., Devinoy, E., Virág, Gy., Harsányi, I., Bősze, Zs. (2007): Association between litter size and the K-casein genotype in the INRA rabbit lines. *World Rabbit Science* 15(3): 147-150.
- Bolet, G., Monnerot, M., Besenfelder, U., Bősze, Zs., Boucher, S., Ferrand, N., Hewitt, G., Joly, T., Lechevestrier, S., Lopez, M., Masoero, G., van Der Loo, W., Vicente, J., Virag, Gy. (2002): Inventory, characterisation and conservation of European rabbit genetic resources. *Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 19-23 August, Montpellier, France. Comm. 04-11.
- Bősze, Zs., Bolet, G., Mészár, Z., Virág, Gy., Devinoy, E. (2002): Relation between litter size and kappa casein genotype in INRA rabbit lines. *Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 19-23 August, Montpellier, France. Comm. 08-10.
- Bősze, Zs., Hiripi, L., Virág, Gy., Tóth, Sz., Makovics, F., Fontaine, M. L., Devinoy, E. (2000): Polymorphism of the rabbit kappa casein gene and its influence on performance traits. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology* 439(3): R2-3.
- Bősze, Zs., Houdebine, L. M. (2006): Application of rabbits in biomedical research: A review. *World Rabbit Science* 14(1): 1-14.
- Bősze, Zs., Major, P., Baczkó, I., Odening, K. E., Bodrogi, L., Hiripi, L., Varró, A. (2016): The potential impact of new generation transgenic methods on creating rabbit models of cardiac diseases. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 121: 123-130.

- Branco, M., Ferrand, N., Monnerot, M. (2000): Phylogeography of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in the Iberian Peninsula inferred from RFLP analysis of the cytochrome b gene. *Heredity* 85: 307-317.
- Branco, M., Monnerot, M., Ferrand, N., Templeton, A. R. (2002): Postglacial dispersal of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) on the Iberian Peninsula reconstructed from nested clade and mismatch analyses of mitochondrial DNA genetic variation. *Evolution* 56(4): 792-803.
- Brun, J. M., Sanchez, A., Ailloud, E., Saleil, G., Theau-Clément, M. (2016): Genetic parameters of rabbit semen traits and male fertilising ability. *Animal Reproduction Science* 166: 15-21.
- Brunner, R. M., Knopp, A., Rudolph, W. (1992): Rabbit chromosome analysis by image processing. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 352-363.
- Callou, C., Vachot, A. M., Mounolou, J. C. (1996): Biogeographical history of rabbit since the last glaciation: New data. 6th World Rabbit Congress, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 259-264 p.
- Carneiro, M., Rubin, C. J., Di Palma, F., Albert, F. W., Alföldi, J., Barrio, A. M., Pielberg, G., Rafati, N., Sayyab, S., Turner-Maier, J., Younis, S., Afonso, S., Aken, B., Alves, J. M., Barrell D., Bolet G., Boucher S., Burbano H.A., Campos R., Chang J.L., Duranthon V., Fontanesi, L., Garreau, H., Heiman, D., Johnson, J., Mage, R. G., Peng, Z., Queney, G., Rogel-Gaillard, C., Ruffier, M., Searle, S., Villafuerte, R., Xiong, A., Young, S., Forsberg-Nilsson, K., Good, J. M., Lander, E. S., Ferrand, N., Lindblad-Toh, K., Andersson, L. (2014): Rabbit genome analysis reveals a polygenic basis for phenotypic change during domestication. *Science* 345: 1074-1079.
- Chantry-Darmon, C., Urien, C., Rochambeau, H., Allain, D., Pena, B., Bolet, G., Garreau, H., Hayes, H., Bertaud, M., Grohs, C., Chadi-Taurit, S., Deretz-Picoulet, S., Larzul, C., Save, J. C., Criubiu, E. P., Chardon, P., Rogel-Gaillard, C. (2005): Genetic map of the rabbit: State of the art and perspectives. Proc. 11th French Rabbit Days, 29-30 November, Paris, France. 27-30 p.
- Chavatte-Palmer, P., Tarrade, A., Rousseau-Ralliard, D. (2016): Diet before and during pregnancy and offspring health: The importance of animal models and what can be learned from them. *International Journal of Environmental Research Public Health* 13: 586.
- COST Action BM1308- Sharing advances on large animal models (SALAAM) <http://www.salaam.genzentrum.lmu.de>
- Dalle-Zotte, A., Szendrő, K., Gerencsér, Zs., Szendrő, Zs., Culler, M., Odermatt, M., Radnai, I., Matics, Zs. (2015): Effect of genotype, housing system and hay supplementation on carcass traits and meat quality of growing rabbits. *Meat Science* 110: 126-134.
- Dalle Zotte, A., Culler, M., Régnon, H., Alberghini, L., Paci, G. (2016): Meat physical quality and muscle fibre properties of rabbit meat as affected by the sire breed, season, parity order and gender in an organic production system. *World Rabbit Science* 24(2): 145-154.
- Debnár, V. J., Kerekes, A., Torda, O., Altbäcker, V., Bodó, Sz. (2015): Spermavétel és mélyhűtés üregi nyúl. In: Vad- és egzotikus állatok szaporodásbiológiája, állatkerti tenyésztési programok – fiatal- és növendék állatok betegségei. Március 27-29, Magyar Vad- és Állatkerti Állatorvosok Társasága, Fővárosi Állat- és Növénykert, Budapest. 64-65. p.
- Debnár, V. J., Altbäcker, V., Bodó, Sz. (2016): Üregi nyúlperma szállítási körülményeinek vizsgálata mélyhűtés számára. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 65(1): 77-81.
- Eiben Cs. (2001): Ízelítő a magyar nyúltenyésztés történetéből. In: Papp M. és Szalay I. (szerk.) *Hagyományos kisállattartás. Baromfi és házi nyúl. Mezőgazda Kiadó, Budapest.* 117-124 p.
- El-Sabrou, K., Aggag, S. A. (2015): Use of inter simple sequence repeats and protein markers in assessing genetic diversity and relationships among four rabbit genotypes. *World Rabbit Science* 23(4): 283-288.
- Emam, A. M., Afonso, S., Azoz, A. A. A., Gonzalez-Redondo, P., Mehaisen, G. M. K., Ahmed, N. A., Ferrand, N. (2016): Microsatellite polymorphism in some Egyptian and Spanish common rabbit breeds. Proc. 11th World Rabbit Congress, 15-18 June, Qingdao, China. 31-34 p.
- Emam, A. M., Azoz, A. A. A., Mehaisen, G. M. K., Ferrand, N., Ahmed, N. A. (2017): Diversity assessment among native middle Egypt rabbit populations in North Upper-Egypt province by microsatellite polymorphism. *World Rabbit Science* 25(1): 9-16.
- Fa, J. E., Stewart, J. R., Lloveras, L., Vargas, J. M. (2013): Rabbits and hominin survival in Iberia. *Journal of Human Evolution* 64: 233-241.
- Faragó S. (2012): Vadászati állattan. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- FAO (2014): Status and trends of animal genetic resources. <http://www.fao.org/3/a-mm278e.pdf>
- Fadiel, A., Ganji, G., Farouk, A., Marai, I. F. M. (2003): Genome analysis of genbank known rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) genes. *World Rabbit Science* 11(3): 117-136.
- Fekete, S., Zöldág, L., Fodor, K., Bersényi, A., Gáspárdy, A., Andrásófszky, E. (2001): A takarmányozás-genetikus interakció hatása nőstény nyulak testösszetételére. II. magyar óriás nyúl. 13. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 23, Kaposvár. 95-99 p.
- Fenner, F., 2010: Deliberate introduction of the European rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, into Australia. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties* 29(1): 103-111.
- Ferreira, A., Ferreira, A. J. (2014): Post-weaning growth of endemic Iberian wild rabbit subspecies, *Oryctolagus cuniculus algirus*, kept in a semi-extensive enclosure: Implications for management and conservation. *World Rabbit Science* 22(2): 129-136.
- Fodor, K., Fekete, S., Eszes, F., Gáspárdy, A., Zöldág, L., Bersényi, A. (2001): A takarmányozás intenzitásának hatása a házi nyúl különböző testméreteinek alakulására. II. Magyar óriás nyúl. 13. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 23, Kaposvár. 89-93 p.
- Fodor, K., Fekete, S., Zöldág, L., Bersényi, A., Gáspárdy, A., Andrásófszky, E., Kulcsár, M., Eszes, F. (2002): A takarmányozás intenzitásának hatása magyar óriás fajtájú nőstény házi nyulak életömegére, testösszetételére és különböző testméreteinek alakulására. *Magyar Állatorvosok Lapja* 124(5): 285-290.
- Fodor, K., Zöldág, L., Bersényi, A., Gáspárdy, A., Eszes, F., Andrásófszky, E., Fekete, S. (2003): A takarmányozás intenzitásának hatása magyar óriás bak nyulak súlygyarapodására és különböző testméreteinek alakulására. 15. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 28, Kaposvár. 47-54 p.
- Fontanesi, L., Forestier, L., Allain, D., Scotti, E., Beretti, F., Deretz-Picoulet, S., Pecchioli, E., Vernesi, C., Robinson, T. J., Malaney, J. I., Russo, V., Oulmouden, A. (2010): Characterization of the rabbit agouti signaling protein (*ASIP*) gene: Transcripts and phylogenetic analyses and identification of the causative mutation of the nonagouti black coat colour. *Genomics* 95: 166-175.
- Fontanesi, L., Tazzoli, M., Russo, V. (2007a): Non-invasive and simple methods for sampling rabbit DNA for PCR analysis of melanocortin 1 receptor (MC1R) gene mutations: A technical note. *World Rabbit Science* 15(2): 121-126.
- Fontanesi, L., Tazzoli, M., Allain, D., Deretz, S., Beretti, F., Oulmouden, A., Russo, V. (2007b): New insight on coat colour genetics in rabbit coming from candidate gene analysis. Proc. Giornate di Conigliocultura, 26-27 September, Forlì, Italy. 111-113 p.
- Fontanesi, L. (2016): The rabbit in the genomics era: applications and perspectives in rabbit biology and breeding. Proc. 11th World Rabbit Congress, 15-18 June, Qingdao, China. 3-26 p.
- Fortun-Lamothe, L., Combes, S., Gidenne, T. (2009): Contribution of intensive breeding to sustainable development. A semi-quantitative analysis of the production in France. *World Rabbit Science* 17(2): 79-85.
- Fu, L., Zhao, M. D., Chen, S. Y., Jia, X. B., Lai, S. J. (2015): Investigation of genetic susceptibility to nonspecific digestive disorder between TYK2, JAK1, and STAT3 genes in rabbits. *Livestock Science* 181: 137-142.
- García, M. L., Blasco, A., Argente, M. J. (2016): Embryonic changes in rabbit lines selected for litter size variability. *Theriogenology* 86: 1247-1250.
- García-Ximénez, F., Vicente, J. S., Cifre, J., Baselga, M. (1996): Foundation of a maternal rabbit line using hysterectomy and embryo cryopreservation. Proc. 6th World Rabbit Congress, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 285-288 p.
- Garreau, H., Bösze, Zs., Curik, I., Piles, M., Rogel-Gaillard, C., Thulin, C. G., Fontanesi, L., and the RGB-Net consortium (2012): A collaborative European network on rabbit genome biology: RGB-Net. Proc. 10th World Rabbit Congress, 3-6 September, Sharm El-Sheikh, Egypt. 147-151 p.
- Grimal, S., Safaa, H. M., Saenz-de-Juano, M. D., Viudes-de-Castro, M. P., Mehaisen, G. M. K., Elsayed, D. A. A., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., Vicente, J. S. (2012): Phylogenetic relationship among four Egyptian and one Spanish Rabbit populations based on microsatellite markers. Proc. 10th World Rabbit Congress, 3-6 September, Sharm El-Sheikh, Egypt. 177-181 p.
- González-Redondo, P., Ramírez-Reina, M. C., González-Sánchez, C. (2008): Characterisation of wild rabbit carcass marketed. *World Rabbit Science* 16(4): 246.

- González-Redondo, P. (2010): Maternal behaviour in prepartum influences preweaning kit mortality in cage-bred wild rabbits. *World Rabbit Science* 18(2): 91-102.
- González-Redondo, P., Sánchez-Martínez, R. (2014): Characterisation of wild rabbit commercial game farms in Spain. *World Rabbit Science* 22(1): 51-58.
- Guerrero-Casado, J., Carpio, A. J., Tortosa, F. S. (2016): Recent negative trends of wild rabbit populations in southern Spain after the arrival of the new variant of the rabbit hemorrhagic disease virus RHDV2. *Mammalian Biology* 81: 361-364.
- Hardy, C., Callou, C., Vigne, J. D., Casane, D., Dennebouy, N., Mounolou, J. C., Monnerot M. (1995): Rabbit mitochondrial DNA diversity from prehistoric to modern times. *Journal of Molecular Evolution* 40(3): 227-237.
- Hayes, H., Mata, X., Rochambeau, H. de, Allain, D., Rogel-Gaillard, C. (2008): Rabbit genome mapping tools. *World Rabbit Science* 16(1): 52.
- Hoffmann, I. (2011): Livestock biodiversity and sustainability. *Livestock Science* 139: 69-79.
- Hoffmann, O. I., Bodó, Sz., Hiripi, L., Gócza, E., Bősze, Zs. (2011): *In vitro* tenyésztett nyúlembriók beültetése. 23. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 25, Kaposvár. 95-97 p.
- Hoffmann, O. I., Kerekes, A., Dobrosi, N., Gócza, E., Bodó, Sz., Hiripi, L., Bősze, Zs. (2015): Analysis of the transmission of transposon-transgenic fluorophore protein in rabbit. In: *Hungarian Molecular Life Sciences*, 27-29 March, Eger, Hungary. 126-127 p.
- Hoffmann, O. I., Kerekes, A., Lipták, N., Hiripi, L., Bodó, Sz., Szalóki, G., Klein, S., Ivics, Z., Kues, W. A., Bősze, Zs. (2016): Transposon-Based Reporter Marking Provides Functional Evidence for Intercellular Bridges in the Male Germline of Rabbits. *PLoS One* 11(5): e0154489.
- Holdas S. (2000): Nyúltenyésztés. Fajták és fenntartásuk. *Gazda Kiadó, Budapest*
- Holdas S. (2009): Nyúlfajták genetikája. Szerzői kiadás, Budapest
- Jiménez-Trigos, E., Vicente, J. S., Marco-Jiménez, F. (2014): A novel technique for oviduct occlusion to generate live births from cryopreserved rabbit oocytes after *in vivo* fertilisation. *Animal Reproduction Science* 148: 197-204.
- Joly, T. (2008): Cryopreservation of rabbit genetic resources by the female way. *World Rabbit Science* 16(1): 52.
- Joly, T., Vicente, J., Theau-Clément, M., García-Ximenez, F., Besenfelder, U., Renard, J. P. (1996): Cryopreservation of genetic resources in rabbit species: Practical application. *Proc. 6th World Rabbit Congress*, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 293-298 p.
- Kerekes, A., Kriczky, N., Kása, E., Bősze, Zs., Bodó, Sz. (2012): Nyúlsperma mélyhűtési protokollok vizsgálata. 24. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 30, Kaposvár. 47-52 p.
- Khalil, M. H. (1993): Descriptive model for rabbit genetic resources data bank. *World Rabbit Science* 1(3): 113-118.
- Kitajima, S. (2008): Rabbit semen conservation. *World Rabbit Science* 16(1): 53.
- Korstanje, R., van Zutphen, L. F. M., van Lith, H. A. (2000): A genetic map of the rabbit: An important tool for genetic studies. *Proc. 7th World Rabbit Congress*, 4-7 July, Valencia, Spain. Vol 8(Suppl 1): 439-442 p.
- Kulíková, B., Jiménez-Trigos, E. J., Makarevich, A. V., Chrenek, P., Vicente, J. S., Marco-Jiménez, F. (2016): State of actin cytoskeleton and development of slow-frozen and vitrified rabbit pronuclear zygotes. *Cryobiology* 72: 14-20.
- Kustos K. (1994): Kisüzemi nyúltelepek termelési eredményeinek elemzése. 6. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 25, Kaposvár. 1-8 p.
- Lazzaroni, C., Pagano Toscano, G. (1996): Coat colour in Carmagnola grey rabbit: Result of a phenotypic selection. *Proc. 6th World Rabbit Congress*, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 305-308 p.
- Lavara, R., Baselga, M., Marco-Jiménez, F., Vicente, J. S. (2014): Long-term and transgenerational effects of cryopreservation on rabbit embryos. *Theriogenology* 81: 988-992.
- Lavara, R., Baselga, M., Marco-Jiménez, F., Vicente, J. S. (2015): Embryo vitrification in rabbits: Consequences for progeny growth. *Theriogenology* 84: 624-680.
- Lavara, R., Baselga, M., Vicente, J. S. (2010): Rabbit embryo bank. Management and genetic resources conservation. *World Rabbit Science* 18(1): 49.
- Lavara, R., David, I., Mocé, E., Baselga, M., Vicente, J. S. (2013a): Environmental and male variation factors of freezability in rabbit semen. *Theriogenology* 79: 582-589.
- Lavara, R., Vicente, J. S., Baselga, M. (2013b): Genetic variation in head morphometry of rabbit sperm. *Theriogenology* 80: 313-318.
- Liu, L., Li, B., Zhu, Y. L., Wang, C. Y., Li, F. C. (2016): Differential gene expression profiles in foetal skin of rex rabbits with different wool density. *World Rabbit Science* 24(3): 223-231.
- Lo Valvo, M., La Scala, A., Scalisi, M. (2014): Biometrical characterisation and taxonomic considerations of European rabbit *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus 1758) in Sicily (Italy). *World Rabbit Science* 22(3): 207-214.
- Lossi, L., D'Angelo, L., De Girolamo, P., Merighi, A. (2016): Anatomical features for an adequate choice of experimental model in biomedicine: II. Small laboratory rodents, rabbit, and pig. *Annals of Anatomy* 204: 11-28.
- Lukefahr, S. D. (1988): Conservation of global rabbit germplasm resources. *Proc. 4th World Rabbit Congress*, 10-14 October, Budapest, Hungary. Vol. 2: 129-136 p.
- Maertens, L., Peeters, J. E. (1988): Belgian rabbit production and research. *Proc. 4th World Rabbit Congress*, 10-14 October, Budapest, Hungary. Vol. 1: 5-8 p.
- Marco-Jiménez, F., Jiménez-Trigos, E., Almela-Miralles, V., Vicente, J. S. (2016): Development of cheaper embryo vitrification device using the minimum volume method. *PLoS One* 11(2): e0148661.
- Martin-Burriel, I., Marcos, S., Osta, R., Garcia-Muro, E., Zaragoza, P. (1996): Genetic characteristics and distances amongst Spanish and French rabbit populations. *World Rabbit Science* 4(3): 121-126.
- Martinec, M., Hartlová, H., Chodová, D., Tumová, E., Fuciková, A. (2012): Selected haematological and biochemical indicators in different breeds of rabbits. *Acta Veterinaria Brno*: 81 371-375.
- Matheron, G., Poujardieu, B. (1984): La genétique du lapin. Le point, les perspectives. *Proc. 3rd World Rabbit Congress*, 4-8 April, Rome, Italy. Vol. 1: 3-32 p.
- Mihók S.(szerk.) (2006): Génmegőrzés - Hagyományos háziállatfajták genetikai és gazdasági értékének tudományos feltárása. *Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum*
- Mocé, E., Vicente, J. S. (2009): Rabbit sperm cryopreservation: A review. *Animal Reproduction Science* 110: 1-24.
- Monnerot, M., Loreille, O., Mougél, F., Vachot, A. M., Dennebouy, N., Callou, C., Vigne, J. D., Mounolou, J. C. (1996): The European rabbit: wild population evolution and domestication. *Proc. 6th World Rabbit Congress*, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 331-334 p.
- Moutou, F., Pastoret, P. P. (2010): Geographical distribution of domestic animals: a historical perspective. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties* 29(1): 95-102.
- Mulsant, P., De Rochambeau, H. (1996): Possible contribution of molecular genetics to the rabbit's future. *Proc. 6th World Rabbit Congress*, 9-12 July, Toulouse, France, Vol. 2: 229-234 p.
- Neto, V., Joly, T., Lornage, J., Corrao, N., Buff, S., Guérin, P. (2005): Cryopreservation of rabbit doe ovarian cortex: toxicity of transport media. *Proc. 11th French Rabbit Days*, 29-30 November, Paris, France. 87-90 p.
- Neto, V., Joly, T., Salvetti, P., Lefranc, A. C., Corrao, N., Guérin, P., Buff, S. (2008): Ovarian tissue cryopreservation in the doe rabbit: from freezing to birth. *World Rabbit Science* 16(1): 53-54.
- Niimi, M., Yang, D., Kitajima, S., Ning, B., Wang, C., Li, S., Liu, E., Zhang, J., Chen, Y. E., Fan, J. (2016): ApoE knockout rabbits: A novel model for the study of human hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 245: 187-193.
- Pacios-Palma, I., Santoro, S., Bertó-Moran, A., Moreno, S., Rouco, C. (2016): Effects of myxoma virus and rabbit hemorrhagic disease virus on the physiological condition of wild European rabbits: Is blood biochemistry a useful monitoring tool? *Research in Veterinary Science* 109: 129-134.
- Pagano Toscano, G., Lazzaroni, C., Zoccarato, I., Benatti, G. (1992): Conservation and improvement of the Carmagnola grey rabbit. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 240-246.
- Piles, M., Blasco, A. (2003): Response to selection for growth rate in rabbits estimated by using a control cryopreserved population. *World Rabbit Science* 11(2): 53-62.



- Polgár, Zs., Virág, Gy., Baranyai, B., Bodó, Sz., Kovács, A., Gócza, E. (2005): Evaluation of effects of cryopreservation on rabbit spermatozoa membranes with trypan blue-Giemsa staining. *World Rabbit Science* 13(3): 322-329.
- Polgár Zs. (2012): Nyülebriók előállítás *in vitro* és mikromanipulációs módszerekkel, valamint embrió mélyhűtés fejlesztése az előbbi eljárások támogatására. Doktori (PhD) értekezés, Szent István Egyetem, Gödöllő
- Rangoju, P. K., Kumar, S., Kolte, A. P., Gulyani, R., Singh, V. K. (2007): Assessment of genetic variability among rabbit breeds by random amplified polymorphic DNA (RAPD)-PCR. *World Rabbit Science* 15(1): 3-8.
- Ricci, R., Sartori, A., Palagiano, C., Dalle Zotte, A. (2010): Study on the nutrient adequacy of feeds for pet rabbits available in the Italian market. *World Rabbit Science* 18(3): 131-137.
- Rochambeau, H. (1988): Genetics of the rabbit for wool and meat production. Proc. 4th World Rabbit Congress, 10-14 October, Budapest, Hungary. Vol. 2: 1-68 p.
- Rochambeau H. (1997): Genetics of the rabbit for meat production: What's new since the world rabbit congress held in Budapest in 1988? A review. *World Rabbit Science* 5(2): 77-82.
- Rodríguez-De Lara, R., Fallas-López, M., García-Muñoz, J. G., Martínez-Hernández, P. A., Rangel-Santos, R., Maldonado-Siman, E., Cadena-Meneses, J. A. (2015): Sexual behavior and seminal characteristics of fertile mature New Zealand White male rabbits of different body weights. *Animal Reproduction Science* 152: 90-98.
- Rouvier, R. (1980): Genetique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*). Proc. 2nd World Rabbit Congress, 16-18 April, Barcelona, Spain. Vol. B: 159-191 p.
- Ruiz-Aizpurua, L., Guerrero-Casado, J., Caprio, A. J., Tortosa, F. S. (2014): High rabbit abundance proves detrimental to the population growth rate in European rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.) extensive breeding enclosures. *World Rabbit Science* 22(3): 179-186.
- Saenz-de-Juano, M. D., Marco-Jiménez, F., Viudes-De-Castro, R., Lavara, R., Vicente, J. S. (2014): Direct comparison of the effects of slow freezing and vitrification on late blastocyst gene expression, development, implantation and offspring of rabbit morulae. *Reproduction in Domestic Animals* 49(3): 505-511.
- Saenz-de-Juano, M. D., Vicente, J. S., Holung, K., Marco-Jiménez, F. (2015): Effect of embryo vitrification on rabbit foetal placenta proteome during pregnancy. *PLoS One* 10(4): e0125157.
- Salveti, P., Joly, T., Boucher, S., Hurtaud, J., Renard, J. P. (2008): Viability of rabbit embryos after 15 years storage in liquid nitrogen. *World Rabbit Science* 16(1): 53.
- Simek, V., Zapletal, D., Straková, E., Pavlíka, A., Suchy, P. (2017): Physiological values of some blood indicators in selected dwarf rabbit breeds. *World Rabbit Science* 25(1): 27-36.
- Souza, M. L. R., Hoch, A. L., Gasparino, E., Scapinello, C., Mesquita Dourado, D., Claudino Da Silva, S. C., Lala, B. (2016): Compositional analysis and physicochemical and mechanical testing of tanned rabbit skins. *World Rabbit Science* 24(3): 223-238.
- Sternstein, I., Reissmann, M., Maj, D., Bieniek, J., Brockmann, G. D. (2015): A comprehensive linkage map and QTL map for carcass traits in a cross between Giant Grey and New Zealand White rabbits. *BMC Genetics* 16: 16.
- Szendrő, K., Szendrő, Zs., Matics, Zs., Dalle-Zotte, A., Odermatt, M., Radnai, I., Gerencsér, Zs. (2015): Effect of genotype, housing system and hay supplementation on performance and ear lesions of growing rabbits. *Livestock Science* 174: 105-112.
- Táncos, Z., Nemes, C., Polgár, Zs., Gócza, E., Daniel, N., Stout, T. A. E., Maragheshi, P., Pitivity, M. K., Osteil, P., Tapponier, Y., Markossian, S., Godet, M., Afanassieff, M., Bószé, Zs., Duranthon, V., Savatier, P., Dinnyés, A. (2012): The use of domestic animals as biomedical models. Generation of rabbit pluripotent stem cell lines. *Theriogenology* 78: 1774-1786.
- Tan, W., Proudfoot, C., Lillico, S. G., Whitelaw, C. B. A. (2016): Gene targeting, genome editing: from Dolly to editors. *Transgenic Research* 25: 273-287.
- Tóth Zs. (2017): A magyar óriásnyúl. l'Harmattan Kiadó, Budapest
- Túmová, E. I., Volek, Z., Chodová, D., Zita, L. (2012): Rabbit genetic resources in the Czech republic. Proc. 10th World Rabbit Congress, 3-6 September, Sharm El-Sheikh, Egypt. 65-68 p.
- Valentino, S. A., Tarrade, A., Aioun, J., Mourier, E., Richard, C., Dahirel, M., Rousseau-Railiard, D., Fournier, N., Aubrière, A. C., Larrermand, M. S., Camous, S., Guinot, M., Charlier M., Aujean E., Adharni H.A., Fokkens P.H., Agier L., Boere J.A., Cassee F. R., Slarna, R., Chavatte-Palmer, P. (2016): Maternal exposure to diluted diesel engine exhaust alters placental function and induces intergenerational effects in rabbits. *Particle and Fibre Toxicology* 13: 39.
- Varga, L., Pálovics, Á. (1988): Parentage control in the rabbit. Proc. 4th World Rabbit Congress, 10-14 October, Budapest, Hungary. Vol. 2: 254-260 p.
- Varga, E., Polgár, Zs., Bodó, Sz., Dinnyés, A. (2009): Increase of fertilization with frozen semen in laser-assisted rabbit *in vitro* fertilisation. *Magyar Állatorvosok Lapja* 131(9): 562-565.
- Vicente, J. S. (2008): Rabbit embryo production and conservation. *World Rabbit Science* 16(1): 52-53.
- Virág, Gy., Baranyi, M., Bószé, Zs., Devinoy, E. (1996): Variability of *as2* casein phenotypes in a New Zealand White rabbit breeding stock in Hungary. Proc. 6th World Rabbit Congress, 9-12 July, Toulouse, France. Vol. 2: 377-380 p.
- Virág, Gy., Balogh, K. (2003): A magyar óriás nyúl kialakulása és tulajdonságai. *A Baromfi* 6(5): 50-52.
- Virág, Gy., Bószé, Zs., Bolet, G. (2002): A magyar óriás nyúl fajta genetikai jellemzői és termelési mutatói. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 51(5): 530-533.
- Virág, Gy., Bószé, Zs., Bolet, G., Gódor, S-né. (2003): A magyar óriás nyúl fajta: kialakulása, genetikája és termelése. 15. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, május 28, Kaposvár. 55-60 p.
- Viudes-de-Castro, M. P., Pomares, A., Saenz de Juano i Ribes, M. D., Marco-Jiménez, F., Vicente, J. S. (2015): Effect of luteinizing hormone on rabbit ovarian superstimulation and embryo developmental potential. *Theriogenology* 84: 446-451.
- Vrillon, J. L., Rochambeau, H. (1980) : Problemes poses par la production de fourrure de lapin: Bibliographie et projet d'étude. Proc. 2nd World Rabbit Congress, 16-18 April, Barcelona, Spain. Vol. B: 355-361 p.
- Zhang, X. Y., Lei, M., Xie, L., Zhang, C. X., Zheng, J., Yang, C., Deng, X. D., Li, J. L., Huang, D. P., Xie, X. H. (2014): Detection of polymorphisms and protein domain architectures in rabbit toll-like receptor 2. *World Rabbit Science* 22(1): 83-90.
- Zhao, S., Wei, K., Yu, Q., Li, Y., Cheng, F., Wang, Y., Yang, P., Fan, J., Liu, E. (2010): General topic: Applications of transgenic rabbits in biomedical research – based on literature search. *World Rabbit Science* 18(3): 159-167.

# Nemzeti kutyafajtáink tenyésztése, génmegőrzése

MÉSZÁROS MIHÁLY – TARI JÓZSEF – KOLLÁRNÉ JILLY SÁRA –  
ZÖLD ORSOLYA – PÁLINKÁS-BODZSÁR NÓRA



## Magyar terelő- és pásztorkutyák

### A komondor

A nomád pásztorkodó közösségek legfőltettebb vagyona az állatállomány volt. Ezt az értéket kellett a komondornak megvédenie. A nyáj, a gulya és a ménes mellett őrző szolgálatot teljesítő, gyakorta 70–80 cm marmagasságú, robusztus megjelenésű, gubancos szőrzetű fajtát gubancos magyar juhászkutyaként, selyemszőrű farkasebként, pusztai komondorként, lompos szőrű komondorként vagy röviden csak komondorként írták le (*Buzzi Géza, 1907*).

A komondor kifejezés, mint leírt nyelvi emlék, 1549-ben Kákonyi Péter hercegszőlői református lelkész, énekszerző *Astiages* király történetét feldolgozó művében jelenik meg elsőként. „Pásztor nézi vele, gyermekét szoptatja egy fias komondor, és körül forogja.” – írja a komondorról. 1673-ban Comenius a komondort a csordák őrzőjeként említi (*Herman Ottó, 1914*).

*Pápai Páriz* 1767-ben a komondort és a kuvaszt már két külön fajtaként jellemzi. *Klein* 1778-ban fehér gubancos kutyát említ, amelyek a Rába környékén a leggyakoribbak és a farkasok ellen kitűnő védelemül szolgáltak. Ez az egyetlen mű, amely a komondort, mint farkas ellen használt fajtát említi (*Raitsits Emil, 1924*). A hasonló témájú irodalmi alkotások a kuvasz jellemzőjeként írják le a farkas elleni küzdelmet. A magyar fajták első országos kiállítását 1899-ben Szegeden rendezték, s ezen csupán egyetlen komondort mutattak be. A kiállított példány az akkori legjobb tenyészetből való volt, *Kovácsnay Zsigmond* üllői gazdaságában tenyésztették. Ebből a tenyészetből kerültek a Hortobágyra és a Kiskunságra azok az egyedek, amelyeknek utódai alapjaiban meghatározták a fajta későbbi alakulását (*Anghi Csaba Geyza, 1935*).

*Lónyai Géza* 1901-ben a következőképpen jellemzi a fajtát: „Egész testét hosszú, lompos, göndör szőr borítja, mely hosszú koloncokban csüng alá. Fejét és arcát is hosszú bozontos szőr fedi, orra mindig fekete. Az állat mogorva, büntetni nem lehet.” (*Ilosvay Hollósy Lajos, 1936*).

A komondor, mint a pásztorember egyik leghűségesebb társa, folytonos biztonságot jelentett. A pásztor ezért nagy becsben tartotta, igyekezett fajtatiszta tenyésztéssel megőrizni értékeit. Tavasszal, hasonlóan a juhok nyírásához, a komondort is megnyírta, így az hasonlíthatott a kuvaszhoz, ami némi elnevezésbeli keveredéshez is vezetett. Tény azonban, hogy a két nagytestű magyar pásztorkutyafajtát a pásztorember sohasem keresztezte egymással (*Biró András, 1996*).

A világháborúk a komondorpopulációt is megtizedelték. A háborúk előtt még elsősorban az ősiség formai és funkcionális megőrzése vezérelte a tenyésztési irányt. A második világháborút követően a sporttenyésztés élénkült meg. Ez már a fajta esztétikai megjelenését is fontosnak tartotta. A nemezes, gubancos, lágy tapintású szőrzet ápolása rendkívül munkaigényes. Természetes tartásmódban erőteljesen szennyeződik és nehezen tisztul. A tenyésztési irány a szalagos, illetve még finomabb szerkezetű, zsinóros szőrzet kialakítása felé változott. Az ilyen durvább lefutású szőrzet esztétikusabb és kifejezettebben öntisztuló jellegű. Önmagában a szőr tömegének növelése nem lehet tenyésztési célkitűzés, mert az funkciójában már gátolhatja a komondort (*21. kép*).

Nőtt a fajta marmagassága, a rámás, nagytestű, erőteljes csontozatú egyedeket favorizálták a tenyésztésben. Tisztult a szőrzet fehér színe, a korábban gyakori krémszínű árnyalat megszűnt. Javult a bőrfelületek pigmentje. Összességében kiegyenlítettebb küllemű és egyben igé-

nyesebb is a fajta napjainkban. A tenyésztők a sporttenyésztés során is a rendkívüli érték-mérők megőrzésére törekednek. Az egészség megőrzése, a tekintélyt parancsoló hatalmas tömeg, a bátorság és a kiegyensúlyozott idegrendszer a legfontosabb tenyészcélok. A kis populációméretből adódóan a rokontenyésztés veszélye jelentős. A mezőgazdaság és az életmód átalakulása során a komondor szerepe ugyancsak megváltozott. Állattartó telepek, majorságok, ingatlanok őrzésére továbbra is kiválóan alkalmas, de társként, házőrzőként is megállja a helyét. Mozgásigénye nagy.



21. kép. Komondor (Fotó: Mészáros Mihály)

### A kuvasz

A kuvasz minden kétséget kizáróan az egyik legrégebbi magyar pásztorkutyafajta. A népvándorlás során került a Kárpát-medence területére, így hazánkban őshonosnak tekinthető. Nagytestű fajta, 70 cm körüli marmagasságú, őseink ezért kezdetben is elsősorban őrző és vadászati feladatokra használták. A kora Árpád-korban kialakult gazdálkodási szerkezet hosszú évszázadokra állandósult. A állattenyésztés az ártereken, a földművelés az ármentes területeken koncentrált. A nagytestű pásztorebek hasznosítása a vagyont jelentő állatállomány és az ember védelme volt (Ilosvay Hollósy Lajos, 1936).

A kuvasz fajta őstörténeti alakulására hatással lehetnek a keleti eredetű nomád népek kutyái is. Az egykori nomád törzsszövetség emlékét idéző Kis- és Nagyunság az állattartás központi területeivé vált. A letelepedő mintegy 40 000 kun család jelentős gazdasági és kulturális erőt képviselt, és a kun pásztorok önállósodó törekvése elvezetett a téli-nyári legelőváltós pásztorodáshoz. A Mátyás uralkodása korában fellendülő marhakereskedelem ugyancsak kedvezett a kuvasz népszerűségének. A hajdúk a nagy állattenyésztő körzetekből, elsősorban az Alföldről, széles hajcsárutakon terelték Buda felé a csordákat. Napi 20–25 km-t tettek meg, Bécsig egy hónapig tartott az útjuk. A marhahajtások során jelentős volt az eladott kuvaszok száma is, amelyek aztán szerepet játszottak a hasonló fajták megalkotásában (Hódosi József, 1996).

A századforduló időszakában a magyar kutyafajták tenyésztése iránt fokozódott az érdeklődés. A kuvasz első fajtaleírása 1905-ben történt, Buzzi Géza nevéhez fűződik. Ekkor tisztázódott a heves indulatokat kiváltó kuvasz és a komondor közötti különbség vitája (Buzzi Géza, 1907), és megindult a rendszeres tenyésztés. Erdély és Felvidék elcsatolásával a legjobb minőségű kuvasz tenyészállomány Magyarország határain kívülre került. Elsődleges cél ekkor a mennyiségi szaporítás volt. A minőségi szelekció a húszas években, dr. Raitsits Emil munkájával kezdődött. A fajta standardját 1935-ben Abonyi Lajos, Anghi Csaba és Müller (Márki) Iván, majd Balassy Zoltán dolgozták át. Magyarországon a falvakban beindult a kuvasz szervezett tenyésztése. A fajta létszáma rohamosan nőtt, minősége azonban rendkívül változó volt (Bíró András, 1996). A szakmailag hozzáértő körökben szerencsére kialakult az ideálisnak vélt szikár testfelépítésű, acélos, típusos, bátor kuvasz.



22. kép. Kuvasz magyar szürkékkel (Fotó: Tari József)

A háború után kis létszámú, heterogén állománnyal indult a fajta regenerálása. Anghi Csaba a Fővárosi Állat- és Növénykert főigazgatójaként létrehozta az „Állatkerti” tenyészetet. A fajta átütő nagy újraalkotója azonban az 1953-ban Kovács Antal által létrehozott, 4 szukára épülő Gyapjúkennel volt. A hatvanas években több állami gazdaságban, így Hőgyészen, Agárdon, a Lajta-Hanságban, Bábolnán alapítottak tenyészeteket, de ezek csak rövid ideig működtek (Hódosi József, 1996).

A kuvasz napjainkban is nagytestű, bátor, kitűnő őrző-védő fajta (22. kép). Idegenekkel szemben alapvetően bizalmatlan, általában egygazdás. Előszeretettel alkalmazták állattartó telepek és ipari létesítmények őrzésére. Társaként is jól használható. Fialat korában könnyen nevelhető, kétéves kor felett már nehezen idomul. Fehér színű, enyhén hullámos lefutású szőrzete szép és könnyen ápolható. Szőre különleges kezeléseket nem igényel. Ellentétben a komondorral, nyáron leváltja szőrtakaróját, vedlik. Feje rendkívül nemes, számos fajtabélyeget hordoz, mely jellemzőkkel biztosan megkülönböztethető a rokon fajtáktól. Népszerűsége az utóbbi húsz évben többször is változott. A külföldi fajtákat népszerűsítő kutyakultusz a kuvasznak nem kedvezett, és így méltatlanul háttérbe szorult. A populáció újbóli megerősödése csak komoly szakmai összefogással képzelhető el (Buzády Tibor, 2005).

Bírálata során legfontosabb értékmérői a szikár, de erőteljes csontozat, a nemes megjelenés, a típusos fej, a sötét, mandulavágású szemek, a szabályos végtagállás és a mozgás. A tenyész-szemléken jól kidolgozott viselkedésszert is alkalmaznak.

### A puli

Európában a terelőkutyafajták céltudatos nemesítése a XVII. században kezdődött. Herman Ottó szerint: „A puli a legnevezetesebb terelő pásztoreb, nyilván a magyarok közép-ázsiai őskutyája, faj szerint van ma is Tibetben, Lhassában, honnan az angolok utolsó sikeres benyomulásuk után elhozták. Erről az öreg pásztorok hite az, hogy már az ősök hozták magukkal.” Amerre a magyarok a népvándorlás idején haladtak, megtalálhatók a pulihoz hasonló méretű és karakterű fajták. A Herman Ottó által is említett tibeti terrier és Lhassa apso minden bizonnyal a puli rokon fajtái, és bár napjainkban sok, a sporttenyésztés hatására létrejött, eltérő vonás található közöttük, az ősi bélyegek felfedezhetők (Herman Ottó, 1914).



Az első világháború rendkívül megritkította a pulipopulációt. *Dr. Raitsits Emil* egyetemi munkája mellett az Állatkert állatorvosaként is dolgozott, ahol az akkori igazgatóval, *Dr. Lendl Adolffal* együttműködve a magyar kutyafajták legszebb egyedeit gyűjtötték össze és mutatták be a hazai és külföldi látogatóknak. A fajtát bámulatos intelligenciája, önállósága, hűsége, bátorsága, no meg különleges szőrköntöse legendássá és népszerűvé tették. Az első világháborút követően, a kutyakiállítások újrászerveződésével, a puliból kiállítási sztárfajta lett.

Az 1930-ban kiadott Kutyatenyésztés című folyóirat elsősorban a magyar pásztorkutya fajtákat népszerűsítette. *Raitsits Emil* mellett *Abonyi Lajos*, *Anghi Csaba* és *Vantsó Gyula* írásai voltak iránymutatóak. 1932 márciusában az Országos Magyar Gazdasági Egyesület (OMGE) felkérésére *Dr. Raitsits* megrendezte a magyar kutyafajták versenyét. Ezen a bemutatón 26 puli, 4 pumi, 17 komondor és 22 kuvasz vett részt (*Anghi Csaba Geyza, 1935*). Az Országos Magyar Rendőr-kutya Egyesület szervezésében a nagy nyilvánosság előtt itt szerepeltek elsőként a többszörös győztes rendőrpulik. 1934-ben, *Raitsits* halálával nagy űr támadt a magyar kinológiában. Utóda az Állatorvosi Főiskolán *Abonyi Lajos* lett, aki *Anghi Csabával* együttműködve továbbra is biztosított lehetőséget a magyar kutyafajták törzskönyvezésére (*Ilosvay Hollósy Lajos, 1936*).

Ugyanekkor döntöttek a színekről, és kizárták a tenyésztésből a foltos egyedeket. A második világháború kitörése előtti utolsó kiállítást 1940. március 31-én rendezték, s ezen 47 pulit mutattak be. A nyomasztó gazdasági helyzet megtörte a tenyésztés korábbi lendületét, de a létszámában megdöbbenően megerősödött puliállományt szerencsére drasztikusan nem csökkentette (*Arany Csaba, 1998*).

A pásztorkodás átalakulásával, a mezőgazdaság egyre intenzívebbé válásával terelő fajtáink feladatai is módosultak. Szerencsére a puli kiváló alkalmazkodó képessége, tanulékonyága, hűsége és ragaszkodása átmentették a fajtát. Nemcsak a falvakban és vidéki városokban, de a főváros peremkerületeiben és a leggazdagabb budai villák udvarán is otthonra talált. *Raitsits Emil* a húszas-harmincas években igen céltudatosan karolta fel és irányította a magyar fajták tenyésztését. Képzett állattenyésztőként és állatorvosként hamar átlátta, hogy a pásztorelet módosulásának hatása lesz a kutyafajták szelekciójára. Tudta, hogy a munkakészségre és képességre épülő természetes kiválasztás helyett a pásztorkutyák nemesítésében a sporttenyésztés lesz a legjelentősebb fajtaformáló tényező. Az általa kitűzött tenyészcél nem volt más, mint a puli karakterének, okosságának, igénytelenségének, röviden minden előnyös tulajdonságának megőrzése mellett egységes, tetszetős küllemű, a világ megannyi tájékán eladható, a kiállítások körébe is betörni képes fajta nemesítése (*Ócsag Imre, 1961*). A nyájterelés szükségszerűen háttérbe szorult, a házörzés, a társszerep előtérbe került. *Bordács Imre* és *Ócsag Imre* irányításával a hatvanas években megkezdődött a fehérret, majd a hetvenes évek során a szürkét és a maszkos fakót nemesítő program (23. kép). 1972-ben a Budapesten megrendezett kutya-világkiállításra 120 pulit neveztek be. A fajta tehát a kiállításokon ismét sikerrel szerepelt. Divat lett a puli, híres emberek, írók, költők, művészek és politikusok is egyre többen népszerűsítették (*Mészáros Mihály és Farkasházi Miklós, 2003*).

A puli elevensége, legendás tanulékonyága számos irodalmi alkotás témája. Tenyésztői a fajta elbűvölő egyéniségének örökre elkötelezettjei maradnak. Családkedvelő fajta, a gyerekekhez különös kedvességgel közelít. Okosságáról sokszor hihetetlenek tűnő történetek szólnak. Kedveskedő, de rendkívül önérzetes, olykor sértődékeny. A legkitünőbb házörző. Korán

erő, hosszú életű fajta, gyakran a 10–12 éves pulik is egészségesen, kiváló kondícióban örözik a portát.

Az elmúlt húsz évben, a számos külföldi divatfajta megjelenésével párhuzamosan, a puli hazai népszerűsége folyamatosan csökkent. Javult a színek tisztasága, a fehér gyakorlatilag mentessé vált a hetvenes években még oly gyakori zsemleszínű árnyékoltságtól, ami hibának számított. A fekete, mint abszolút domináns szín, valamennyi színváltozatot hordozhatja. A színre homozigóta és heterozigóta tenyészkanokat a fajtaklubok külön megjelöléssel tartják nyilván. A maszkosfakó és a szürke szín ma ismét divatosnak tekinthető. A fajta esztétikai megjelenése a sporttenyésztés hatása alatt jelentősen javult. A homogén szerkezetű, zsinóros vagy szalagos lefutású, könnyebben ápolható szőrköntös általánossá vált. Egészségi kontrollként a csípőízületi-, a térdízületi- és a szemvizsgálatokat végeztetik a tenyésztők. A fajta értékének megőrzése érdekében a küllemi szépség mellett az élénk vérmérséklet és a terelőkészség is szelekciós szemponttá vált. A genetikai minták gyűjtése, a típusbírálat és a testméretek rögzítése tenyészszemléken történik. A túlságosan nagy szőrtömeg a fajta egészsége és használhatósága szempontjából nem előnyös (*Hungária Puli-Pumi-Mudi klubinfó, 1996–1999*).

A bírálat során a fajta kiemelten fontos értékmérői az élénk vérmérséklet, a négyzetes testforma, az erőteljes csontozat, a domináló agykoponyaarányok, a jellegzetes, aprózó mozgás, a keresztájékon hordott, szorosan zárt faroktartás, a bőrfelületek pigmentáltsága.

### A pumi

A pumi a XVII–XVIII. században, hazánk területén kialakult, terrier jellegű, terelő pásztorkutyafajta. Nem tekinthető tehát ősi fajtának. Kialakulásában minden bizonnyal a puli akkori változata játszott a meghatározó szerepet. Franciaországból és Németországból megélenkült a merinó juhok importja, aminek során francia és német terelő pásztorkutyák is érkeztek Magyarországra területére, melyek minden valószínűség szerint keveredtek a pulival. A puli és a pumi elnevezést a század elején gyakorta szinonimként használták. A fajta szelekcióját 1920-ban Gödöllőn kezdték meg.

Első tudományos leírása *Anghi Csaba* nevéhez fűződik 1935-ben (*Anghi Csaba Geyza, 1936*).

A világháborúk jelentősen visszavetették a pumitenyésztés kezdeti sikereit. Az 1950-es években azonban új lendülettel indult a fajta regenerálása. A néhány elkötelezett tenyésztő tanyákon, pásztorkutya vásárokon vásárolta tenyészállatát. A kezdeti szükségszerű, látszatra végzett törzskönyvezés és a fajta szerény egyedszáma miatt még a hetvenes években is rendkívüli küllemi heterogenitás jellemezte a hazai populációt. A fajta nemesítésének irányítását ekkor *Ócsag Imre* egyetemi tanár, az állattenyésztéstan professzora, mint a fajtaklub elnöke vette



23. kép. Fekete, fehér és maszkos puli (Fotó: Székelyhidi Sándor Alex)

át. Tevékenysége nyomán sokat javult a fajta típusa és külleme. Egyre több pumi jelent meg a kiállításokon és a tenyésztéseken. Érdekes, hogy ekkor a finn tenyésztők már jelentős számú, kitenyésztett állománnyal rendelkeztek. A fajta törzskönyve Magyarországon ma is nyitott (*Mészáros Mihály és munkatársai, 2005*).

Az utóbbi húsz évben a pumi újabb jelentős küllemi változáson ment át. Tudatosult a tenyésztőkben a puli és a pumi közötti lényegi különbség. Felismerték a céltudatos szelekció irányát.

Az állomány típusa homogenizálódott. Kevésbé szórt a méret, tetszetős, változatos a szőrzet színe. Ma legdivatosabb a szürke számos árnyalata (*24. kép*). Ritka a valódi fekete, és egyre több a fehér színű egyed. A tenyésztők a fajtaklubok szervezésében rendszeresen terelőösztön próbákat rendeznek, amelyeken a fajta munkakészségét, engedelmségét, vérmérsékletét tesztelik. Szerencsére sikerült megőrizni a pumi rendkívül élénk, terrieres vérmérsékletét. Felső egyharmadában megtört és előrebicsakló fülei, élénk tekintete bohókássá teszik a fajtát. Szőrének kismértékű trimmelése, alakítása a kiállításokon előnyére válik. A tenyésztők és klubok véleménye a szőrápolás mértékéről megoszlik. Tény azonban, hogy a fajták evolúciója során a kutya fajták is folyamatosan változnak a tenyésztési célok szerint. E változás kitűnő példáját láthatjuk a pumipopuláció dinamikájában az elmúlt 20 év során. Az ősi jellegre hivatkozva elhanyagoltan, ápolatlanul, gyenge szőrkonfúzióban bemutatni a pumit ma már szakszerűtlenség, s ez a fajta, a tenyésztők és a standardot megalkotó ország hitelét is rontja. A gyakori nyírást igénylő, lágy szerkezetű szőrzet nem kívánatos, a teljesen természetes, szállásodó szerkezetű pedig kevésbé esztétikus. Valahol a két szélső típus között található az ideális szőrzet, a tenyésztők meghatározó hányada ezt a formát próbálja kinemesíteni.

Számos törzskönyvezett kutya ma is pásztorok mellett dolgozik. Napjainkra azonban tagadhatatlanul a sporttenyésztés és a kiállítások világa alakítják a fajtát (*Mészáros Mihály és Farkasházi Miklós, 2003*).

A pumi hihetetlen éberségével minden neszre reagál. Maga az élő lelkiismeret. Uगतós fajta, ezért a szomszédok általában nehezen viselik. Elsőrendű házőrző. A pásztoremberek ma is szívesen alkalmazzák. Csahosan terel, a juhok gyapját nem szagatja. Gyorsan tanul és örömmel dolgozik, ezért ideális fajta az ügyességi bemutatókon. A kisebb gyerekek is könnyedén kezelik. Mivel középnagy testű, könnyen tartható lakásban is. Rendkívül izmos, szikár, szilárd szerkezetű. Szőrzete egyszerűen ápolható, bár szakértelmet igényel. Színe változatos. Keresett színek a szürke számtalan árnyalata, a hófehér, a fakó és a fekete (*Hungária Puli-Pumi-Mudi klubinfó, 1996–1999*).

Tenyésztése méretfelvételezéssel, típusbírálat, ösztönpróbával és genetikai mintavétellel történik. Legfontosabb bírálati szempontok a terrieres karakter, a pulitól eltérő test- és koponyaarányok, a jó kötésű, stabil felső vonal, a típusos, de elegáns szőrzet, az ívelő, nem szorosan záródó farok.



24. kép. Szürke pumi (Fotó: Székelyhidi Sándor Alex)

## A mudi

Pásztorkutyafajtáink közül a mudi kialakulásának története a legkevésbé ismert. Nem ősi fajta, hazánk területén alakult ki. Feltételezések szerint XX. század húszas-harmincas éveiben önállóvá vált. Kialakulása az ország több részén, hasonló időszakban történt. *Fényes Dezső*, a fajta első leírója, a Balassagyarmati Múzeum igazgatójaként elsősorban a palócság népi hagyományait kutatta. Útjai során vásárolta fel az akkor még nem ismert pásztorkutyafajta általa típusosnak vélt egyedeit, elsősorban Pest, Nógrád, Fejér és Békés megyében. Ezeket a változatos színű, ragyogó szőrzetű, felálló fülű, rendkívül tanulékony, közepes méretű pásztorkutyákat egymás között párosította. 1936-ban bizottsági szemlén mutatta be a már általa tenyésztett példányokat. *Raitsits Emil, Abonyi Lajos, Anghi Csaba*, mint a szemlebizottság tagjai, alapos megtekintés és méretfelvételezés után elfogadták Fényes Dezső fajtaleírását, sőt a javasolt mudi elnevezést is (*25. kép*). A második világháború alatt szinte kipusztult az éppen csak kialakult mudi fajta. *Balássy Zoltán* nevéhez fűződik az 1963-ban elfogadott standard megalkotása. A fajtaleírás mintakutyája egy Rigó nevű szuka volt, majd ez lett a törzskönyvben az egyes számú regisztrált tenyészegyed. A fajta törzskönyve ma is nyitott. A törzskönyv nyitottságából adódóan sajnálatosan számos, nem típusos egyed is bekerült a fajtába, növelve ezzel a fajta heterogenitását. Hosszú farkú és született farkatlan változatban is előfordul. A mudipopuláció az utóbbi évtizedben folyamatos változáson ment át oly módon, hogy a típus többé-kevésbé homogenizálódott, de még ma sem tekinthető egységesnek. Elterjedtek a barna, fehér, szürke és a cifra színváltozatok (*Zöldág László, 1996*). A mudi fajta népszerű a sport-, az ügyességi és a terelőversenyeken egyaránt (*Bodó Imre, 2000*).

Rendkívül bátor, kifejezetten könnyen tanuló, fogós fajta. Tekintete kedves csibészséget sugároz. Életeleme a mozgás és a munka. Ma is gyakran használt terelő pásztorkutya. Fáradhatatlan ébersége, munkakedve elkápráztatja a gyakorlott pásztorembereket is. Számos törzskönyvezett kutya dolgozik állatok mellett, de sok típusos kutya származásáról semmiféle információ nincs. Mégis, amennyire csak lehet, a fajta tenyésztői próbálják elkerülni a rokon-tenyésztést. A látszatra végzett törzskönyvezése megengedett. A legjobb házőrzők közé tartozik. Okos, igénytelen, egészséges fajta. A tenyészszemlék során típusbírálat, méretfelvételezés, karakterteszt és genetikai mintavétel történik.

Fontosabb bírált értékmérői a közepes marmagasság, az élénk vérmérséklet, az erős csontozat, az ék alakú fej, a mandulavágású szem, a fül tűzése és mozgatása, a szőrzet tágan hullámos jellege, a kissé megnyúlt testarányok és a típusos mozgás.

A hivatalosan törzskönyvezett magyar terelő- és pásztorkutyák standard méreteit és az elfogadott színváltozatokat fajtánként a *10. táblázatban* mutatjuk be.



25. kép. Mudi színváltozatok (Fotó: Székelyhidi Sándor Alex)



Fajta	Komondor	Kuvasz	Puli	Pumi	Mudi
FCI standard száma	53/B	54/B	55/B	56/B	238/A
<b>Standard adatok</b>					
Marmagasság, kan, cm	min 70	71-76	41-43	43-45	43-45
Marmagasság, szuka, cm	min 65	66-70	38-40	40-42	40-42
Testtömeg, kan, kg	50-60	48-62	13-15	12-13	11-15
Testtömeg, szuka, kg	40-50	37-50	10-13	10-11	8-12
Törzshossz, mar%	104	104	100	100	103
Mellkasmélység, mar%	45	48	45	45-50	40-45
Dongásság, mar%	28	27	33	30-33	30
Övméret, mar%	116	120	125	115-120	-
Fejhossz, mar%	41	45	45	45	42
Orrhossz, fcj%	42	42	35	45-50	40
Fülhossz, fcj%	60	50	52	-	45
Standard színek	fehér	fehér	fekete, fehér maszkosfakó, szürke	fekete, fehér, fakó, szürke	fekete, fehér, barna, szürke, cifra, vörös

10. táblázat. A magyar terelő- és pásztorkutyafajták standard adatai

### A sinka

A nemzetközileg elismert kutyafajták mellett, azok kialakulásának történelmi hagyományait követve, Magyarországon a használati pásztorkutyák evolúciója nem állt meg, a folyamat napjainkban is zajlik. Ennek legjelentősebb mai képviselője a sinka, mint magyar terelőkutya.

Mintegy fél évszázada a hajdúsági pásztorkutyák által végzett teljesítményszelekció hatására formálódott egy új, terelő típusú, többé-kevésbé homogén populáció. Napjainkra ez típus már kinötte a Hortobágyot, és országshozta terjed a nyájak, gulyák mellett. A sinka szó hajdúsági tájnyelven azt jelenti, hogy sima, rövid szőrű. A sinkát azonban nemcsak a szőrzet különbözteti meg a többi magyar terelőkutyafajtától (26. kép).

**Szörzet:** A sinka többféle típusban létezik, amit elsősorban a speciális használati ágak határoznak meg. A legrövidebb szőrtípusú az úgynevezett „tükör sinka”. Nagyon rövid, testhez simuló, fényes szőrzettel rendelkezik az egész testfelületen. Léteznek dúsabb szőrzetű egyedek is, de ez a szőr sem éri el a mudi szőrzetének nagyságát, mennyiségét és hosszúságát sem.

**Szín:** A szőrzet színe szinte teljesen megegyezik a magyar terelő pásztorkutyafajták színzetével. Kivétel talán a tigriscsíkos változat, melyet a pásztorkutyák cirkás névvel illetnek. Ez valószínűsíthetően a boxer fajtakeresztezésből eredeztethető. A sinka legelterjedtebb színe a fekete. Ezen kívül létezik még fehér, ordas (magyarul fakó), csokoládébarna, hamvas szürke (genetikailag kék) és mézes lábú (genetikailag fekete-cser) színváltozat is.

**Badáros farkok:** A rövid, testhez simuló szőrzet és a felálló fülek mellett fajtabélyeg a vastag, kunkorodó fark is. Legtöbb esetben a fark dupla kunkorodású, amit a pásztorkutyák előnyben részesítenek, mert ősi jellegnek tekintik. A badáros farkú sinka farktöve vastag alappal indul, majd dupla kunkorral szorosan az ágyéktájékra feszül. A fark szőrzete is rövid, de enyhébb, kisebb szőrzászló előfordul.

A küllemi megjelenési formák közül a magyar pásztorkutyák a hátsó lábakon előforduló farkaskörömnek is jó használati értéket tulajdonítanak.

**Marmagasság:** Nemes megjelenésű, az ismert magyar terelő pásztorkutyáink közül a legmagasabb, 50 cm feletti. A marmagasság rögzítésére a pásztorkutyák tudatosan törekednek. Izomzata, testfelépítése leginkább egy tekintélyesebb, szikárabb, hosszabb lábú, de szőrtelenebb mudira emlékeztet, annál azonban magasabb, szálkásabb izomzatú, feszebb bőrű. A magasságot a használat befolyásolja. A szarvasmarhák melletti sinka magasabb, lábasabb, míg a juhok mellett dolgozó sinka kissé rövidebb lábú, zömökebb típusú. A speciális használat azonban nemcsak a marmagasságban különbözik, hanem a karakter jellegében is megnyilvánul.



26. kép. Sinka szuka (Fotó: Tari József)

**Botos karakter:** A karakter a sinka legjellemzőbb értéke. Szinte kizárólag ez alapján szelektálják évtizedek óta. A magyar haszonállatok napjainkban is őrzik azokat a viselkedési sajátosságokat, amelyek a magyar terelő stílust kialakították. Parlagi vad fajták, ezért a vérmérsékletük határozott fellépésű terelő kutyákat kíván. A cél érdekében néha nyomatékkal odacsíp, munka közben ugat. Ez a világon egyedülálló magyar terelő stílus a sinka esetében a legdominánsabb módon érvényesül. Dinamikus, robbanékony, energikus fajta, csillapíthatatlan munkakedvvel és munkabírással. Hasznosítására jó példa, hogy a magyar szürke szarvasmarha és a racka juh legnagyobb, hortobágyi állományai mellé ilyen kutya kellett. A használati szelekció következtében a sinka szilárd szervezetű, kiemelkedő ellenálló képességű populációt alkot.

A pásztorkutyák életmódja a pusztán rendkívül rideg. A terelőkutya karakteréből jobban szeretnek lefaragni, mert hozzá tenni nehezebb. Mivel a pásztorkutyák a távoli munkában a terelő kutyát pásztorbottal irányítják, a sinka már kölyök korban morogja, ugatja a pásztorbottot, és figyel az ember kezében annak mozgására. Ugyanakkor tiszteli is a botot, mert a pásztor a tekintélyt parancsoló szó mellett azzal is fegyelmezi.

A sinka társasági kutyának vagy csupán kedvtelésből tartásra nem való. Hatalmas mozgásigényét egyéb kutyás sportokkal is ki lehet elégíteni, de igazán csak a rendszeres terelésben képes kiteljesedni. A sinkapopuláció létszáma egyes becslések szerint napjainkban már meghaladja az 1000 egyedet. Szinte kizárólag hivatásos terelőkutyaként használják.

## A magyar őrző és terelő pásztorkutyák munkája

### A komondor és a kuvasz, mint őrző fajták

A magyar pásztorkutyák feladata a gazdasági haszonállatok és a vagyon őrzése, valamint az állatok mozgatása, a terelés. A komondor és a kuvasz az őrző fajták közé sorolható, feladataik sokat változtak napjainkig.

A két fajta karaktere speciális eltéréseket mutat, de alapvető feladatuk, a területőrzés ellátásához szükséges örökletes képességek sora vélhetően azonos. Használati értékük a területiális



ösztön. Ez azt jelenti, hogy a gazda otthonát és a hozzá tartozó értékeket sajátjuknak tekintik és védelmezik. E nélkül a képesség nélkül nincs területőrző munka, és mint ösztön nem tanítható.

A kutyák őrző-védő feladatai között a területőrzés speciális használati ág. A személyvédelemtől eltérően az ilyen kutyáknak legtöbbször önállóan, vagy falkában kell dolgozniuk. Ezért a mai klasszikus őrző-védő kutyaképzés rendszerében a területőrző fajták legtöbbször nem, vagy csak nehezen, eltérésekkel használhatók.

A személyvédelemben a feladat ellátása során jelen van az ember, míg területőrzésnél, a használat jelentős részében az ember nincs jelen, ezért bízva a kutyára ezt a feladatot. Amíg a klasszikus személyvédő munkában a kutya mély, erőteljes, telipofás fogásokkal dolgozik, addig ez a területőrzés során akár az őrzőkutya halálát is jelentheti. Személyvédelem során az őrző-védő munkában a kutya bizonyos testrészek fogására specializálódott, a területőrzésben nem ez történik. Mivel territoriális ösztönről beszélünk, ezek a kutyafajták idegen helyen másképp viselkednek, mint saját területükön. Akár félnek, visszahúzódónak is tűnhetnek. Használatukból fakadóan munkájuk jelentős része a nyilvánosságtól távol történik.

A személyvédelemtől elkülönülő területőrzés további két használati stílusra bontható. Aktív területőrzésről akkor beszélünk, ha az őrzőkutya az adott területen járőrözik, bizonyos általa fontos ellenőrzési pontokon rendszeresen, időről időre megjelenik. Passzív területőrzés során a kutya kiválaszt egy bizonyos pontot, ahol elhelyezkedve tartja felügyelete alatt az egész területet. Az sem véletlen szelekció eredménye, hogy magyar őrző pásztorkutyáink fehér színűek. Ennek többféle magyarázata is született az elmúlt idők kutatásai során, mégis a használatelvök a legkézenfekvőbb, mert a fehér szín sokkal láthatóbb az éjszakai sötétben.

A magyar történelem során az állattartási kultúra változása magával hozta a magyar őrző pásztorkutyák munkájának változását. A külterjes állattartás, vándoroltató legeltetés időszakában ezek a fajták gulya- és nyájőrző feladatokat láttak el. Erről számos magyar történelmi bizonyíték tanúskodik. A magyar ember értékét jelentő legelő állatokra főként a nagyragadozók és a tolvajok ellen vigyáztak. Ehhez elengedhetetlenül szükség volt néhány jellemző belső tulajdonságra. A vándorlás és a legeltetés során együtt kísérték a jószágokat. Ezt fizikailag és anatómiailag is bírniuk kellett, ami a jószágokhoz való kötődésük nélkül elképzelhetetlen, mégpedig úgy, hogy az ember értékét, vagyont jelentő állatokat nem bántják, hanem védelmezik. Ez a tulajdonságuk napjainkban is előnyt jelent az állattartó telepek őrzése során. Egyetlen őrzőkutya nem bír el a nagyragadozóval, ilyen veszély esetén a kutyák falkában dolgoznak. Ehhez pedig meglehetősen fejlett társas viselkedés szükséges.

A magyar társadalom fejlődése a magyar pásztorkultúrára is hatással volt. A pásztorkultúra változása a pásztorkutyák használatát is megváltoztatta. A külterjes, vándoroltató állattartás hazánkban csaknem teljesen megszűnt. A hetvenes években belterjessé vált állattartásban a nagyragadozók (farkas, medve, aranyakál) támadásainak veszélye csökkent. A nagytestű nyájőrző kutyák feladata a telepek, majorok, tanyák őrzése lett. Az állattartás mai ismételt strukturális változásával, a kisebb állatállományok újabb megjelenésével a ragadozók újra veszélyt jelentenek. A nagytestű őrző-védő pásztorkutyák szerepe tehát felerősödött. Több, mint tíz éve indult, szélsőséges erdélyi területekre kihelyezett komondor és kuvasz tesztelési programok után a Bükk Nemzeti Park területén a KUVASZ-ŐR program a gyakorlatban hatékonyan működik. Ez a veszélyeztetett területeken, elsősorban Borsod, Nógrád megyékben

kuvaszkölykök kihelyezésével zajlik. Az adott területeken felnövekvő kuvaszok a visszatérő nagyragadozók mellett vagyonzó céllal illetéktelen behatolók ellen is védik a gazdák vagyont. A területőrzés a modern világban ősi alapokra helyezve bár, de új dimenziót kapott.

Az új szerepkörben az őrző pásztorkutyáink már kevésbé dolgoznak a klasszikus falkában, legfeljebb néhány kutya látja el ezt a feladatot. A társas viselkedés elvárásai is megváltoztak. Természetes használatban a nyájőrző kutyák éjjel-nappal aktívan őriznek. Telepőrzéskor csak időszakokra engedik a teljes területre a kutyákat. A jó pásztorkutya kiegyensúlyozott idegrendszerű, kezelhető, irányítható társkutya is egyben. A komondor és a kuvasz határozott, jó gazda kezében maradéktalanul megfelel a mindenkor elvárásoknak.

### **Magyar terelőkutyafajták használati értékmegőrzése napjainkban**

A magyar pásztorkultúra ősi értékrendje szerint kialakult terelőkutyáink munkája és feladatköre jelentős változásokon ment keresztül, de napjainkban is nagy segítség a modern állattenyésztésben. A magyar terelő stílus a világon egyedülálló, és különbözik a többi nemzet terelő kutyáinak munkájától. Hangos ugatású, megközelítve a jószágot, kellően odacsípve, elsősorban a hajtó munka jellemzi. Ezt a stílust az őshonos magyar haszonállatok karaktere alakította így.

A hivatásos magyar terelőkutyák képességüket tekintve fajtán belül is két jelentős használati csoportra oszthatók. A marhás kutyák nemcsak testfelépítésben különböznek a juhok kutyáktól, hanem képességekben is. Átfedések vannak a területek között, de a két használati ág specializálódott. A marhák mellett dolgozó hajtókutyák magasabb, lábasabb és erőteljesebb testfelépítésűek. Ösztönösen hátul fogják a jószágot. A juhoknál bevált munkastílus itt vagy eredménytelen lenne, vagy a kutya halálát jelentené. A juhok mellett használt kutyák zömökebbek, fordulékonyabb testfelépítésűek. Ösztönösen inkább a jószág elé ugatnak vagy az elejét csípi. Legfinomabb stílusúak a pásztorolható baromfik mellett használt kutyák (27. kép).

A terelőkutyák használata a magyar pásztorkultúra szerves része. A kutyákhoz a jószágot fokozatosan hozzá kell szoktatni. Az őshonos haszonállatfajták mellett kialakult magyar terelőkutyák a sporttenyésztés során küllemükben homogenizálódtak. Az eredeti feladatkörből kiragadva törvényszerűen veszítenek ősi használati értékükből. Napjaink génmegőrző tevé-



27. kép. Márton-napi libaterelés pulival (Fotó: Tari József)

kenységének legfontosabb feladata, hogy a kor elvárásainak megfelelő, előnyös küllem mellett a fajták használatához eredendően meglévő képességeket is fenntartsuk.

A terelőkutya nem őrzőkutya ugyan, de területiális ösztönrel rendelkezik. Nem elhanyagolható a jelző funkciójuk, ami az illetéktelen szándékot már visszatartja, de elsősorban a nagytestű őrző pászorkutyákkal falkában hatékony. Vérmérsékletük nagymértékben hozzájárulhat az állattartó helyen előforduló kártevők elriasztásához és irtásához (rágcsálók és kisragadozók). A terelőkutya az esetek tetemes részében egygazdásak, ami azt jelenti, hogy minden, terelésre használt kutyának megvan a saját gazdája. Erre a munkaszervezésben mindenképpen ügyelni szükséges.

A terelőkutya a pásztorolható haszonállatok körében állatfajtól függetlenül általánosságban minden olyan tevékenységnél használható, ahol az állatok mozgatása szükséges. Az alábbiakban néhány példát mutatunk be a magyar terelőkutya gyakori használatára napjainkban (*Tari József, 2011–2017*):

- Az állatállományok kötelező állat-egészségügyi kezelése (oltás, féregtelenítés, vérvétel) során szükséges állatmozgatások.
- Az állatok jelölésekor, ki- és behajtás a karámban, kezelőfolyosóban.
- Állattválogatás, elkülönítés, átcsoportosítások alkalmával a kívánt egyedek mozgatása.
- Az állatok felhajtása szállító járműre.
- Ki- és behajtás a legelőn és az istállóban.
- Állatmozgatás etetéshez, itatáshoz.
- Almozás, trágyázás, javítások, karbantartás alatt az állatok távoltartása.
- Újszülött állatok jelölésénél, kezelésénél az anyaállat távoltartása.
- Ivarzó, ellés előtti vagy beteg állatok elkülönítése.
- Fűrészés, nyírás, körmölés, sántázás során a juhok mozgatása.
- Liba, kacs, pulyka, csirke természetes, legeltetési nevelése során.
- Szabadtartásos tenyésztés- és áruterelő baromfiállományok esti behajtása.
- Ökológiai tartásmódban, az újrahaznosítható területek legeltetése, szélezés, mezsgyézés alkalmával.

## A magyar vadászkutya és használatuk

### A rövidszőrű magyar vizsla

*A magyar vizslák eredete:* Mai vizslafajtáink ősei a vándorló magyar törzsek kopó típusú vadászzebei voltak. Ezekből alakult ki a teljes mértékben vadászati tulajdonságok alapján szelektált pannon kopó, melyet elsősorban nagyvadak és ragadozók vadászatához alkalmaztak honfoglaló eleink. Később, a XIV–XV. századtól kezdődően a környezeti tényezők jelentős változásának eredményeként új vadászati módok alakultak ki. Az Alföld erdőszéle jelentősen csökkent, a nagyvad az erdővel együtt a hegyekbe húzódott, a sík területek vadállománya átalakult. A sűrű, alacsony növényzettel fedett területeken elszaporodott az apróvad, melynek vadászata igen népszerűvé vált. Az új terepadottságok és szákmányfajok új vadász-képességekkel rendelkező kutyákat igényeltek, melyeket a célnak leginkább megfelelő, a török hódoltság homok-

színű vadászkutyáival keveredett pannon kopó törzsek utódai közül válogattak ki, s ezekből alakult ki a XVI–XVII. század körül a sárga vizsla. Vadászati jelentősége a XVIII. századtól fokozódott. A XIX. század végén már vizslaversenyeket rendeztek Magyarországon, ahol a magyar vizslák is nagyon eredményesen szerepeltek. A fajta fejlődésében ebben az időben valószínűleg más vadászkutyafajták is szerepet kaptak (pointer). A rövidszőrű magyar vizsla szakszerű tenyésztése 1920-ban kezdődött, a fajtát az FCI 1936-ban ismerte el önálló fajtaként.

*Általános megjelenése:* Középnagy, elegáns, nemes megjelenésű, zsemlesárga, rövid szőrű vadászkutya. Inkább könnyed felépítésű (csontozat), száraz, szikár izomzatú, a szépség és erő harmóniáját tükrözi. Kisebb, legfeljebb 5 cm átmérőjű fehér folt vagy tűzés a mellen, toroktájékon és az ujjakon nem hiba. Vörös, barnás és világos árnyalatok nem kívánatosak. Feje szikár, nemes, koponyája enyhén domború. A fejtetőt enyhe homlokárok választja ketté középen, a mérsékelten fejlett nyakszirtcsonttól a stop felé. Orrháta egyenes, orrtükre széles, orrlyukai tágak. Állkapcsa erős, fogazata jól fejlett, ollósan záródik. Szeme kissé ovális, egy árnyalattal sötétebb szőre színénél. Fülei kissé hátul és középmagasan tűztek. A fül lebenye finom, a pofához simul, lefelé lekerekített V-alakban végződik. A fül hossza kb. a fejhossz harmadrésze. Nyaka szép ívű, izmos, középhosszú, lebernyeg nélküli. Mellkasa mély és hosszú. Háta egyenes, rövid, jó izomzatú. Ágyéka közepesen hosszú, széles, izmos. Fara arányosan izmos. Hasa enyhén felhúzott. Farkát  $\frac{3}{4}$ -ére kurtítják. Ha nem vágják le, a csánkig ér, és vízszintesen hordja. Végtagjai szabályos állásúak. Mancsa rövid, gömbölyű, ujjai zártak, körme barna. Szőre rövid, erős szálú, sűrű, fényes, testhez simuló. Szőrzete a fejen és a fülön vékonyabb, rövidebb és selymesebb, a fark alsó élén kissé, de nem feltűnően hosszabb szálú. Az egész testet fednie kell, a has alsó oldala kissé finomabban szőrözött. Aljszőr nincs.

*Mérete, súlya:* Marmagasság 57–64 cm (kan), 53–60 cm (szuka). Súlya: 22–30 kg. Fontos méretarányok: A testhossz kissé meghaladja a marmagasságot. A mellkasmélység valamivel kisebb, mint a marmagasság fele. Az arcorri rész valamivel rövidebb, mint a fejhossz fele.

*Viselkedése, jellege:* Élénk, értelmes, barátságos, kiegyensúlyozott, könnyen tanítható, készséges. A durva bánásmódot nehezen viseli el. Nem lehet sem agresszív, sem félénk. A gazdájához és családjához hihetetlenül kedves és hűséges. Nagyon szeret apportírozni és úszni, kiváló a szaglása és rendkívül kitartó.

### A drótszőrű magyar vizsla

*Kialakulása:* A drótszőrű magyar vizsla a XX. század harmincas éveiben a rövidszőrű magyar vizsla és a drótszőrű német vizsla keresztezésével jött létre. A tenyésztési cél az volt, hogy vadászati tulajdonságait tekintve a rövidszőrű magyar vizslához hasonló, ám annál ellenállóbb, nehezebb terepi és időjárási körülmények között is jobban használható fajtát hozzanak létre. Ebből eredően fajtajegyei a szőrzet minőségét kivéve javarészt megegyeznek a rövidszőrű magyar vizsláéval, így inkább a különbségek érdemelnek említést. Az érvényes eredeti standard közzétételének időpontja: 1966.

*Általános megjelenése:* Zsemlesárga színű, száraz és szikár, a rövidszőrű magyar vizslánál erősebb csontozatú, robusztusabb testfelépítésű. A füle valamivel rövidebb, mint a rövidszőrű magyar vizsláé, kissé hátul és középmagasan tűzött, a pofához simul, lefelé lekerekített V alakban végződik. Szőrzete drótszőrű, testhez simuló, erős szálú, sűrű és fénytelen. A fedőszőr

2–3 cm hosszú, sűrű, víztaszító aljszőrrel. A hosszú szőrzet nem rejt el a test formáit. A végtagok alsó részein, a mellkas és a has alsó részén puhább, rövidebb és kissé vékonyabb, a fején és a fülön rövidebb és egyúttal sötétebb, sűrű, de nem puha szőrzet. A kiálló szemöldökök hangsúlyozzák a stopot. Ez és az erős, de nem túl hosszú (2–3 cm), lehetőleg kemény szakáll a fang mindkét oldalán kiemelik a határozott arckifejezést. A nyakél két oldalán V alakú kefék találhatóak. Színe a zsemlesárga különböző árnyalatai. A fül egy árnyalattal sötétebb lehet, egyébként homogén. Vörös, barnás és világos árnyalatok nem kívánatosak. Kisebb, legfeljebb 5 cm átmérőjű fehér folt vagy tűzés a mellen, toroktájékon és az ujjakon nem tekinthető hibának. Az ajkak és a szemhéjak színe megegyezik az orrtükör színével.

**Mérete:** Marmagasság 58–64 cm (kanok), 54–60 cm (szukák). Fontos méretarányok: A testhossz kissé meghaladja a marmagasságot. A mellkasmélység valamivel kisebb, mint a marmagasság fele. Az arcorri rész valamivel rövidebb, mint a fejhossz fele.

**Mozgása:** Jellegzetes járásmódja a lendületes, könnyed, elegáns, térölő ügetés nagy tolóerővel és megfelelő előrelépéssel. Mezei kereséskor a kitaró vágta. A hát szilárd, a felső vonal nem tér el a vízszintestől. Jól felegyenesedett tartás. A poroszkálás nem kívánatos.

**Viselkedése, jelleme:** Hűséges, könnyen tanítható, tanulékony, önérzetes, a durva bánásmódot nem tűrő fajta. Vezetőjével kapcsolatot tart, szenvedélyesen kereső, kitaró, jó orrú, szilárdan álló. Kitűnő társ. Megjelenése egy mindenes vizsla kitarását, munkabírását és igénytelenségét tükrözi.

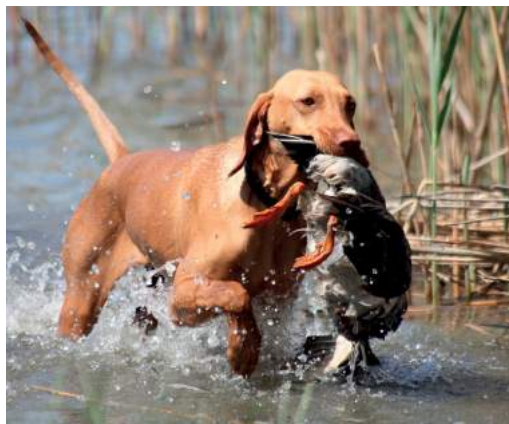
### **Magyar vizsla a mindenes vadászkutya: A magyar vizslák használata**

**Mezei munka, egyéni vadászat:** A vizslák eredeti alkalmazási területe az egyéni vagy kiscsoportos bokrászó apróvad vadászat. A vizsla feladata itt, hogy a levadászni kívánt területet zegzugos vonalban, nagy kilengésekkel, módszeresen és alaposan lekeresse, a fellelt apróvadat jellegzetes beállással jelezze, majd parancsra felverje, és a lövés után a lőtt vadat gazdájához hozza. Ehhez a vizslának kitűnő szaglással, a vad iránti kellő érdeklődéssel, vadmegállási hajlammal, elhozási (apport) készséggel, lövésállósággal és engedelmességgel kell rendelkeznie. Erősen fedett terepen, nádasok kajtatásakor a lövésnyi keresési távolság és az állás helyett a vad felverése a kívánalom, hiszen itt az álló vizslát nem látja a vadász.

**Társas vadászat:** Nagy létszámú társas vadászatban a vadat a hajtók vagy kajtató ebek keresik és verik fel, a vizsla feladata itt elsősorban a lőtt és sebzett vad összeszedése.

**Mezei csapamunka:** A nagy terítékű apróvad vadászatokat követő napon a vizsla nagy szolgálatot tesz a sebzetten elgyalogolt vad nyomát követve annak felkutatásában és begyűjtésében.

**Apróvad les vadászata:** Vizslát használhatunk apróvad les vadászatánál is. Szalonka-



28. kép. Rövidszőrű magyar vizsla récével (Fotó: Soóky-Takács Eszter)

vagy vízivadlesen a vizsla vezetője mellett elfektetve várakozik, majd lövés után parancsra indul a lőtt vad elhozására, amit akár a mély vízből is kihoz.

**Vízi munka:** A vizsla feladata a tocsogós, nádas területek lekeresése, kajtatása, a vad felverése, majd a lőtt vagy sebzetten menekülő vad szagnyomát (űszónyom) a vízen követve a vad elhozása vízből (28. kép).

**Dúvadirtás:** A vizslától elvárt, hogy a fellelt dúvadat támadja és fojtja, majd vezetőjéhez apportírozza. Az elérhetetlen helyre menekült ragadozót csaholja, míg vezetője odaér és elejti.

**Vércsapamunka (nagyvad):** A magyar vizslától legtöbbször mindenes munkát várunk el, amibe beleértendő a sebzett nagyvad csapájának követése, a sebzett nagyvad állóra csaholása vagy a dermedt vad megtalálásának jelzése a vezető számára dermedtre csaholással vagy a dermedthez vezetéssel.

### **A magyar agár**

Az agár a legősibb típusú vadászkutya, amit az ókori ábrázolások bizonyítanak. A ma élő agárfajták közös őstől, az egyiptomi agártól származnak. A magyarság Ázsiából Európába vándorlásakor keleti agarakkal, illetve agár típusú kutyákkal vadászhatott. A Kárpát-medence növényföldrajzi viszonyai a honfoglalás idejében nem kedveztek az agárral való vadászati módnak, csak az alföldi erdők fokozatos csökkenésével kezdett feléledni az agarászat. Első írásos emlékeink is Szent István idejéből valók. A török hódoltság alatt számos keleti jellegű agár került Magyarországra, így az arab agár, melynek genetikai örökségét, sivatagi sárga színét vadászkutyáink is megőrizték. Magyarországon az agarászat aranykora a XVIII. és XIX. század volt. Időközben az agarakat már versenyzésre is használták. A magyar agár jellegzetesen terepagár volt az angol versenyagárhoz képest, ezért kezdték keresztezni az angollal, így gyorsasága, fordulékonyasága, versenyesei növekedtek, de egy kicsit gyengébb, fáradékonyabb, sőt sérülékenyebb lett. A XX. század végére alig maradt fajtatiszta magyar agár. Bár a fajta jelentős átalakuláson ment keresztül, megőrizte magyar őseinek kiváló belső tulajdonságait, vadászvérét, ellenálló képességét, így fajtatisztán továbbtenyésztve a fajta fennmaradására még esély van.

Eleink az agarat sokféle vadra használták, nyúlra, rókára, antilopra, szarvasra, farkasra. Az agár feladata volt a megpillantott vad után vetni magát, azt kitaróan, nagy sebességgel üldözni, fárasztani, majd elfogni. Szaglása nem fejlődött ki, arra nem is volt szüksége, hiszen orrát a nagy sebesség miatt nem használhatta. Látása viszont annál élesebb lett, szemre dolgozó vadászból, gyorsasága pedig helyettesítette a még nem létező lőfegyvereket. Ezeket a sebes kutyákat a vadászok lóháton követték. Az idők folyamán szerepe már nemcsak a zsákmány megszerzésére korlátozódott, hanem az agarászat előkelő körökben kedvelt szórakozássá vált. Az egyedül vagy párban vadászó agarakat a vadászok gyalog vagy lóháton követték. Az agarak képességeit későbbiekben már vadászat nélküli versenyeken is összemérték, az agarászat lassan sport jellegűt öltött és sajátos nyelvezetével a feudális Európa kedvenc szórakozásává vált. Ma főleg pályaversenyzésre és coursingra használják, mivel az agarászat csak kevés helyen, szigorúan szabályozott körülmények között engedélyezett vadászati mód.

**Általános megjelenése:** Megjelenése erőt sugárzó, erős csontozatú, jól izmolt, elegáns. Az angol agártól elsősorban erősebb csontozata és kissé szélesebb feje és nagyobb, kissé vastagabb füle különbözteti meg. A koponya erős, széles, az arcorri rész erőteljes, de nem



durva és nem elhegyesedő. Fogazata erős, szabályos, állkapcsa hatalmas, orrtükre feketén pigmentált. Fülei nagyok, vastag szövetűek, középmagasan tűzöttek és jól hordott rózsafül formájában simulnak a nyakszirtre. Amikor a kutya figyel, fülét felállítja. A nyugalmi állapotban is felálló fül hiba. Szemei sötét színűek, tekintete élénk, értelmes. Törzse lapos és mély, hasa felhúzott, farka hosszú, csánkig ér. Az elülső végtagok erősek, inasak, egyenesek és párhuzamosak. Az első mancsok viszonylag nagyok, hosszúkásak, ún. nyúlmancsok, erőteljes talppárnákkal, röviden tartott karmokkal. A hátsó lábak erős csontozatúak, jól izmoltak, hatalmasan, inkább hosszúkásan izmolt combokkal. A hátsó mancsok viszonylag nagyok, kissé hosszúkásak, erős talppárnákkal és karmokkal. Szőrzete rövid, testhez simuló, télen sűrű aljszőrzet is borítja. Egykori jellegzetes színe a borsó sárga cirmos változattal. Ma már majdnem minden agárszín megengedett, de nem kívánatos a kék, az orda, a barna és a fekete-cser (29. kép).



29. kép. Magyar agáralom (Fotó: Székelyhidi Sándor Alex)

*Mérete:* Marmagasság 65–70 cm (kanok), 62–67 cm (szukák). Nem a centiméterekben mért magasság, hanem az arányosság a legfontosabb. Fontos méretarányok: A testhossz kissé nagyobb a marmagasságnál. Az orrhát hossza kb. a fejhossz felének felel meg.

*Viselkedése és jelleme:* Fáradhatatlan, kitartó, gyors. Edzett és ellenálló, versenypályán kiváló versenyző. Kissé tartózkodó természetű, értelmes, intelligens, hűséges. Éber, személyes és házörző ösztöne fejlett, de nem lehet agresszív vagy harapós.

### Az erdélyi kopó

Ősi magyar kutyafajta, melyet a pannon kopóból speciális éghajlati, terep- és vadászati viszonyok nemesítettek ki. Virágkorát a középkorban élte, a főúri udvarok kedvelt vadászkutyája volt. A mező- és erdőgazdálkodás fejlődésével használata visszaszorult a Kárpát-hegység nehezen bejárható erdőségei közé. A változatos terepviszonyok hatására alakult ki az erdélyi kopó két típusa: a hosszú lábú és a rövid lábú erdélyi kopó. A két változatot rendszerint együtt tartották. A XX. század elején az erdélyi kopót csaknem kipusztították, újratenyésztése 1968-ban kezdődött. Napjainkban Magyarországon kívül jelentős állománya van Romániában.

A hosszú lábú erdélyi kopót eredendően erdei vadászatokra, nagyvad (bölény, medve, hiúz, vaddisznó), a rövid lábú erdélyi kopót fedett területeken apróvad (róka, nyúl), valamint sziklás terepen zerge vadászatára használták.

Az erdélyi kopó kitűnően hajt és állít, friss nyomra érve jellegzetes nyifogással csahol, hajtás közben messze hangzó, magas, csengő hangot hallat. Vadászatokon vezetőjétől távol is önállóan dolgozik. Az erdélyi kopó nem falkakopó, többnyire egyedül vagy párban dolgozik. Utánkeresésre, vércsapásásra is kiválóan használható.

Az erdélyi kopót Romániában szinte kizárólag vadászatra használják. Magyarországon eredeti alkalmazása, a kopászat nem engedélyezett, de használható vaddisznóhajtásokban a vad felkutatására, sűrű részekből történő kihajtására, valamint a sebzett vad utánkeresésére. Vegyes vad területen nagyszerűen lehet vele őzet vagy vaddisznót utánkeresíteni. Manapság főként a nyomkeresési feladatok erősítése lehet a cél, hiszen így egész évben használható vadászatokban. Az utóbbi idők divatja az erdélyi kopót is utolérte, és sokan már csak családi kutyaként tartják, ami hosszú távon a fajta vadászati képességeinek gyengüléséhez vezethet.



30. kép. Erdélyi kopó (Fotó: Székelyhidi Sándor Alex)

*Általános megjelenése:* Az erdélyi kopó testfelépítése négyszögletes; a marmagasság és testhossz aránya 10:11 (enyhén téglalap alakú), a hátvonala vízszintes. Az alacsonyan tűzött, csánkig érő farkát nyugalomban leeresztve tartja. A fark alakja rendszerint sarlós, de sohasem lehet kunkorodó. A has enyhén felhúzott. Lábai egyenesek és függőlegesek, az ízületek mérsékelten jól kirajzolódók. Mancsa a macskáéhoz hasonló. Közepesen hosszú, izmos nyaka van. A koponya enyhén boltozatos, a stop viszonylag lapos. Az ornyereg egyenes. Az ajkak feszesek és szorosan záródók. A viszonylag rövid fülek magasan tűzöttek, háromszög alakúak és lelógók. Közepes nagyságú szemei ovális alakúak. A szemhéjak feszesek. Az erdélyi kopó harapása ollószerű. Szőrzete rövid és fényes. A hosszú lábú változat szőre valamivel durvább tapintású. A hosszú lábú erdélyi kopó alapszíne fekete, s azon cserbarna és olykor kisebb fehér rajzolat látható. A fehér rajzolat a test felületének legfeljebb az egyharmadát boríthatja be (30. kép). A rövid lábú erdélyi kopó szőrzete vörösesbarna, fehér rajzollal.

*Mérete, súlya:* A fajtának két változata van: egy rövid lábú és egy hosszú lábú. A hosszú lábú erdélyi kopó marmagassága 55–65 cm, a rövid lábúaké 45–50 cm. A testfelépítést, az arányosságot és a jelleget általában fontosabbnak tartják, mint az eb pontos magasságát. A hosszú lábú erdélyi kopó testsúlya 30–35 kg.

*Jelleme:* Egyéniség. Független, vállalkozó szellemű, értelmes és barátságos kutya. Igazi vadász, remek orral és óriási kitartással. A szabadban aktív és mozgékony, a lakásban viszont rendszerint nyugodt, kedves. Szellemi érettségét általában 2–3 éves kora körül éri el. Az időjárás viszontagságait jól tűri, és ridegen is tartható, feltéve, hogy ott elegendő kapcsolata van az emberekkel és sok mozgási lehetőséget biztosítanak a számára.

*Társas viselkedése:* Az erdélyi kopó társaságkedvelő kutya, remekül érzi magát más ebek között. Ugyanakkor nem ajánlható nyugodt szívvel macskák, nyulak és más állatok mellé. Ez a ritka magyar fajta jól kijön a gyerekekkel, az idegenekkel szemben viszont tartózkodó és gyanakvó, de nem agresszív.

A magyar vadászkutyákat bemutató fejezetünk végén kiemelten idézzük *id. és ifj. Jilly Bertalan* 1962-ben „*A vadászkutyák idomítása*” címen megjelent könyvét.

## A magyar kutyafajták tenyésztése és *in vivo* génmegőrzése

### A tenyésztés kezdetei

Nemzeti kutyafajtáink tenyésztése, nemesítése történetileg bizonyítottan része annak a több évszázados állattenyésztő kultúrának, amelyet pásztorkodó és vadászó elődeink megalkottak, majd évszázadokon át tudós állattenyésztő professzorok szervezett állami keretek között féltve őriztek és irányítottak.

A fajták, megfelelő irányítás mellett megőrizték legfőbb erényeiket, a hosszas nemesítő munka hatása alatt folytonosan formálódnak, alkalmazkodnak. Mint változatos, ugyanakkor egy-egy nemzetre jellemző sajátos biológiai alkotások, ugyanúgy értéket jelentenek, mint a kézműves, az irodalmi vagy éppen zenei értékek. Minden bizonnyal a mai pásztor- és vadász-kutyafajtáink elődei vándorló állattartó őseinkkel kerültek a Kárpát-medence területére. Az állathajtó utak mentén a pásztorkutyák gyakran keveredtek. Az igénytelen, kitartó, megbízható változatok maradtak fenn. A fajták elnevezései tájegységenként is változhattak.

A magyar kutyafajták szervezett tenyésztése 1920-ban, a többi fajtától elkülönítve, saját minősítési rendszerrel kezdődött. Ezt a tevékenységet *Raitsits Emil* (1882–1934) állatorvos professzor kezdeményezte. Irányításával felmérték a fellelhető állományokat. Raitsits professzor a magyar kutyafajták részére hozta létre a Magyar Eb Törzskönyvet annak érdekében, hogy az egyre népszerűsödő külföldi fajták ne szoríthassák ki a tenyésztésből nemzeti fajtáinkat. Az ősi fajtáink mellett az újként elismert fajták (pumi, mudi, vizslák) népszerűsítése is megindult.

A világháborúk tragikus eseményei drasztikusan csökkentették a fajták létszámait. A fennmaradó populációkat a kihalás veszélye fenyegette. Néhány nemzeti nagyvállalat, mint pl. a Gyapjúforgalmi Vállalat a kuvasz, a szári Béke Termelőszövetkezet a komondor és a fehér puli, az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete Martonvásáron a fekete puli tenyésztését karolta fel. Gödöllőn és Debrecenben az egyetemek állattenyésztési tanszékén pumi törzstenyésztet hoztak létre. Balassagyarmaton a Palóc Múzeumban a mudi tenyésztését és kihelyezését szervezték. A hatvanas évek közepétől az állami gazdaságok, erdészetek és termelőszövetkezetek nemzeti program keretében fajtatiszta állományokat tartottak fenn. A tenyészszukák kihelyezését, a kölyökkutyák exportját és a magyar fajták nemzetközi népszerűsítését a MAVAD szervezte.

Neves állattenyésztő szakemberek tenyésztési minősítéseket dolgoztak ki. Adatokat gyűjtöttek, színgenetikai- és szörzetelemzéseket végeztek. Később a Magyar Ebtenyésztők Országos Egyesülete, mint ernyőszervezet segítette a szerveződő tenyésztői szakosztályokat.

*Anghi Csaba, Márki Iván, Fényes Dezső, Orlay Ilona, Ócsag Imre, Kubinszky Ernő, Balassy Zoltán, Szajkó László* szakmai irányítása nélkül fajtáink vélhetően nem maradtak volna fenn.

### Jelenlegi helyzet

A kutyatenyésztés az elmúlt évtizedekben számos szabályozás (az Állattenyésztési Törvény és rendeletei) hatása alatt zajlott, de a hazai fajták kiemelt, populációdinamikai szempontokat is figyelembe vevő, pozitív megkülönböztetése mindvégig elmaradt. A fajták tenyésztői, eltérően a gazdasági állatfajok és -fajták tenyésztőitől, állami támogatásban eddig nem részesültek.

Napjainkban a nemzeti ebfajták tenyésztését állami felügyelet mellett a Magyar Ebtenyésztők Országos Egyesületeinek Szövetsége keretein belül a fajtaklubok koordinálják, és elismert tenyésztő szervezetként végzik a törzskönyvezést. A tenyésztő szervezetek személyi és technikai feltételrendszere rendkívül eltérő. A tenyésztők a tenyésztési tevékenységet teljes mértékben saját anyagi források felhasználásával, fajtaszeretettel, hobbiként, sportként, szórakozásként végzik.

A magyar kutyafajták törzskönyvezett kölyökszáma az utóbbi 20 évben rendkívüli módon lecsökkent. Ugyanakkor nagymértékben nőtt az ismeretlen származású egyedek létszáma. Valamennyi fajtánk, a tenyésztésbe vont nőivarú állományhányad tekintetében kritikus helyzetben van.

A tenyésztést mindenekelőtt az érzelem és a divat motiválja. Az eredeti használat a megváltozott viszonyok közepette háttérbe szorult. A használati érték is másként értelmezendő, mint a fajták kialakulása idején. A kutya ma elsősorban társállat. Az eredeti funkciókra csak részben van igény, de a genetikai változatosság fenntartása megköveteli a különböző hasznosítású alpopulációk párhuzamos fenntartását. A genetikai minták tudományos elemzése nyújthat csak megbízható támogatást a tenyésztői célkitűzések maradéktalan megvalósításához.

A ma népszerű show jellegű kutyakiállítások minősítési rendszere szubjektív leíró bírálatra és relatív rangsorolásra épül. Az eredmények nem tükrözik a kutyák valódi értékét. A tenyész-szemlék funkcionális típusbírálata és méretfelvételezése, kiegészítve genetikai minták gyűjtésével, már jobban szolgálják a tenyésztést, a fajták génmegőrzését és a tudományos elemzéseket. A tenyészszemlék és képességvizsgák a fajták szelekciójában eltérő módon és talán napjainkban még nem kellő kidolgozottsággal szerepelnek. A molekuláris genetikai vizsgálatok a fajtatisztság mellett az egyedi és populációs rokontenyésztettség, a genetikai távolságok, a terheltségek, a színöröklés és az öröklött viselkedés kérdéseire is fényt deríthetnek. Ez azonban csak a tenyésztőkkel együttműködve, genetikai értékmentő program keretében, biztos források mellett valósítható meg.

Mivel valamennyi hazai kutyafajta eredendően munkakutyának tekintendő, nagyon fontos a fajták eredeti munkakészségének és képességének folyamatos tesztelése és fejlesztése (terelő és őrző ösztönpróbák, versenyek, bemutatók, terelő és vadász oktató- és kiképzőbázisok működtetése) anyagi támogatással. A tenyésztés és génmegőrzés szervezése során tudomásul kell vennünk azt is, hogy léteznek fajtaminősítéssel nem rendelkező, jó munkakészségű, tájjellegű hajtó- (sinka, majzli, kopasz mudi) és őrzőkutyák (pl. a Kárpátokban nagyvadak ellen tartott kalibakutyák), amelyek a pásztorok között népszerűek.

### Javaslatok

- Valamennyi fajtánál szükséges a genetikai variancia bővítése, a vonalak feltárása és fenntartása, folyamatos, genomikai, genealógiai elemzések elvégzése.
- Az állami szakintézmények bevonásával a tenyésztés támogatása, információs rendszer kialakítása, genetikai kontroll, nukleusz populációk kijelölése, fenntartása, tenyészállatok cseréje.
- Legalább 3 generációra kiterjedő tenyésztési-génmegőrzési program kidolgozása valamennyi fajtára, amely az állami intézmények mellett a sporttenyésztők számára is lehetőséget és anyagi támogatást biztosít a meghatározott szakmai feltételrendszer és állami kontroll mellett.

- Az állami szakintézmények, nemzeti parkok, erdészetek bevonásával az aktív populáció növelése, génmegőrzés, a munkakészség vizsgálata és a képzés feltételeinek kialakítása eredeti környezetben; a fajták népszerűsítése, bemutató programok, versenyek szervezése; állami marketing tevékenység; munkakutyák kiképzése, képzett kutyák kihelyezése eredeti környezetbe.

### A magyar kutyafajták *in vitro* génbanki megőrzése

A Haszonállat-génmegőrzési Központ az 1990-es évek óta foglalkozik baromfi és nyúl szaporásbiológiai kutatásokkal. 2010-től őshonos, illetve régen honosult baromfifajták spermabankja működik az intézménynél. Az adott infrastruktúra továbbfejlesztése lehetőséget teremt magyar ebfajtáink spermabanki megőrzésére is. A kutyasperma vétele és tárolásának technológiája irodalmi és gyakorlati szinten is jól kidolgozott. Az első sikeres mesterséges termékenyítés mélyhűtött kutyasperma felhasználásával a múlt század 60-as éveiben történt (Seager, 1969). A 2000-es években az észak-európai államokban indultak meg komolyabb fejlesztések a témában.

#### Spermagyűjtés és -mélyhűtés

A mélyhűtési folyamat első lépése a spermadonor kanok kiválasztása. A veszélyeztetett magyar ebfajták genetikai variációjának fenntartása érdekében a tenyésztő szervezetek és a génmegőrzésért felelős állami intézmények közös szerepvállalása elengedhetetlen. A megőrzendő vonalak szelekciója fenotípus és genotípus alapján többlépcsős rendszerben történik. A tenyészkánokat funkcionális típusbírálat, részletes küllemi leírás és testméretfelvétel után vérmérséklet-, munkakészség- és speciális viselkedésszabványokon is értékelik. A kanok tenyészértékéről elsőként az ivadékaik minősége, illetve a későbbiekben genetikai vizsgálatok ad megbízható információt. A kiválasztott egyedekkel előzetesen genetikai vizsgálatokat végeznek a fajtaazonosság és a származásellenőrzés, valamint az esetleges genetikai terheltségek kimutatása érdekében. Irodalmi források szerint a termékenyítőanyag mélyhűthetősége szempontjából a donor állatok ideális életkora általában 2–8 év. Különösen a pumi és mudi fajtáknál gyakori a 10–14 évesen is kiválóan dolgozó tenyészkan. Ezek szerkezeti szilárdsága és vitalitása megőrzendő értékmérő tulajdonság. A donor egyed chipszámmal azonosítható. Csak olyan kanokat használhatunk spermadonorként, melyek megfelelnek az állat-egészségügyi elvárásoknak. Ezek a következők: az általános egészségi állapot, az előírt prevenciók kezelése megléte és bizonyos kórokozótól való mentesség (leptospirozis, brucellózis, herpes vírus-CHV, mycoplasma stb.). Emellett kiválasztási feltétel még a folyamatos spermatermelésre való képesség és a megfelelő minőségű sperma.

A legoptimálisabb esetben az ondóvétele a tartás helyén történik, a kellő gyakorlattal rendelkező személy segítségével, egy tüzelő szuka jelenlétében. Többféle ondóvételi technika áll rendelkezésre: műhüvely alkalmazása, elektro-ejakuláció és manuális stimuláció. Az ondóvétele frakcionált, az első frakció 0,5 ml tiszta prosztataavuladék, a második frakció kerül felhasználásra,

ami 0,5–3 ml és spermiumban gazdag. A harmadik frakció 5–40 ml prosztataavuladék. A spermiumszám 100–5000 millió között változhat egyedenként és ejakulátumonként.

Mélyhűtésre is alkalmas kutyaondó minőségi paraméterei a következők:

- pH: 6,3–6,7;
- progresszív motilitás > 70%;
- Normál spermiumok aránya > 80%
- Spermiumszám legalább 400 millió/ejakulátum
- Fehérvérszám < 2000/ml

Az ejakulátum előkészítése mélyhűtésre centrifugálási és hígítási folyamatból áll (Linde-Forsberg, 2005, Igna, 2007). Erre ma már számos kereskedelmi hígító áll rendelkezésre (Linde-Forsberg és munkatársai, 1999; Pena és Linde-Forsberg, 2000). A mélyhűtés előtt megfelelő koncentrációban krioprotektív, illetve ozmoprotektív anyagokkal védjük a mintát, utána a spermiumkoncentráció beállítása történik (200 millió/ml) (Watson, 2000). A különböző mélyhűtési protokollokban az egyensúlyi hőmérséklet 4 °C-on, 1-től 4 óráig terjed.

Az ondó mélyhűtése többnyire 0,5 ml-es műszalmában, alapvetően kétféle módon történhet: programozott mélyhűtő berendezésben, dinamikus módon –10 és –50 °C/perc hűtési rátával, illetve statikus módon, polisztirol dobozban, 4 cm-rel a folyékony nitrogén szintje fölött 10 percig tartva a mintát. A minták felolvasztása protokolltól függően 37 vagy 70 °C hőmérsékleten történhet. Természetesen standard módszer nehezen meghatározható, hiszen a fajták, egyedek és az ejakulátumok is különbözhetnek a mélyhűtés/felolvasztás folyamán.

A jelenlegi kutatási eredmények alapján elmondható, hogy a sejtek túlélése a mélyhűtést/felolvasztást követően 20–60%, míg a vemhesülés esélye 50–70%, amit jelentősen befolyásol az inszeminálás időpontjának helyes megválasztása. A tapasztalatok szerint az alomszám 25–30%-kal alacsonyabb a természetes pázás eredményeivel összehasonlítva.

A génbanki tárolásban fontos követelmény a lefagyasztott műszalma azonosíthatósága. A műszalmákban levő feliratnak tartalmaznia kell az állat azonosítóját (chipszám), a fajtát, a mintagyűjtés dátumát. Fontos, hogy az azonosítás megegyezzen az adott egyed genetikai mintájának azonosítójával.

A magyar ebfajták génmegőrzési programja keretében a kritikus méretű hazai populációk spermabankjának kialakítása, és ezzel párhuzamosan az ondómélyhűtési technikák további fejlesztése a cél.

#### DNS-vizsgálatok

Terveink szerint, eleget téve a jogszabályi rendelkezéseknek, valamint a hazai és nemzetközi tenyésztői elvárásoknak, megszervezzük és megvalósítjuk az államilag elismert magyar ebfajták génmegőrzését szolgáló genetikai vizsgálatokat. A kapott eredmények alapján tudományos-tenyésztési koncepcióval segítjük a tenyésztő szervezetek munkáját. Az érintett fajták veszélyeztetettségi státusza ezáltal enyhíthető, illetve megszüntethető.

A későbbiekben a vizsgálatok kiterjedhetnek a fajtaként még nem elismert további, hazai eredetű kutyapopulációk (sinka, majzli, erdélyi kopó- és mudi-változatok stb.) hasonló célzatú genetikai elemzésére is.



Vizsgálatainkban három, a nemzetközi gyakorlatban használatos mikroszatellit markerkészlettel (*Arata és munkatársai, 2016; Wictum és munkatársai, 2012; ThermoFisher, 2017*), reprezentatív módon tudjuk tesztelni a különböző fajtáinkat. Fajtánként nehezen jósolható meg az egyes mikroszatellit markerek információtartalma, hiszen a populációk gyakran a palacknyakhatásnak és beltenyésztésnek is ki vannak téve. Az előzetes vizsgálatokat követően alakítunk ki valamennyi fajtára közös vagy fajtaspecifikus markerkészleteket, melyek különböző szintű diverzitásvizsgálatokat tesznek lehetővé.

Kutatásaink nemcsak a meglévő tenyészállományok belső genetikai jellemzőit hivatottak feltárni, hanem a törzskönyvezésből korábban kisodródott egyedeket is minősíti, hogy azok a génmegőrzést szolgáló tenyésztésbe bevonhatók legyenek.

## Irodalomjegyzék

- Anghi Cs. G. (1935): A magyar pásztorkutyák terminológiája, jellegleírása és standardja. Debreceni Szemle IV: 8.
- Anghi Cs. G. (1936): A magyar pásztorkutyák és külföldi rokonfajták. Budapest, Scholtz Testvérek Bizománya, Budapest
- Arany Cs. (1998): A puli története. Magánkiadás, Debrecen
- Arata, S., Asahi, A., Takeuchi, Y., Mori, Y. (2016): Microsatellite locus analysis for individual identification in Shiba Inu. *Journal of Veterinary Medical Science* 78(3): 439-441.
- Bíró A. (2002): Régi magyar kutyafajták. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Bíró A. (1996): A 100. év elé. MEOE kiadás, Budapest
- Bodó I. (2000): Eleven örökség – Régi magyar háziállatok. Agroinform Kiadó, Budapest
- Buzády T. (2005): Magyar kutyák. Nóra Kiadó, Budapest
- Buzzi G. (1907): A hazai pásztorebek regenerációja. *Allattenyésztési és Tejgazdasági Lapok* 7: 8.
- Herman O. (1909): A magyarok nagy ősfoglalkozása. Természettudományi Társulat, Budapest
- Herman O. (1914): A pásztorok nyelvkincse. Természettudományi Társulat, Budapest
- Hódosi J. (1996): A kuvasz. MEOE, Hungária Kuvasz Klub, Budapest
- Hungária Puli-Pumi-Mudi klubinfó (1996-1999): MEOE, Hungária Puli-Pumi-Mudi Klub, Budapest
- Igná, V. (2007): Sperm preservation. In: *Canine reproduction, obstetrics and gynecology (in Romanian)*. Ed. Brumar, Timișoara, Romania. 265-278 p.
- Ilosvay Hollósy L. (1936): A magyar nemzeti kutyafajták fajtajellegének leírása. Magyar Ebtenyésztők Országos Egyesülete, Budapest
- Jilly B. id. és ifj. (1962): A vadászutyák idomítása. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Kenéz Z. (1922): A komondor meghatározása és a pásztoreb leírása. Daróczy Nyomda, Túrkeve
- Linde-Forsberg, C., Ström Holst, B., Govette, G. (1999): Comparison of fertility data from vaginal vs uterine insemination of frozen-thawed dog semen: a retrospective study. *Theriogenology* 52: 11-23.
- Linde-Forsberg, C. (2005): Artificial Insemination. In *ESAVS-EVSSAR Course Reproduction in companion, exotic and laboratory animal*, Nantes, France
- Lovassy S. (1919): A magyar pásztorkutyák *Természettudományi Közlöny*, Budapest. 26 p.
- Matolcsi J. (1975): A háziállatok eredete. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Mészáros M., Farkasházi M. (2003): *Fergeteges örökségünk*. Rózsa Nyomda Kft., Érd
- Mészáros M., Langer György, Szabó Zs. (1996): Puli, pumi, mudi. *Kutyatár. Elek és Társa Könyvkiadó*, Budapest
- Mészáros M., Langer Gy., Szabó Zs. (2005): Puli, pumi, mudi. *Kutyatár. Elektra Kiadóház*, Budapest
- Ócsag I. (1961): A puli. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Pethe F. (1815): *Természethistória és mesterségtudomány*. A Nemzeti Gazda Hivatala Bécsben

- Pena, A., Linde-Forsberg, C. (2000): Effects of Equex, one- or two-step dilution, and two freezing and thawing rates on post-thaw survival of dog spermatozoa. *Theriogenology* 54(6): 859-875.
- Raitsits E. (1924): A magyar kutyák. Centrum Kiadóvállalat Részvénytársaság, Budapest
- Sárkány P. (1975): A kutya tenyésztése, tartása, kiképzése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Sárkány P., Ócsag I. (1987): Magyar kutyafajták. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Seager, S. W. J. (1969): Successful pregnancies utilizing frozen dog semen. *AI Digest* 17: 6-7.
- Tari J. (2011-2017): [www.pasztorpuli.hu](http://www.pasztorpuli.hu)
- ThermoFisher (2017): Canine Genotypes Panel 2.1 Kit  
<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/F864S> (letöltés: 2017.07.07.)
- Watson, P. F. (2000): The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science* 60-61: 481-492.
- Wictum, E., Kun, T., Lindquist, C., Malvick, J., Vankan, D., Sacks, B. (2013) Developmental validation of DogFiler, a novel multiplex for canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic Science International: Genetics* 7: 82-91.
- Zöldág L. (1996): *Kutyagenetika és örökletes betegségek*. MEOE kiadása, Budapest

# Őshonos haszonhal-fajaink és halfajtáink genetikai erőforrásainak megőrzése

LEHOCZKY ISTVÁN – HORVÁTH ÁKOS – KOVÁCS BALÁZS – KOVÁCS GYULA –  
RÓNYAI ANDRÁS – URBÁNYI BÉLA



## A hal génmegőrzés szükségessége

A halászati termelésben (halgazdálkodás és haltenyésztés), valamint a halászati kutatásban már felismerték a genetikai erőforrások megőrzésének fontosságát, de napjainkban jóval csekélyebb mértékben alkalmazzák ezt a gyakorlatban, mint amire a benne rejlő lehetőségek feljogosítanak. Ennek okait és miertjeit nem tisztünk elemezni, de néhány olyan, tényeken alapuló előrejelzést fontos kiemelni, amelyek várhatóan a jövőben a génmegőrzés jelentőségét emelni fogják a halászat és az akvakultúra területén egyaránt.

Az emberiség lélekszáma évente 80 millióval növekszik, 2050-re meghaladja majd a 9 milliárdot (*U. S. Census Bureau, 2009*). Ez a hatalmas embertömeg több szükségleti jellemzővel rendelkezik: élelemmel kell ellátni, és munkája/tevékenysége folytán terheli és szennyezi a környezetét. Ezen tények alapjaiban határozzák meg a mezőgazdaság hangsúlyos voltát: ezt az embertömeget nap mint nap élelmiszerrel, élelmiszer alapanyaggal kell ellátni, viszont a mezőgazdasági területek a nagy embertömeg közvetlen vagy közvetett hatására szennyeződnek, szűkülnek, adottságaik romlanak.

A folyamatos termelésnövelési kényszer, a termelés intenzifikálása alapvetően rákényszeríti a mezőgazdaságot és az ipart, hogy a legfejlettebb technológiákat, a tudomány legújabb vívmányait is alkalmazza. Emellett a folyamatos nyersanyagigény eredőjeként újabb és újabb területek kerülnek mezőgazdasági művelés és ipari hasznosítás alá, ami környezetvédelmi és természetvédelmi aggályokat ébreszt és generál. Ezt támasztja alá az a tény, hogy a világon napjainkig 6379 állatfajt vontak tenyésztésbe, mely fajok 9 százalékának esetében a vadon élő populációk állomány nagysága a kritikus szintre csökkent, és 39%-uk vad változatai már veszélyeztetettnek számítanak (*Hiemstra és munkatársai, 2005*).

A halak osztályának fajgazdagsága a legnagyobb a gerincesek törzsében, több mint 32 500 halfajt ismerünk (*Nelson, 2008*). Ennek 58%-a tengeri, 41%-a édesvízi halfaj és 1%-a az édesvízi és sósvízi térség között vándorol élete során. A halfajok legnagyobb változatossága a tengerekben alakult ki, ami nem véletlen, mivel a Föld 70%-át borítja sósvízű tenger és/vagy óceán. A Föld édesvíz-borítottsága csak 1%, viszont ez a kis terület 8000 halfaj otthona és élettere.

A világ halászati termelése legalább 974 halfajt, 143 rákfajt, 116 puhatestűt, 26 növényfajt és 73 egyéb állatfajt (pl. tüskésbőrűeket) érint. Ezek közül 153 halfaj, 60 héjas állat, 44 puhatestű, 11 növény és néhány egyéb állat jelenti a tényleges termelés döntő hányadát (*Bartley, 2005*).

A FAO (Food and Agriculture Organization) felmérte a vízi szervezetek genetikai tartalmának védelmi és megőrzési lehetőségeit. A tanulmány hangsúlyozza, hogy mind a termelés fokozása, mind pedig a biológiai és genetikai sokszínűség megőrzése elképzelhetetlen a modern biotechnológiai és biotechnikai eljárások alkalmazása nélkül (*Bartley és Pullin, 1999*).

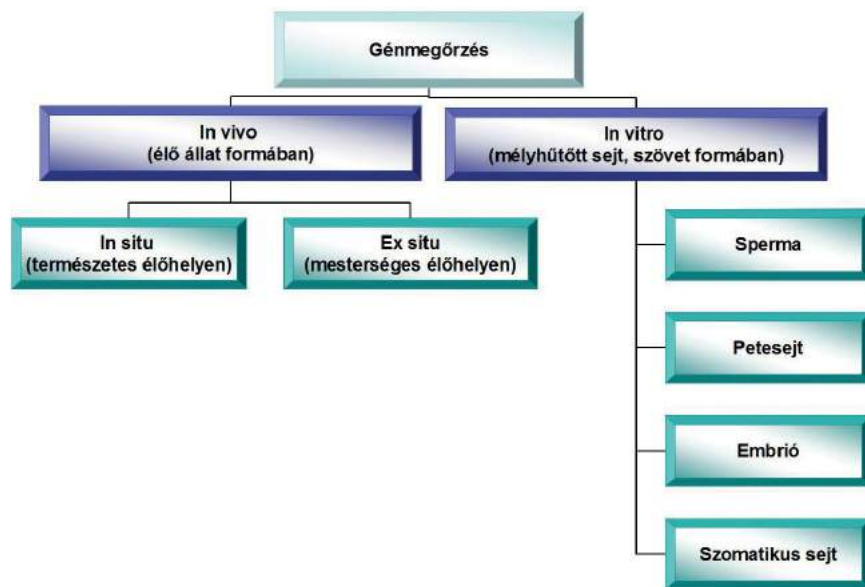
A természeti erőforrások egyre gyorsabb ütemű felélése, az élőhelyek elpusztítása miatt napjainkban sokkal nagyobb a fajkihalás üteme, mint bármikor a Föld története során. A leglátványosabban ez a gerinces állatok esetében figyelhető meg: jelenleg a madarak 11, az emlősök 25 és a halak 34%-a vált veszélyeztetetté. Megszülettek azok a kezdeményezések, amelyek lényege a fajkonzerváció és génmegőrzés, vagy általánosabban megfogalmazva a biológiai változatosság, azaz a biodiverzitás megőrzése.

Az elmúlt évszázadban 270 halfaj pusztult ki a Földön, és a kipusztulás és fenyegetettség gyorsulását jól jelző adat, hogy a 270 halfajból 160 halfaj kipusztulása 1964 után, az ipari

és mezőgazdasági termelés növekedésének fokozódásától számítható. Összességében elmondható, hogy az édesvízi halfajok 20%-a, míg a tengeri halfajok 39%-a a veszélyeztetett kategóriába sorolható, habár ennek a státusznak az értelmezése és a státuszt megillető védelem bizonyos érdekek következtében nem mindig biztosítja a halfajok megóvását (Helfman, 2007).

A halfajok jelentősége az alábbiakban foglalható össze (a teljesség igénye nélkül):

- A halak a táplálkozási lánc (tápláléklánc) fontos szereplői, az ökológiai egyensúly fontos tagjai: egyesek más halfajok vagy magasabb rendű ragadozó állatok táplálékai, valamint egyes vízi szervezetek egyensúlyának őrői;
- Fontos indikátorai a vízminőségnek és az ökoszisztéma-egyensúlynak: egyes halfajok eltűnése bizonyos vizekből a vízminőség romlását jelzi. Emellett további tevékenységek (eliszapolódás, vízszennyezés, vízerőművek, bányászat, túlhalászat stb.) is negatív hatással vannak a halak elterjedésére. Röviden fogalmazva: a halak a vizek őrszemei-indikátorai, azonnal jelzik, ha változás van a környezetükben;
- A vadon élő és a tenyésztett halfajok fontos elemei az emberi táplálkozásnak. A halhús magas fehérjetartalma, kiváló zsírsav-összetétele, zsír- és koleszterinszegény volta következtében egyike a legegészségesebb élelmiszereknek. Rendszeres fogyasztása pozitív hatással van az egyének egészségi és fitness állapotára. Néhány haltermék ínycsemege, melyek a luxus élelmiszer kategóriájába tartoznak (kaviár);
- A horgászat, mint szabadidős tevékenység, jelentős társadalomra gyakorolt hatással rendelkezik. Iparágak élnek meg a horgásztársadalom kiszolgálásából (felszerelések, csalieledek gyártása stb.), és óriási tömegek választják időtöltés végett a horgászatot. Hazánkban a 400 000 főt is meghaladja a horgászok létszáma, de pl. az Amerikai Egyesült Államok lakosságának 30%-a rekreációs horgásznak számít.



41. ábra. A gazdasági haszonállatok génállomány-megőrzésének alapmódozatai (Simianer, 2005 nyomán)

A tenyésztett és vadon élő állatok biodiverzitásának megőrzését hivatott koordinálni a számos állam vezetője által ratifikált Biológiai Diverzitás Egyezmény (CBD, 1992). Az ebben megfogalmazott elvek mentén számos tanulmány és szakkönyv született, taglalva az egyes állat- és növényfajok megőrzésének módozatait, megvilágítva azok előnyeit és hátrányait egyaránt.

A modern génmegőrzési eljárásokat többféle módon osztályozhatjuk, melyek közül a legfontosabbakat mutatja be a 41. ábra. Viszont hangsúlyoznunk kell, hogy a halak esetében bizonyos módszerek egyelőre nem működnek (ikra- és embriófagyasztás), másokra viszont több sikeres hazai és nemzetközi példa található.

Összességében elmondható, hogy a génmegőrzés *in vivo* és *in vitro* formában, kiegészülve a modern molekuláris genetika és biológia nyújtotta technológiákkal, alapot adhat arra, hogy a gazdaságilag jelentős halaink génállománya fennmaradjon, és ezen génállomány tenyésztésben való alkalmazása biztosítsa a biológiai sokféleség megőrzését.

## Őshonos haszonhalaink génmegőrzése *ex situ*, *in vivo* és *in vitro* módszerekkel

### A ponty génmegőrzése

A ponty (*Cyprinus carpio* L.) európai alfaja (*Cyprinus carpio carpio*) genetikai erőforrásainak megőrzését két oldalról kell megközelítenünk. Egyrészt foglalkoznunk kell a vadon élő és egyre hanyatló populációk (dunai vadponty, tiszai nyurgaponty, balatoni sudárponty, velencei tavi nyurgaponty) eredeti élőhelyükön és génbankokban történő megőrzésével (géntartalék), másrészt figyelembe kell vennünk azokat a nemesített fajtákat is, amelyek a további szelektációs munka alapjául szolgálhatnak.

A természetes vizeinkben vadon élő pontypopulációk lassan, de folyamatosan és megállíthatatlanul hanyatlanak. A populációk eltűnésének egyik fő oka a vadvizekbe telepített domesztikált egyedekkel, ázsiai eredetű egyedekkel, valamint ezek hibridjeivel történő kereszteződés. A vadponty-populációk megirtulásának másik fő oka az élőhelyvesztés, a természetes ivóhelyek hiánya és a környezetszennyezés. Nagy a valószínűsége annak, hogy természetes vizeinkben már alig találhatóak genetikailag tiszta vadponty egyedek. A vadponty veszélynek kitett fajként szerepel az IUCN vörös listáján is, ez azt jelenti, hogy jelen pillanatban nem kritikusan veszélyeztetett vagy veszélyeztetett, de a természetes állományok középtávon nagy valószínűséggel ki fognak pusztulni, ezért is bír különleges jelentőséggel ezek megőrzése (Kottelat és Freyhof, 2007).

A ponty mellett, hogy fontos szerepet játszik az általa benépesített élőhelyek ökoszisztémájában, hatalmas gazdasági jelentőséggel is bír. Az egyik legrégebben domesztikált halfaj (Balon, 2006). Az éves pontytermelés világviszonylatban 4 159 117 tonna volt 2014-ben, amivel a faj a harmadik helyet foglalja el (ez a világ haltermelésének nagyjából 14%-át jelenti) az amur és a fehér busa mögött a világ haltermelésében (FAO, 2004–2017). A magyarországi tógazdasági termelés fő halfaja a ponty, amely az akvakultúrában megtermelt étkezési hal 62 százalékát teszi ki. Természetesen a ponty aránya a tógazdaságok vonatkozásában még magasabb, és eléri a teljes tógazdasági étkezési haltermelésen belül a 75 százalékot (Gábor és munkatársai, 2016). A hazánkban tenyésztett haszonhalak közül a szivárványos pisztrágon kívül egyedül a ponty számít



a klasszikus értelemben véve háziasított fajnak. A ma tenyésztett pontyfajtáink jelentős része a nyugat- és közép-európai tenyésztett fajtákból, valamint a magyarországi vadon élő populációkból ered. A faj tudatos szelekciója a XIV–XV. században kezdődött. Mutáció útján létrejöttek a hiányos pikkelyzetű tükrös fajták, melyeket később továbbtenyésztettek. Ekkoriban az európai pontynemesítésben a cseh és lengyel tenyésztők jártak az élen, akik négy-öt éven keresztül mély tavakban nevelték a pontyot (*Bakos, 1968*). A XIX. században a német és cseh pontytenyésztés minőségi fejlődésen ment keresztül, amikor a magyar származású *Dubics Tamás* által kidolgozott technológiával 2–3 évre rövidítették a tartási időt. Magyarországon a XIX. század végén *Herman Ottó* segítségével *Corchus Béla* a pontyra alapozva létrehozta az első tógazdaságot Simontornyán. A századfordulóra már különböző pontyfajták találhatók az országban, melyek eltérő testformájúak, színezetük és pikkelyzetük különböző. Ilyen klasszikus fajták az aischgrundi, a csehországi, a frankóniai, a luzsikai és a galíciai ponty (*Pintér, 1989.; Bercsényi, 1997*). Az 1950-es évek végére a hazai pontytenyésztésben kialakultak az önálló tájfajták, melyek a nagyobb tógazdaságok reprezentánsai (pl. sumonyi, bikali, tatai stb.). Kialakulásukban jelentős szerepe volt a röghatásnak, illetve az eltérő szelekciós és tenyésztési szempontoknak (*Bakos és munkatársai, 1997*). Az 50-es évek végére *Woyanarovich Elek (1954; 1962)* kidolgozta a pontyokra ragadóságának megszüntetését konyhasós-karbamidos oldat alkalmazásával és megteremtette a ponty mesterséges, keltetőházi szaporításának alapjait. A módszer elterjedésével, valamint a szállítás technológiájának fejlődésével az addig egymástól elzárt fajták, állományok, populációk keveredése is megindult. A 70-es években megjelentek az első hazai pontyhibridek, melyek 15–20%-kal jobb eredményt értek el a termelésben, mint a létrehozásukhoz használt eredeti fajták. A hibridek megjelenése ugyancsak segítette a tájfajták kiszorulását a termelésből, és ezzel együtt létüket is fenyegette. A keveredési, kiszorulási folyamat megindulása miatt vetődött fel egy ponty élő-génbank létrehozásának gondolata. Ezért *dr. Bakos János*, a szarvasi HAKI-ban (Haltenyésztési Kutatóintézetben, ma Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ - Halászati Kutató Intézet) összegyűjtötte Magyarországon fellelhető tájfajtákat (*Bakos, 1975*). Ezután a génbank további magyar és külföldi tájfajtákkal, fajtákkal bővült (31. kép). A génbank elsődleges feladata kezdetben a különféle nemesítési, keresztezési és hibridizációs munkákhoz szükséges, különböző genetikai háttérű pontyfajták biztosítása volt. Később, mivel a tenyésztő gazdaságok eredeti állományai fokozatosan eltűntek vagy más fajtákkal keveredtek, és a természetes vizekben élő populációk is hanyatlásnak indultak, a génbank szerepe is bővült. Fő feladatává a megőrzés, a különböző pontyfajták, vadon élő populációk és tájfajták eredeti genetikai háttérrel való fenntartása vált. Az élő génbankban ma 12 hazai és 4 külföldi pontyfajtát őriznek. Az *in vivo* génbank mellett a HAKI 2005-től tart fenn *ex situ, in vitro* génbankot, amelyben 17 magyar és 8 külföldi fajta szaporítóanyagát őrzik. A fajták közül néhány az eredeti kialakulási, tenyésztési helyén ma már nem található meg. A ponty génbank állományát felhasználva többször telepítettek halakat eredeti élőhelyükre. A 2000-es tiszai ciánszennyezés után tiszai nyurgapontyokat telepítettek innen a folyóba, míg a délszláv háború után a horvát, nasicei és poljanai fajták kerültek vissza a génbankból a nemesítő gazdaságokba (*Bakos és Gorda 1995; Gorda és munkatársai, 1995; Bakos és Gorda, 2001; Lehoczky és munkatársai, 2009; Jeney és munkatársai, 2011*).

Európában minden jelentős pontytenyésztő ország tart fenn génbankot. Csehországban az *in situ* megőrzésre helyezték a fő hangsúlyt. Az egyes halfajok, fajták, tájfajták megőrzési és fenntartási helyéül a nemesítő, valamint a tenyésztő gazdaságokat jelölték ki, de jelenleg is fenntartanak

15 pontyvonalat/fajtát a Vodnanyban található Halászati és Hidrobiológiai Kutatóintézetben (*Flajshans és munkatársai, 1998; Flajshans és munkatársai, 1999*). Mindezek mellett a genetikai változatosság megőrzése érdekében kialakítottak egy *ex situ, in vitro* génbankot is, ahol több faj spermáját konzerválták. Lengyelországban (*Irnazarow, 1995*), Ukrajnában (*Serman és munkatársai, 1999*), Oroszországban (*Kirpitchnikov, 1999*), Moldovában és Fehéroroszországban (*Bogeruk, 2008*) szintén fenntartanak ponty génbankokat, melyekben hazai és külföldi fajtákat őriznek.



31. kép. Ponty (*Cyprinus carpio* L. 1758) anya a NAIK-HAKI *ex situ* élő génbankjában (Fotó: Lehoczky István)

A kutatók és tenyésztők munkáját ma már nagymértékben segítik a molekuláris genetika eszközei is. Ezek alkalmazásával könnyen felmérhető az egyes fajták, vonalak és populációk genetikai változatossága, valamint az egymástól való genetikai távolságuk is. *Kohlmann és munkatársai (2003)* 23 vadon élő pontypopulációt és tenyésztett állományt vizsgáltak különféle genetikai markerekkel (mikroszatellit DNS-markerek, mitokondriális DNS-markerek). Eredményeik szerint a magyarországi populációból származó tiszai vadponty jelentősen különbözik mind a dunai vadpontytól, mind pedig az összes, Európában és Ázsiában vadon élő populációtól. *Bártfai és munkatársai (2003)* két hazai fajta teljes anyaállományát vizsgálták 10 RAPD és 4 mikroszatellit DNS-markerrel. Mind a heterozigotitás, mind pedig az allélfrekvenciák tekintetében a két fajta nagyon hasonló volt, és statisztikailag nem lehetett elkülöníteni őket egymástól. A vizsgálat érdekessége, hogy a referenciaként megvizsgált nyolc vadponty egyed (4–4 dunai és tiszai vadponty) esetében 3 egyedi allélt találtak a kutatók, míg az összes többi megvizsgált egyed esetében (372 egyed) összesen hét ilyen tudtak leírni. Ez is a vadon élő populációk, mint genetikai erőforrások fontosságát támasztja alá. *Lehoczky és munkatársai (2010)* hasonló eredményekről számoltak be, amikor a HAKI élő génbankjában fenntartott 15 pontyállomány (köztük a tiszai és dunai vadponty) genetikai változatosságát vizsgálták, és arra a következtetésre jutottak, hogy az ott megőrzött két vadponty-állomány genetikailag változatos és jól elkülönül mind a többi fajtától, mind pedig egymástól. Magas genetikai diverzitásuk, a sok megfigyelt egyedi allél, a heterozigoták magas aránya azt mutatták, hogy a vadpontyfajták érdemesek a megőrzésre. Egy korábbi kutatási programban *Lehoczky és munkatársai (2005)* tiszai és a dunai vadponty egyedeket vizsgáltak annak érdekében, hogy kiderítsék, vannak-e ázsiai eredetű egyedek a HAKI ponty génbankjában (*ex situ, in vivo*) fenntartott állományokban. A vizsgálathoz *Gross és munkatársai (2002)* módszerét használták és igazolták, hogy nincsenek ázsiai eredetű vagy hibrid egyedek a két állományban.

A ponty genetikai erőforrásainak megőrzésében hazánkban kiemelkedő szerepet játszanak azok a tenyésztő szervezetek is, melyek saját államilag elismert pontyfajtájukat tartják fenn. Ez a harminchárom fajta játssza ma a legnagyobb szerepet a hazai haltermelésben.

A ponty genetikai erőforrásainak megőrzése során fontos feladatunk, hogy a génbanki állományok és a tenyésztett fajták fenntartása mellett javítsuk a vadon élő populációk túlélési esélyeit. Ezt leginkább az élő- és ívóhelyek védelmével és fejlesztésével érhetjük el.

## A tokfélék génmegőrzése

A tokfélék rendjébe 27 ma is élő faj tartozik, melyek legkorábbi ősei mintegy 200-250 millió évvel ezelőtt, még a dinoszauruszok kihalása előtt jelentek meg bolygónkon, vagyis a legősibb úszósugaras halak közé tartoznak (*Beamis és munkatársai, 1997*). Közös morfológiai jellemzőjük a döntően porcos vázrendszer, a meghosszabbodott orr-rész (rostrum), valamint az aszimmetrikus farokúszó. Fajaik többsége vándorló életmódú; a tengerekben válnak ivaréretté, majd ivásra a beömlő folyókba vándorolnak. Ezt követően mind a szülők, mind az utódok visszatérnek a tengerekbe. Néhány fajuk egész életét édesvízben tölti, de ezek is jelentős távolságokat tesznek meg a megfelelő táplálkozási, szaporodási, valamint telelési folyószakaszok felkeresése érdekében.

A tokfélék a XIX. század közepéig-végéig igen jelentős szerepet játszottak az elterjedési területeik országainak gazdasági és társadalmi életében, azonban a XX. század elejétől állományaik drasztikusan csökkenni kezdtek. Mára több fajukat is a kipusztulás veszélye fenyegeti, mások pedig közel állnak ahhoz. Ennek okai részben biológiai-ökológiai sajátosságaikkal, de legfőképpen az antropogén hatások negatív következményeivel (vízszennyezés, folyószabályozás és vízműépítés, túl- és orvhalászat stb.) magyarázhatóak. Százmillió éveig sikeresen vették fel a versenyt a természet adta evolúciós kihívásokkal szemben, de néhány évtizedes emberi beavatkozás alapvetően veszélyezteteti fennmaradásukat.

E fajok különlegessége részben evolúciós ősiségüknek, részben több száz, sőt több ezer kilométeres vándorlásukból eredő „kozmpolita” életmódjuknak, valamint – gazdasági szempontból – az értékes húsnak és az ikrájukból készíthető fekete kaviárnak tulajdonítható, amely világszerte a legdrágább élelmiszerek egyike.

A tokfélék fajai közül a Duna vízrendszerében tradicionálisan megtalálható volt a viza (*Huso huso*) (32. kép), a vágótok (*Acipenser güeldenstaedti*), a sőregtok (*A. stellatus*), a sima tok (*A. nudiiventris*) és a kecsege (*A. ruthenus*). A Veszélyeztetett Fajok Vörös Könyve (*IUCN Red List of Threatened Species, 2014*) a felsoroltak közül a sima tokot a kritikusan veszélyeztetett, a sőregtokot, a vágótokot és a vizát a veszélyeztetett, a kecsegét pedig a sebezhető fajok közé sorolja. A természetes-vízi állományok rendkívül gyors fogyatkozása miatt 1998-tól a CITES (Convention on International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora) néhány tokfélélet az 1. sz. Függelékbe (mint fokozottan veszélyeztetett fajokat), az összes többit pedig a 2. sz. Függelékbe (mint veszélyeztetett fajokat) sorolta.

A Kárpát-medencében őshonos, valaha tömeges mennyiségben előforduló tokfélék közül napjainkban már gyakorlatilag csak a kecsege található meg folyóinkban. A fajt 2015-től egy FM-rendelet nem kifogható fajjá nyilvánította. Fajmegőrzését nemcsak természetvédelmi szempontok indokolják, de



32. kép. A viza (*Huso huso* L. 1758) mára gyakorlatilag eltűnt a Duna hazai szakaszáról, csak génbanki állományai léteznek Magyarországon (Fotó: Lehoczky István)

számos, az akvakultúra szempontjából előnyös tulajdonsága a haltermelés számára is perspektivikussá teszi. Az egyéb tokféléknél lényegesen rövidebb az ivaréresi ideje és a szaporodási ciklusa, szaporítása során nehézségek nélkül kezelhető. Jól „alkalmazkodik” az akvakultúrák tenyésztési körülményekhez, húsanak és kaviárjának minősége kiváló. Ezeknek köszönhetően a harmadik legelterjedtebben tenyésztett tokféle (*Bronzi és munkatársai, 2011*).

A Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ Halászati Kutatóintézete (NAIK HAKI) jogelődjében, a Haltenyésztési Kutatóintézetben (HAKI) az '50-es években kezdődött meg a tokfélék mesterséges szaporítására és ivadéknevelésére, majd később a génbanki állományaik céltudatos kialakítására és fenntartására irányuló tevékenység. Kezdetben a kísérletek csak a kecsege népesítő anyagának előállítására korlátozódtak. Ennek elsődleges célja a megritkult természetes-vízi állományok pótlása volt (*Jaczó, 1953*). Az 1980-as évek elején a nagy értékű, intenzív rendszerekben is gazdaságosan termelhető, exportképes halfajok iránti igény vezetett a vicege, valamint a lénai tok honosítási munkáinak megkezdéséhez. Az azóta eltelt időszakban a tokfélék akvakultúrák termelésének fejlesztése területén a HAKI munkatársai számos diszciplína mentén tevékenykedtek, és jelentős eredményeket értek el. Jelenleg az intézet élő génbankjában négy őshonos és két nem őshonos tokfaj különböző korosztályainak példányai találhatók.

Napjainkban a tokfélék génbanki fenntartásának szerepe egyre inkább eltolódik e veszélyeztetett fajok genetikai erőforrásainak megőrzése felé, miközben nem hagyható figyelmen kívül az akvakultúra számára jelentett nagy gazdasági potenciájuk sem. A tokfélék populációinak rehabilitációjára irányulóan számos nemzetközi és hazai intézkedési terv született (pl. Sturgeon Action Plan, Danube River Basin Management Plan, Viza 2020). Ezen tevékenységekkel kapcsolatosan mindenképpen megemlítenők az alábbiak: 1. Amíg a tokfélék akvakultúrák irányzatú termelési hatékonyságának fokozása érdekében számos tenyésztési program alkalmazható, addig a természetes-vízi állományok megőrzése esetén kizárólagosan a genetikai sokféleség megőrzése, a visszatelepítendő ivadék életképességének növelése tartozik az elfogadható tenyésztési módszerek közé; 2. E nagy térigényű, többségében nagytestű és bonyolult életciklusú fajok megőrzése érdekében nem csak a vízkészlethasználók közötti nemzeti, de nemzetközi kompromisszumokra, együttműködésre is szükség van.

## A sebes pisztráng génmegőrzése

Hazánkban a pisztrángfajok közül a sebes pisztráng (*Salmo trutta m. fario* L. 1758) őshonos (33. kép). Kezdetben ezzel a fajjal indult meg a pisztrángtenyésztés is hazánkban, azonban mára már a termelésből a szívárványos pisztráng kiszorította (*Hoitsy, 2002*). Napjainkra inkább csak természetvédelmi és horgászati jelentősége van. Az emberi tevékenység és a vízminőség romlásának következtében természetes ívó- és élőhelyeinek száma is egyre inkább csökken.

A mitokondriális DNS bázisrendjét elemezve a sebes pisztrángban az egyes vízgyűjtőkre jellemző evolúciós leszármazási vonalakat különítették el: atlanti, dunai, mediterrán, adriai és márvány (*Bernatchez, 2001*). Magyarország vízrajzi tulajdonságai alapján a hazai pisztrángállományok a dunai leszármazási vonalba tartoznának, azonban genetikai vizsgálatokkal bizonyították a vonalak keveredését a természetes vizekben (*Almodóvar és munkatársai, 2006; Hansen és Mensberg, 2009; Jug és munkatársai, 2005; Weiss és munkatársai, 2001*)





33. kép. Sebes pisztráng anyja (*Salmo trutta m. fario* L. 1758) a lillafüredi tenyészetben (Fotó: Horváth Ákos)

és a tenyészállományokban is (*Kohout és munkatársai, 2012; Marić és munkatársai, 2010*). A hibridizáció okai közé mesterséges és természetes folyamatok is sorolhatóak. Az előbbi közé tartozik az állományok mesterséges áttelepítése (*Sušnik és munkatársai, 2004*), míg az utóbbiba sorolandó a vízgyűjtők közti határvonalak ideiglenes megszűnése, például az utolsó jégkorszak után kialakult ideiglenes vízhálózatok a Fekete-erdő vidékén a dunai és atlanti vonalak keveredését okozták (*Lerceteau-Köhler és munkatársai, 2013; Schenekar és munkatársai, 2014*).

Magyarországon viszonylag kevés a pisztráng számára megfelelő természetes élőhely. A túlhalászat/horgászat következtében azonban az állományok ezeken az élőhelyeken is többnyire csak mesterséges utánpótlással tarthatóak fenn. Ez szintén alátámasztja a genetikai erőforrások megőrzésének fontosságát az egyetlen őshonos pisztrángfajunk esetén. Magyarországon jelenleg mindössze két tenyészet működik, Szilvásváradon és Lillafüreden, amelyek a szükséges utánpótlást is biztosítani tudják a természetes vizeken gazdálkodó horgászegyesületek számára.

A magyarországi természetes vizekben és tenyészetekben élő populációk/állományok genetikai vizsgálata is igazolta az atlanti és dunai vonalak közötti keveredést, és feltárta, hogy az országban található állományok között csak kismértékű genetikai elkülönülés állapítható meg. Azonban a vizsgálatok azt is igazolták, hogy bár nem tiszta formában, de az állományokban megtalálható a csak magyar élőhelyekre jellemző dunai vonalhoz tartozó genetikai háttér is. A genetikai vizsgálatok eredményeként a lillafüredi tenyészállományban egy genetikai markerekre alapozott tenyésztési és szelekciós rendszer segíti sikeresen a genetikai sokféleség és a faj megőrzését. A rendszer bevezetése óta a gazdaság tenyészállományában a dunai vonalra jellemző genotípus aránya kedvező irányban változott.

Ha hazánk területén találnánk olyan sebes pisztráng populációt, amely 100%-ban a dunai evolúciós vonalhoz tartozik, akkor a génmegőrzés mellett az adott populáció fokozott védelme is indokolt lenne. Ennek egyik példája a márványpisztráng védelmére Szlovéniában kialakított rendszer, ahol a 7 db fajtisza és erősen veszélyeztetett állomány teljes élőhelyvédelmet élvez. Az élőhelyek védelme mellett a szlovén kollégák úgynevezett menedék-patakokat is kialakítottak, amelyekben az adott állományoktól származó halakat természetes körülmények között nevelik. Amennyiben az egyik élőhely állománya elpusztul, a menedék-patakok állományából a halak újra telepíthetők.

### **A hazai hal génmegőrzés jövőképe: kétpólusú génmegőrzés a compó, a széles kárász, a harcsa és a süllő genetikai erőforrásainak megőrzésére**

Őshonos haszonhalfajaink közül egyedül a ponty számít a klasszikus értelemben véve házi-asított fajnak. A többi haszonhalfaj esetében nem igazán beszélhetünk tenyésztői munkáról, a gazdálkodók inkább csak szaporítják és nevelik ezen fajok állományait, nem léteznek államilag elismert fajták sem. Gazdasági jelentőségük jelenleg eltörpül a ponty mellett, de közép- és hosszú távon kitörési pontot jelenthetnek a magyar akvakultúra ágazat részére, mivel vannak köztük keresett horgászhalak (compó, széles kárász, süllő) és prémium minőségű halhús előállítására alkalmas fajok (süllő, szürke harcsa) is (34. kép).

A haltenyésztésben, mint minden egyéb állattenyésztési ágazatban, a fajták nemesítésével lehet egyre jobb termelési eredményeket elérni. A nemesítés során mind a klasszikus szelekciós eljárások, mind pedig a modern, a molekuláris genetika eszközeit felhasználó módszerek jól alkalmazhatóak, de csak abban az esetben, ha a tenyésztői munka megkezdésekor megfelelő kiinduló állománnyal rendelkezünk, melynek ismerjük főbb fenotípusos jellemzőit és genetikai háttérét. Az említett fajok közül ma Magyarországon senki nem rendelkezik ilyen, a tenyésztői munka megkezdéséhez elengedhetetlen állományokkal.

A fent felsorolt fajok közül néhánynak természetes populációi (széles kárász, compó) – főképp az élőhelyvesztés, az invazív fajok elterjedése és az ívóhelyek hiánya miatt – jelentősen meggyengültek, így ezen fajok esetében az *ex situ* megőrzési munkák megkezdése azért is fontos, hogy a természetes vizekben élő populációik fenntarthatóak és megerősíthetőek legyenek. Az *ex situ* megőrzés fontossága mellett azonban nem lehet eléggé hangsúlyozni az *in situ* megőrzés jelentőségét. Ezen fajok megőrzése érdekében elengedhetetlen az élő- és ívóhelyek védelme, fejlesztése, az invazív fajok ritkítása.

Az itt említett halfajok génmegőrzésének tehát két fő oka van. Egyrészt, hogy megteremtjük azokat a kiinduló állományokat, melyekre a tenyésztői munka alapulhat, másrészt, hogy meg tudjuk őrizni ezen fajok vadon élő populációinak genetikai sokféleségét és integritását.



34. kép. A süllőállományok (*Sander lucioperca* L. 1758) telepítése jelentős hatást gyakorolhat a természetes populációkra is, ezért azok mielőbbi felmérése és védelme igen fontos feladat (Fotó: Sallai Zoltán)



Annak érdekében, hogy pontosan megismerjük, milyen (genetikai) erőforrásokkal rendelkezünk, először meg kell vizsgálni a megőrizni vagy nemesíteni kívánt fajok hazai (európai) populációit. Mintákat kell gyűjteni lehetőleg minél több helyszínről, és morfológiai, valamint genetikai vizsgálatnak kell alávetni azokat. A genetikai változatosság leírásához lehetőleg minimum tíz-tizenkettő poly-allélikus (mikroszatellit) vagy húsz-harminc di-allélikus (SNP) genomi marker vizsgálata javasolt, legkevesebb 30–40 egyedre kiterjedően minden populációból, de amennyiben a lehetőségek engedik, több marker és egyed vizsgálata is indokolt lehet.

A genetikai és morfológiai vizsgálatok eredményei alapján ki lehet választani a nemesítéshez és megőrzéshez leginkább alkalmas módszert. Amennyiben egy adott fajon belül léteznek olyan populációk, amelyek mind genetikailag, mind esetleg morfológiailag jól elkülönülnek egymástól, érdemes ezeket bevonni a megőrzésbe, mert megalapozhatják új fajták/vonalak nemesítését. Később a biztonságosan fenntartott fajtákat vagy vonalakat keresztezni is lehet, ha a tenyészcél ilyen irányba mozdul el. Ha az adott fajon belül nem találunk erősen elkülönült populációkat, akkor a cél a lehető legnagyobb genetikai változatosságú állomány létrehozása és fenntartása, amely alapjául szolgálhat mind a megőrzésnek, mind pedig a szelekciós munkának.

A génmegőrzés eszközeként mind *ex situ*, *in vivo*, mind pedig *in vitro* génbankok létrehozása szükséges. Az élő génbanki állományok minimális mérete 50 egyed (25 tejes és 25 ikrás) populációként, ami 25–30 generációintervallumra garantálja a genetikai változatosság fennmaradását a megfelelő szaporítási technológia mellett (FAO/UNEP, 1981). Ilyen állomány méret mellett a genetikai változatosság mintegy egynegyedevész el 30 generáció alatt. A génbanki állományok minden egyedét egyedileg kell jelölni (PIT-tag segítségével) annak érdekében, hogy a tenyésztési és génmegőrzési munka során azonosíthatóak legyenek. A génbanki állományok kialakítása és fenntartása biztonságos háttérrel igényel. Ehhez egy kétpólusú rendszer kialakítása szükséges, ahol mind a génbanki halállományok, mind pedig a mélyfagyasztott cryobank mintái több (minimum 2) helyen kerülnek megőrzésre.

A jelenleg meglévő ponty génbank mellett megkezdődött több faj, így a compó, a süllő, a harcsa és a széles kárász hazai génbanki állományainak kialakítása is. Az alábbiakban áttekintjük e fajokról eddig szerzett ismereteket.

Bár a *compó* növekedési erélye jóval kisebb a pontyénál, de kedvezőtlen vízminőségű (oxigénhiányos) vizekben jó alternatívája lehet annak. Mivel a horgászok kedvelik, tenyésztése kiegészítő jövedelemhez juttathatja a haltermelőket. Csehországban hét különböző compóváltozatot tartanak fenn génbanki körülmények között, tenyésztési céllal (Flajshans és munkatársai, 1999). A fajból Kohlmann és Kersten (2006) izoláltak először mikroszatellit DNS-markereket. Eredményeik szerint Európa compóállományai genetikailag nagyon változatosak (Kohlmann és munkatársai, 2010). Lajbner és munkatársai (2011a) 67 compópulációt/állományt elemeztek a faj teljes elterjedési területén, mind a genomikus, mind a mitokondriális DNS változatosságát vizsgálva. A compófajon belül erősen elkülönülő nyugati és keleti filogenetikai csoportot találtak. Lajbner és munkatársai (2011b) kidolgoztak egy eljárást, melynek segítségével a két filogenetikai csoport jól elkülöníthető egymástól. Magyarország abban a földrajzi zónában fekszik, ahol a 2 csoport elterjedési területe átfedi egymást, így várható, hogy a hazai compóállomány nagy genetikai változatosságot mutat.

A folyószabályozások előtt leggyakoribb halaink egyike volt a széles kárász. Ma már ritka és veszélyeztetett halunk, védelme indokolt lenne (Harka és Sallai, 2004). Ez a faj is lassabb

növekedésű és kisebb méretű, mint a ponty, ezzel együtt ízletes húsa és élvezetes horgászata miatt tenyésztésbe vétele megfontolandó. A faj állományai nem csak hazánkban csökkennek. Sayer és munkatársai (2011) a faj 76%-os visszaesését írták le a kelet-angliai Norfolkban. A faj genetikai integritására az invazív ezüst kárász jelentheti a legnagyobb veszélyt, mely azzal, hogy összeívik vele, erodálja és felhígítja az eredeti génállományt. Csehországban Papousek és munkatársai (2008), a Duna-deltában Kux (1982), Ukrajna vizeiben pedig Mezherin és Liseckij (2004) írtak le hibrideket, míg Goryunova és Skakun (2002) hasonló hibrideket talált kazah tavakban. A széles (vagy másik ismert nevén arany) kárász esetében sürgős feladat az állományok (molekuláris genetikai) felmérése és annak vizsgálata, hogy hibridizálódtak-e már az ezüst kárásszal. Amennyiben sikerül olyan állományokat találni, amelyek még nem hibridizálódtak, ezen állományok egyedeit kell a génbankban elhelyezni. A fajazonos állományok a megőrzési munkákon kívül jó alapul szolgálnak majd a tenyésztés beindításához is.

A *harcsát* a jelenleg elterjedt extenzív és félintenzív tógazdasági haltermelés során mellékalként tartják a békés halak mellett, mivel elfogyasztja a gazdasági haszonhalak konkurenseként jelenlévő, úgynevezett gyomhalakat. Intenzív termelése recirkulációs rendszerekben vagy modern, kombinált haltermelő rendszerekben (pl. tó a tóban rendszer) segítheti a hazai termelőket a termékdiverzifikációban és új exportpiacok meghódításában. A faj génbanki elhelyezésének célja, hogy a fenntartott állományok alapul szolgáljanak a szelekciós munkához, melynek során nagyobb növekedési erélyű, a technológiához jobban alkalmazkodó fajta/fajták hozhatóak létre. Csehországban a fajnak 2 génbanki állománya létezik, az egyik a Duna, a másik az Elba vízrendszeréből származik (Flajshans és munkatársai, 1999). A faj genetikai változatosságát Triantafyllidis és munkatársai (1998) egyéb édesvízi halakénál alacsonyabbnak találták a 27 lókuszon végzett allozym polimorfizmus vizsgálatok alapján. A genomikus DNS-t (mikroszatellit DNS-markerek) vizsgáló kutatások (Triantafyllidis és munkatársai, 2002) eredményei a korábbiaknál magasabb genetikai változatosságot írnak le a faj esetében. A nagy folyók vízrendszerében élő populációk (Duna, Volga) sokkal magasabb változatosságot mutatnak, mint a kisebb vízrendszerekben élő csoportok. Az európai populációk a tanulmány szerint jól elkülöníthetőek egymástól.

A *süllő* (*Sander lucioperca*) egész Európában kedvelt halfaj. Mind a sporthorgászok, mind a fogyasztók körében egyre inkább keresett. Zsákmányoló életmódjából adódóan más fajok populációinak szabályzásában is szerepet játszik (Gharibkhani és munkatársai, 2009), így jelentős ökológiai értéket képvisel. Ugyanakkor a fogásingadozások miatt (Hedrick és Miller, 1992) nem tudják a fogyasztói igényeket kielégíteni (Horváth és munkatársai, 2013). Ezért jelenleg is több kutatás folyik Európa-szerte a süllőtenyésztési technológia hatékonyságának növelése érdekében (Bódis és Bercsényi, 2009). Mesterséges szaporítása, keltetése, ivadék-előnevelése és intenzív rendszerű tápos nevelése területén jelentős előrehaladás tapasztalható (Lappalainen és munkatársai, 2003; Molnár és munkatársai, 2004; Blecha és munkatársai, 2016). Természeti értékének megőrzéséhez és szaporításának technológiai fejlesztéséhez a molekuláris genetika is segítséget nyújthat (Vandeputte és munkatársai, 2011). A faj vizsgálatához eddig mindössze 9 mikroszatellit markert (Kohlmann és Kersten, 2008) izoláltak, emellett több közeli rokon fajra (walleye/amerikai süllő – *Sander vitreus*, yellow perch/sárga sügér – *Perca flavescens*, sügér – *Perca fluviatilis*) is írtak le ilyen típusú markereket (Caroffino és munkatársai, 2011; Lecrec és munkatársai, 2000; Li és munkatársai, 2007; Wirth és munkatársai, 1999; Yang

és munkatársai, 2009). Ezek közül néhány – az adaptációs vizsgálatok eredményei szerint – használhatónak bizonyult a süllő esetében is. A jelenleg folyamatban lévő genetikai vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a süllő természetes populációi még viszonylag nagy, a földrajzi távolságokkal korreláló genetikai diverzitással rendelkeznek. Ugyanakkor az egyre növekvő számú tenyésztett populációban már jelentős keveredés és genetikai degradáció figyelhető meg. A tenyésztett állományok telepítése jelentékeny hatást gyakorolhat a természetes állományokra is, melyek mielőbbi felmérése és védelme is igen fontos feladat.

## Irodalomjegyzék

- Almodóvar, A., Nicola, G.G., Elvira, B. García-Marín, J. L. (2006): Introgression variability among Iberian brown trout evolutionary significant units: the influence of local management and environmental features. *Freshwater Biology* 51: 1175–1187.
- Bakos J. (1968): A ponty tenyésztését meghatározó tulajdonságok és jelentőségük a szelekciós munkában. *Halászat* 14(3): 84-85.
- Bakos J. (1975): Halgenetikai kutatások fejlődése és eredményei Magyarországon 1975-ig. HAKI, Szarvas. Halhústermelés fejlesztése 4: 61. p
- Bakosó J., Gorda S. (1995): Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridisation. *Aquaculture* 129: 183-186.
- Bakos J., Gorda S., Váradi L., Balogh J. (1997): Tenyésztő szervezetek szerepe a magyar pontyfajták fenntartásában és nemesítésében. XXI. Halászati Tudományos Tanácskozás, május 25-26., Szarvas. Összefoglalók: 9-13. p.
- Bakos, J., Gorda, S., (2001): Genetic resources of common carp at the Fish Culture Research Institute, Szarvas, Hungary. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 417. FAO, Rome. 106 p.
- Balon, E. K. (2006): The oldest domesticated fishes, and the consequences of an epigenetic dichotomy in fish culture. *Aqua – International Journal of Ichthyology* 11: 47-86
- Bártfai, R., Egedi, S., Yue, G.H., Kovács, B., Urbányi, B., Tamás, G., Horváth, L., Orbán L. (2003): Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. *Aquaculture* 219: 157-167.
- Bartley, D. M. és Pullin, R.S.V. (1999): Aquatic genetic resources policy in R.S.V. Pullin, D.M. Bartley és J. Kooiman (szerk), *Towards Policies for Conservation and Sustainable Use of Aquatic Genetic Resources*. Manila, *ICLARM Conference Proceedings* 59: 1-16.
- Bartley, D. M. (2005): Status of the world's fishery genetic resources. *The Role of Biotechnology, FAO Conference, Full Paper Book*, 5-7th March Villa Gualino, Turin, Italy
- Beamis, W.E., Findies E.K. és Grande, L. (1997): An overview of Acipenseriformes. *Environmental Biology of Fishes* 48: 28-71.
- Bercsényi M. (1997): A tulajdonságok öröklődése. In: Halgazdálkodás II. gyakorlati kérdések. MOHOSZ, Budapest, 53-69. pp.
- Bernatchez, L. (2001): The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution* 55: 351-379.
- Blecha, M., Flajshans, M., Lebeda, I., Kristan, J., Svacina, P. és T. Policar (2016): Triploidisation of pikeperch (*Sander lucioperca*), first success. *Aquaculture* 462: 115-117.
- Bódis, M. és M. Bercsényi (2009): The effect of different daily feed rations on the growth, condition, survival and feed conversion of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) reared with dry feed in net cages. *Aquaculture International* 17: 1-6.
- Bogeruk, A. K. (szerk.) (2008): Catalogue of carp breeds (*Cyprinus carpio* L.) of the countries of Central and Eastern Europe (in English and Russian). Ministry of Agriculture of Russian Federation, Federal Centre of Fish Genetics and Selection, Moscow, 1-262.pp.

- Bronzi, P., Rosenthal, H. és Gessner, J. (2011): Global sturgeon aquaculture production: an overview. *Journal of Applied Ichthyology* 27: 169-175.
- Caroffino, D.C., Mwai, A.M. és B.I. Evans (2011): Population genetics of walleye and yellow perch in the St. Marys River. *Great Lakes Research* 37: 28-34.
- CBD (1992): Convention on Biological Diversity. *Secretariat of the Convention on Biological Diversity*, Montreal, Canada. Elérhetőség: <http://www.biodiv.org>.
- FAO/UNEP (1981): Conservation of the genetic resources of fish: problems and recommendations. Report of the expert consultation on the genetic resources of fish. Rome, 9–13. June 1980. *FAO Fisheries Technical Papers*. 217. p.
- FAO (2004-2017): Cultured Aquatic Species Information Programme. *Cyprinus carpio*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Peteri, A. In: *FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. Rome. Updated 1 January 2004. [Cited 4 July 2017]. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cyprinus\\_carpio/en#tcNA00D6](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cyprinus_carpio/en#tcNA00D6)
- Flajshans, M., Linhart, O., Slechtová, V., Slechta, V. and Filisten, J. (1998): Conservation programme of fish gene resources in the Czech Republic. The XVIIIth Genetic Days. September 8-10. 1998. Ceske Budejovice. 1-7. pp.
- Flajshans, M., Linhart, O., Slechtova, V. és V. Slechta (1999): Genetic resources of commercially important fish species in the Czech Republic: present state and future strategy. *Aquaculture* 173: 471-483.
- Gábor J., Udvari Zs., Lengyel P., Kiss G., Bojtárné Lukácsik M. (2016): Magyarország tógazdasági és intenzív üzemi haltermelése 2015-ben. [www.halaszat.kormany.hu](http://www.halaszat.kormany.hu)
- Gorda, S., Bakos, J., Liska, J. és Kakuk, Cs. (1995): Live gene bank of common carp strains at the Fish Culture Research Institute, Szarvas. *Aquaculture* 129: 199-202.
- Goryunova, A. I. és D. Skakun (2002): Biological characterization on crucian carps. *Tethys Aqua Zoological Research* 1: 33–48.
- Gross, R., Kohlmann, K. és Kersten, P. (2002): PCR-RFLP analysis of the mitochondrial ND-3/4 and ND-5/6 gene polymorphisms in the European and East Asian subspecies of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 204: 507-516.
- Hansen, M. M. és K. L. D. Mensberg. (2009): Admixture analysis of stocked brown trout populations using mapped microsatellite DNA markers: indigenous trout persist in introgressed populations. *Biology Letters* 5: 656–659.
- Harka Á. és Sallai Z. (2004): Magyarország halfaunája. Nimfea Természetvédelmi Egyesület, Szarvas. 144-145. pp.
- Hedrick, P. W. és Miller, P. S. (1992): Conservation Genetics: Techniques and Fundamentals. *Ecological Applications* 2: 30-46.
- Helfman, G. S. (szerk.) (2007): Fish Conservation: A Guide to Understanding and Restoring Global Aquatic Biodiversity and Fishery Resources. *Island Press*. 1-584. pp.
- Hiemstra, S. J., van der Lende, T. és Woelders, H. (2005): The potential of cryopreservation and reproductive technologies for animal genetic resources conservation strategies. *The Role of Biotechnology FAO Conference, Full Paper Book*, Villa Gualino, Turin, Italy – 5-7 March, 2005.
- Hoitsy Gy. (2002): A pisztráng tenyésztése és horgászata. *Magánkiadás* 1-152. pp.
- Horváth L., Urbányi B. és Horváth Á. (2013): A süllő (*Sander lucioperca*) biológiája és tenyésztése (Szent István Egyetemi Kiadó: Gödöllő) 33-45.
- Imnarow, I. (1995): Genetic variability of Polish and Hungarian carp lines. *Aquaculture* 129: 215-219.
- Jaczó I. (1953): Kísérletek a kecsge mesterséges szaporítására. *Hidrológiai Közlemények* 33: 149-152.
- Jeney, Zs., Váradi, L., Lehoczky, I., Bakos, J., Nagy Z.T. és Bercsényi M. (2011): A haltenyésztés genetikai alapjainak megőrzése. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 60(3): 233-245.
- Jug, T., Berrebi, P. és Snoj, A. (2005): Distribution of non-native trout in Slovenia and their introgression with native trout populations as observed through microsatellite DNA analysis. *Biological Conservation* 123: 381–388.
- Kirpitchenkov, V. S. (1999): Genetics and breeding of Common carp. INRA, Paris. 1-97. pp.

- Kohlmann, K., Gross, R., Murakaeva, A. és Kersten, P. (2003): Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living Resources* 16: 421-431.
- Kohlmann, K. és Kersten, P. (2006): Microsatellite loci in tench: isolation and variability in a test population. *Aquaculture International* 14: 3-7.
- Kohlmann, K. és Kersten, P. (2008): Isolation and characterization of nine microsatellite loci from the pikeperch, *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology Resources* 8: 1085-1087.
- Kohlmann, K., Kersten, P., Panicz, R., Memis, D. és Flajshans, M. (2010): Genetic variability and differentiation of wild and cultured tench populations inferred from microsatellite loci. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20: 279-288.
- Kohout, J., Jaškova, I., Papoušek, I., Šedivá, A. és Šlechta, V. (2012): Effects of stocking on the genetic structure of brown trout, *Salmo trutta*, in Central Europe inferred from mitochondrial and nuclear DNA markers. *Fisheries Management and Ecology* 19: 252-263.
- Kottelat, M. and Freyhof, J. (2007): *Handbook of European Freshwater Fishes*. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany. 344-345 pp.
- Kux, Z. (1982): Príspevek k problematice krízencu rodu *Carassius*. (in Czech). *Acta Musei Moraviae* 67: 181-188.
- Lajbner, Z., Linhart, O. és P. Kotlík (2011a): Human-aided dispersal has altered but not erased the phylogeography of the tench. *Evolutionary Applications* 4(4): 545-561.
- Lajbner, Z., Linhart, O. és P. Kotlík (2011b): PCR-RFLP assays to distinguish the Western and Eastern phylogroups in wild and cultured tench *Tinca tinca*. *Molecular Ecology Resources* 11: 374-377.
- Lappalainen, J., Dörner, H. és K. Wysujack (2003): Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Ecology of Freshwater Fish* 12:95-106.
- Leecre, D., Wirth, T. és Bernatchez, L. (2000): Isolation and characterization of microsatellite loci in the yellow perch (*Perca flavescens*), and cross-species amplification within the family *Percidae*. *Molecular Ecology* 9: 993-1011.
- Lerceteau-Köhler, E., Schliwien, U., Kopun, T. és Weiss, S. (2013): Genetic variation in brown trout *Salmo trutta* across the Danube, Rhine, and Elbe headwaters: a failure of the phylogeographic paradigm? *BMC Evolutionary Biology* 13: 176
- Lehoczky, I., Jeney, Z., Magyary, I., Hancz, Cs., Kohlmann, K. (2005): Preliminary data on genetic variability and purity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains kept at the live gene bank at Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation (HAKI) Szarvas, Hungary. *Aquaculture* 247: 45-49.
- Lehoczky, I., Ivelic, D., Jablan, I., Treer, T., Bakos, J. és Jeney, Z. (2009): Néhány Horvátországi pontyfajta genetikai jellemzése és visszatelepítése eredeti tógazdaságaikba. XXXIII. Halászati Tudományos Tanácskozás. Szarvas, május 27-28. Összefoglalók 85. p.
- Lehoczky I., Nagy Z. T., Bakos J. és Jeney Zs. (2010): Jelentősebb hazai vadponti fajtáink genetikai változatosságának fenntartása a HAKI *ex-situ* génbankjának, valamint a faj természetes vizeinkben élő populációinak segítségével. *Halászat* 103(3):104-109.
- Li, L., Wang, H. P., Givens, C., Czesny, S. és B. Brown (2007): Isolation and characterization of microsatellites in yellow perch (*Perca flavescens*). *Molecular Ecology Notes* 7: 600-603.
- Marić, S., Simonović, P. és Razpet, A. (2010): Genetic characterization of broodstock brown trout from Bled fish-farm, Slovenia. *Periodicum Biologorum* 112: 145-148.
- Mezherin, S. V. és Liseckij, I. L. (2004): Estestvennaja gibrizacija serebrjanogo karasja (*Carassius auratus*) i zolotogo (*Carassius carassius*) karasej: evoljucionnyj fenomen ili poglos cenie odnogo vida drugim? (orosz nyelvű). *Reports of the NASU* 9: 162-166.
- Molnár, T., Hancz, Cs., Molnár, M. és Horn, P. (2004): The effects of diet and stocking density on the growth and behaviour of pond pre-reared pikeperch under intensive conditions. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 105-109.
- Nelson, J. S. (2008): *Fishes of the World* (4th ed.). John Wiley & Sons. ISBN: 978-0-471-75644-6. 624 p.
- Papoušek, I., Vetesnik, L., Halacka, K., Luskova, V., Humpl, M. és Mendel, J. (2008): Identification of natural hybrids of gibel carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) and crucian carp *Carassius carassius* (L.) from lower Dyje River floodplain (Czech Republic). *Journal of Fish Biology* 72: 1230-1235.
- Pintér K. (1989): Magyarország halai. Akadémiai Kiadó, Budapest. 109-116. pp.
- Sayer, C. D., Copp, G. H., Emson, D., Godard, M. J., Zieba, G. és Wesley, K. J. (2011): Towards the conservation of crucian carp *Carassius carassius*: understanding the extent and causes of decline within part of its native English range. *Journal of Fish Biology* 79(6): 1608-1624.
- Simianer, H. (2005): Use of molecular markers and other information for sampling germplasm to create an animal genebank. *The Role of Biotechnology, FAO Conference, Full Paper Book, 5-7 March, Villa Gualino, Turin, Italy*
- Schenecker, T., Lerceteau-Köhler, E. és Weiss, S. (2014): Fine-scale phylogeographic contact zone in Austrian brown trout *Salmo trutta* reveals multiple waves of post-glacial colonization and a pre-dominance of natural versus anthropogenic admixture. *Conservation Genetics* 15(3): 561-572.
- Serman, I. M., Grinzsevszkij, M. B. és Gricunjak, I. I. (1999): Rozvegyenija i szelekcijszija rib. BMT, Kiev. 78. p.
- Sušnik, S., Berrebi, P., Dovč, P., Hansen, M. M. és Snoj, A. (2004): Genetic introgression between wild and stocked salmonids and the prospects for using molecular markers in population rehabilitation: the case of the Adriatic grayling (*Thymallus thymallus* L. 1785). *Heredity* (Edinb) 93: 273-282.
- The IUCN Red List of Threatened Species (2014): Version 2014.2., www.iucnredlist.org.
- Triantafyllidis, A., Ozouf-Costaz, C., Rab, P., Suciú, R. és Karakousis, Y. (1998): Allozyme variation in European silurid catfishes, *Silurus glanis* and *Silurus aristotelis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 27: 487-498.
- Triantafyllidis, A., Krieg, A., Cottin, C., Abatzopoulos, T. J., Triantafyllidis, C. és Guyomard, R. (2002): Genetic structure and phylogeography of European catfish (*Silurus glanis*) populations. *Molecular Ecology* 11: 1039-1055.
- U. S. Census Bureau (2009): International Database, December 2009. *update information*
- Vandeputte, M., Rossignol, M. és Pincent, C. (2011): From theory to practice: Empirical evaluation of the assignment power of marker sets for pedigree analysis in fish breeding. *Aquaculture* 314: 80-86.
- Weiss S., Schlötterer, C., Waidbacher, H. és Jungwirth, M. (2001): Haplotype (mtDNA) diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish – by man or nature? *Molecular Ecology* 10: 1241-1246.
- Wirth, T., Saint-Laurent, R. és Bernatchez, L. (1999): Isolation and characterization of microsatellite loci in the walleye (*Stizostedion vitreum*), and cross-species amplification within the family *Percidae*. *Molecular Ecology* 8: 1957-1969.
- Woynarovich E. (1954): Halak mesterséges szaporítása kapcsán végzett biológiai megfigyelések. *MTA Biológiai és Orvostudományi Osztály Közleményei* 5: 103-118.
- Woynarovich, E. (1962): Hatching of carp eggs in zuger-glasses and breeding carp larvae until an age of 10 days. *Bamidgh* 14: 38-46.
- Yang, X., Wang, C., Wang, J., Ma, Y., Yin, J., Wu, H. (2009): Isolation and characterization of 12 polymorphic microsatellite loci in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.). *Conservation Genetics Resources* 1: 229-231.



## A pannon méh (*Apis mellifera carnica pannonica*) hazai génmegőrzése

ZAJÁ CZ EDIT – DONKÓ KATA SÁRA – HARKA LÍVIA – HIDAS ANDRÁS –  
HORVÁTH JÁNOS – SZALAINÉ MÁTRAY ENIKŐ – SZALAI TAMÁS



A mézelő méhek jelentősége különleges és egyedi az élelmiszer-termelésben. Ennek ellenére a FAO által kidolgozott globális akcióterv, mely a gazdasági állatfajok genetikai erőforrásainak megőrzését célozza, nem tartalmazza a mézelő méhek genetikai sokféleségének megőrzését (*Hopkins és munkatársai, 2012*). Hasonlóan több állatfajhoz, a mézelőméh-populációk biológiai sokfélesége is hatalmas veszélynek van kitéve. Ennek oka a fajok eredeti élőhelyén megjelenő idegen genetikai anyag, ami a méhanyak és méhcsaládok nemzetközi kereskedelmének következménye (*Wegener és Bienefeld, 2012*).

A hazánkban honos *pannon méhfajta* (*Apis mellifera carnica pannonica*) fenntartása és génmegőrzése nemzeti érdek, mivel kiváló termelési és viselkedési tulajdonságokkal rendelkezik. Magyarországon a több mint fél évszázados tenyésztői munka eredménye, hogy az itt kialakult krajnai fajtaváltozat kiválóan alkalmas a hazai méhlegelő növények kihasználására. A Hasonállat-génmegőrzési Központ Méhészeti és Méhbiológiai Intézetének és a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének (MMOE) célja a pannon méh hazai igényeknek megfelelő fajtafenntartó tenyésztése, a kiváló genetikai anyag hosszú távú fenntartása.

### A pannon méh génmegőrzésének jelentősége

A krajnai méhet (*Apis mellifera carnica*) Magyarországon 1985-ben törzkönyvezték, majd az 1993-as Állattenyésztési Törvény szerint 2001-ben kapott állami elismerést. A kereskedelmi forgalomba kerülő méhanyákat előállító telepeken az 1994-es tenyésztői rendelet szerint szabályozottan folyik a méhek fajtabélyeg- és teljesítményvizsgálata (*Horváth és munkatársai, 2013b*).

A 2012-ig krajnaiként (*Apis mellifera carnica* Pollmann) elismert méhfajta neve a NÉBIH 2012. augusztus 21-én kelt határozata alapján *pannon méh* lett. A Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (MMOE) tenyésztő szervezetként (az 1993. évi Állattenyésztési törvény szerint) kezdte meg működését. A ma egyre bővülő, jelenleg 75 aktív teleppel működő egyesület a fajta nevének pontosításával új mérföldkőhöz érkezett. Az MMOE tagjai évente országos szinten mintegy 350 minősített tenyészanyával biztosítják a hazai pannon méh törzsállományát. A jelenlegi méhanya-kibocsátás évente kb. 111 ezer pázott-, páratlan méhanya, anyabölcső, mely az egymilliót meghaladó hazai méhcsaládszám tekintetében hároméves méhanyaváltással közel egyharmada a szükségesnek.

Hazánkban jelenleg 20–25 ezren foglalkoznak méhészetrel, a méhcsaládok száma területegységre vetítve a 13 család/km<sup>2</sup>-rel egyike Európában a legmagasabbaknak. Az utóbbi években megnövekedett méhcsaládszám nagyobb volumenű tenyészanyag-felhasználást vont maga után. A méhészek többnyire hazai méhtenyésztőktől vásárolják a méhanyákat, de az is előfordul, hogy egyes esetekben importból szerzik be azokat. Ez utóbbi oka, hogy a tenyésztők olykor nem tudnak kellő mennyiségű méhanyát időre előállítani. Ha a szomszédos országokból történik a méhanya beszerzése, ahol a hazaiával egyező változatot is tenyésztik, az nem veszélyezteti a pannon méh fenntartását. Nem mondható ez el a más tartási viszonyok közül származó, idegen genetikai anyagot hordozó méhanyákról. Gondolunk itt az olasz fajtára, illetve a napjainkban is problémát jelentő *Buckfast* hibridre. Mivel az olasz méh genetikailag közel áll a honos pannon méhünkhöz, behozott örökítő anyagának feloldódása is könnyebb lehet. Ezzel ellentétben

a Buckfast hibrid különböző tájegységekről és klimatikus helyekről származik, előállításánál afrikai és közel-keleti fajtákat is felhasználtak (Pritsch, 2005), ezért sok idegen és ismeretlen tulajdonságot hordoz a pannon méhhez képest. Erre utalnak a potrohon megjelenő, narancsos jellegű színkombinációk is. Látható különbség mutatkozik a méhek habitusában, potrohformájában is, a tulajdonságok kombinálódása ismeretlen, nem tudhatjuk, hogy egyes rossz tulajdonságok végleg rögzülnek-e a hazai állományban (Horváth és munkatársai, 2013b).

A Kárpát-medencében honos krajnai méhfajta jellemzője, hogy a hazai viszonyokhoz alkalmazkodott, szelíd, a lépről nem fut le, kezelés után hamar megnyugszik, rabló hajlama kicsi, tavaszi fejlődése gyors, így a korai méhlegelőket is kitűnően hasznosítja. A méhcsalád májusban eléri fejlettsége csúcspontját, így a hazai akácvirágzást kitűnően ki tudja használni. Gyűjtőhajlama kiváló, a mézet a fiasítás köré tömöríti, mézét fehéren fedi. Betegségekre kevésbé fogékony, áttelelő képessége kiváló, kis- és közepes népességgel, viszonylag kevés mézfogyasztással telel (Zsidi, 1987). Más fajtaival összehasonlítva kevésbé hajlamos az eltárolásra (Ruttner, 1988). Hátrányként a kirobbanó tavaszi fejlődést követő, beavatkozások hiányában fellépő élénk rajzó hajlama róható fel. A méz fészekbe zsúfolása a betelelésnél kedvező, azonban a gyűjtés időszakában nagy hátrányt jelenthet (Horváth és munkatársai, 2013a).

Hazánkban elsőként Örsi Pál Zoltán végzett fajtavizsgálatot 1934-ben, és ő írta le tudományosan a krajnai fajta hazai változatát, mint „alföldi méhet”. A kárpát-medencei változatról, mint „magyar méhről” korábban már Ambrózy Béla is részletesen írt *A méh* című könyvében, ahol korabeli neves méhészek megfigyeléseire és írásaira is hivatkozik.

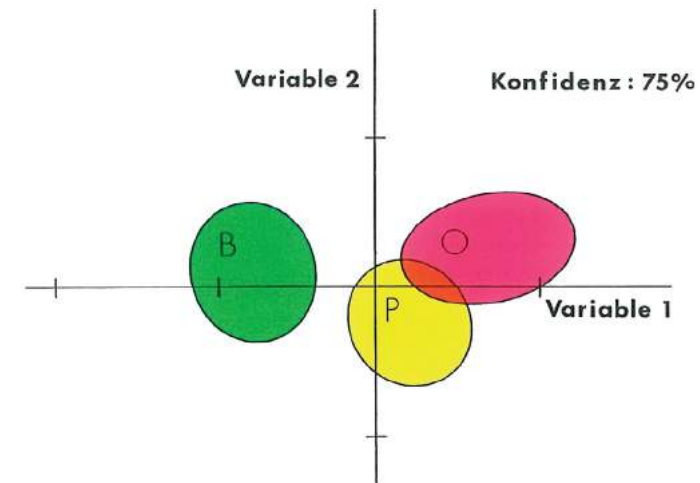
Jelenleg a krajnai és az olasz méh a két leggyakrabban használt és legnépszerűbb méhfajta a Földön. A Kárpát-medencében – így hazánkban is – honos pannon méhet a krajnai méh változataiként tarjuk számon.

Bakk (1955) Európában a mézelő méhek három alfaját (fajtáját) különböztette meg, az északi (*Apis mellifera mellifera*), a krajnai (*Apis mellifera carnica*) és az olasz (*Apis mellifera ligustica*) méhet, melyek elterjedési területét a természeti határok jól elkülönítették egymástól. Az alfajok morfológiai bélyegeiket és tulajdonságaikat tekintve különbözőek.

A gödöllői Kisállattenyésztési Kutatóintézet Méhtenyésztési Osztálya már 1959-ben kutatási feladatának tartotta, hogy méhcsaládjait szelektálja kitűnő tulajdonságaik alapján. 1973-tól folyamatosan figyelemmel kísérték a családok teljesítményét, majd az 1980-as években a gyorsan fejlődő, nagy hozamokat elérő méhcsaládok tenyésztése és elterjesztése volt a cél a termelő méhészetekben (Akác, 1980; Suhayda, 1980; Molnár, 1981). Később Szalainé és munkatársai (1992; 2002) térképezték fel az országot, illetve elemezték a korábbi évek munkáját.

Az 1976-ban kezdődő rendszeres fajtavizsgálatot a szipóka hossza, a viasztükör felszínének mérete, a III. és IV. tergit szélessége, a potrohgyűrűk színe és csíkozottsága, valamint az elülső és a hátsó szárnyerezet vizsgálata alapján végezték (Gubicza, 1981). Ezt később folyamatosan egészítette ki a termelést meghatározó tulajdonságokat tömörítő *Méh teljesítményvizsgáló kódex* (Kovács és munkatársai, 1995; 1996; Zsilinszky és munkatársai, 2003).

Európai országokban folytatott vizsgálatok eredményei szerint (Ausztria, Lengyelország) a hazánkban honos krajnai fajta összességében különbözik a többi tájegység krajnai fajtájától (42. ábra). Ruttner (1988) szerint a krajnai méhfajtanak számos, egy-egy adott tájegységhez adaptálódott változata ismert. A Duna menti országokban élő krajnai fajta faktoranalízissel történő morfometriai elemzése során arra az eredményre jutottak, hogy mintegy tíz krajnai változat kü-



42. ábra. A krajnai fajta tájegységi változatai az ausztriai alpesi (jele: O), a pannon méh (P) és a bolgár méh (B) eltérő változattal

löníthető el, Ausztriától egészen Bulgáriáig. A 34 tulajdonságra kiterjedt diszkriminancia analízis alapján azonban a krajnai változatok két tájegységhez csoportosíthatóak 75%-os biztonsággal.

A statisztikai értékelések alapján a krajnai fajta egyik tájegységi változata az ausztriai alpesi (jele: O) (elterjedése: Ausztria, Szlovénia és Szlovákia), a másik a hazai krajnai változat a pannon méh (P) (elterjedése: Magyarország, Horvátország, Szerbia, Ukrajna jelentős területe) (43. ábra). A harmadik, a bulgáriai méh (B) egy lényegesen eltérő változat, mely új csoportot alkot.

Magyarországon, a több mint fél évszázados vizsgálatok és tenyésztői munka eredménye alapján elmondható, hogy az itt kialakult pannon méh kiválóan alkalmas az Európában egyedülálló 400 ezer ha területet meghaladó hazai akác méhlegelő (és egyéb specifikumok, mint a selyemkóró, illetve egyes szántóföldi növények) gazdaságos kihasználására.

A Nemzetközi Méhészeti Kongresszus, az APIMONDIA vezetőségi tagja, Etienne Bruneau megállapítása 2011-ben, a Magyar Méhészek VII. Világtalálkozóján teljesen helyt álló, mely szerint a fajtakérdést az országok „fajsúlya” szerint kell mérlegelni. Így Magyarországra teljesen felesleges és káros az idegen fajták behozatala, hiszen nálunk jól szervezett, meghatározó méhészkedés jellemző, és a honos méhünk kiváló termelési tulajdonságokkal rendelkezik (Bross, 2011).



43. ábra. A pannon méh elterjedése a Kárpát-medencében

## A mézelő méhek genetikája

A méhcsalád szociális élete olyan mértékben fejlett, hogy az egyedek a családtól függetlenül nem képesek szaporodásra, sőt még normális élettevékenységre sem. Ez az oka többek között annak, hogy a természetes szelekció elsődleges egységévé is a család vált. Egy természetes méhcsalád egy méhanyából, 10–80 ezer dolgozó méhből és néhány ezer heréből áll a méhcsalád aktív, termelő időszakában (Vékey, 1984a). A bonyolult mechanizmusokkal, oda-vissza csatolásokkal működő társas viselkedés és az esetenként nagymértékben eltérő genotípusbeli különbségeket mutató féltestvér csoportok léte miatt a méhcsalád *superorganizmusnak* tekintendő.

A mézelő méhekre általánosan a szüznemzés jellemző (kivétel a fokföldi méh, az *Apis mellifera capensis*) (Ruttner, 1988, Szalainé, 2002). Az anya és a dolgozó méhek nőtények, a megtermékenyített petéből fejlődnek és diploid kromoszómaszámmal rendelkeznek ( $2n=32$ ). A herék hímek, megtermékenyítetlen petéből fejlődnek, kromoszómaszámuk haploid ( $n=16$ ). A heréknek nincs apjuk, partenogenetikusan csak az anyától származnak. Örökítő anyaguk összessége megegyezik az anyáéval, ezért a herék anyja a genetikai apa is egyben. A tenyésztés tehát genetikailag egyaránt lehetnek anyák és apák (Vékey, 1984b, Zakar és munkatársai, 2014).

A heréknek csak fél kromoszómakészletük van, azt az anyától és nagyanyától kapják. Az anya örökletes tulajdonságai már az első nemzedékben megnyilvánulnak, a heréknél tisztán, a dolgozóknál a partner herék tulajdonságaival kombinálva. Mindez a tény fontossá teszi a herék nevelését a tenyésztői munka során.

A herék haploid volta előnyös és hátrányos is lehet a méhtenyésztésben. A haploid kromoszómaszám miatt soha nem lehetnek hibridek, ugyanakkor két méhfajta vagy azonos fajta két vonalának keresztezéséből származó anyák hibridnek tekinthetők. A haploiditás okozza, hogy a hereméh spermája genetikailag egynemű. Az anya egyetlen gamétája (megtermékenyítetlen petéje) több millió, azonos genotípusú gamétává (spermasejtté) sokszorozódik a here testisében a gametogenezis során (Vékey, 1984a).

A méhanya szaporodási teljesítménye elérheti a napi 2000 petét. A petezés megkezdése előtt az anya 6–10 herével is párosodhat. Párazás után a hímivarsejteket a magtarisznyájában raktározza. A herék hat hétig élnek (tavasztól a nyár végéig) és egyetlen feladatuk a fiatal anyák megtermékenyítése. Csak egyszer képesek párizni. A nász a levegőben, olykor több kilométer távolságra az anya és a here családjától, egy ún. heregyülekező helyen történik (Ruttner, 1966).

A levegőben történő természetes párazás esetén supercsaládként fogható fel az a család, amely több alcsaládból áll (Rothenbuhler, 1960). A supercsaládnak közös anyja van és minden alcsaládnak egy apja. Mivel az egyes hereméhek rájuk jellemző genetikai anyagot adnak át utódaiknak (leányaiknak), ezért az egy alcsaládnak tartozó méhek jobban hasonlítanak egymásra, mint a supercsaládon belüli egyes alcsaládok egyedei.

A párazás eredményeként 75%-ban rokonok egymással az azonos anyától (herétől) származó dolgozók az ún. szupertestvér csoporton belül. 25%-ban rokonok egymással a különböző anyától (herétől) származó dolgozók (féltestvérek), az ún. szupertestvér csoportok egymás között. Az alcsaládok mérete nem feltétlenül azonos, népességük egymáshoz való aránya állandóan változik, mert az anya magtarisznyájában a spermasejtek nem véletlenszerűen összekeveredve

helyezkednek el. Ezért az a méhcsalád, melynek anyja többször párizott, genetikailag eltérő összetételű supercsaládnak tekinthető (Cale, 1979).

A méhek genetikája nagyon sok új ismerettel gyarapodott, ugyanakkor az öröklődés számos alaptörvénye a méheknél is érvényes. Ilyen az uniformitás törvénye, a génkicserélődés, a poligénia, a pleiotrópia, a plazmatikus öröklődés és a modifikáció. Nagy jelentőséggel bír a mutáció, melynek megjelenési formái a szem színében és alakjában, a test színében, a szárny alakulásában és erezetének változásában mutatkozik meg.

Az öröklődési sajátosságok szerepe közvetlenül vagy közvetve játszik fontos szerepet a génmegőrzésben. A szemszín öröklődése, a tisztogató viselkedés genetikája, a betegségekkel szembeni rezisztencia, ellenálló képesség növelése és a virápgorgyújtás területén számos eredményes kísérletet végeztek, amelyeket felhasználhatunk a tenyésztésben és a génmegőrzésben (Rothenbuhler, 1964; 1968; Nye és Mackensen, 1965; 1969; Cale és Gowen, 1964; Shimanuki és munkatársai, 1967).

A szárny mutációjának a mézelő méheknél eddig öt fajtája ismert (Kerr és Laidlaw, 1956), míg a szem alakjának három mutációja ismeretes (Laidlaw és munkatársai, 1964). A krajnai fajtában a szárnyerezet esetében 10 rendellenességet figyeltek meg (Szalainé és munkatársai, 1992).

### Molekuláris genetikai markerek és genomvizsgálatok méheknél

A pannon méh génmegőrzése sokrétű feladatot jelent. Míg más fajokban a terület határai, izolációja biztosítja egy állomány viszonylag zárt, önmagában történő genetikai formálódását, fejlődését – olykor irányított tenyésztés nélkül is –, addig ez a méheknél kétséges, a sajátos párizási folyamatok miatt. A szaporodási sajátosságok és a méhsűrűség igen nagy hatást gyakorolnak egy tenyésztés genetikai sajátosságaira. Ezért különösen fontos a folyamatos fajtajelleg-vizsgálat, hogy hosszú távon csökkentsük a tenyészállományokban a fajtaidegen gének öröklődését.

A HÁGK Méhészeti és Méhbiológiai Intézetében néhány éve megkezdődtek a molekuláris genetikai diverzitásvizsgálatok. Magyarországon Zakar és munkatársai (2014) végeztek vizsgálatokat a hazai mézelő méh populációiban megjelenő idegen fajták kimutatására genetikai markerekkel, valamint a fajtajelleg-vizsgálati paraméterek felhasználásával. Vizsgálataik során megállapították, hogy a fajtán belül is számos karaktert lehet megkülönböztetni az egyes állományoknál. Kilenc polimorf mikroszatellit marker alkalmazásával bizonyították, hogy a magyar mézelőméh-populációk közel egységesek (93,6%), melyben 2,5%-ban az *Apis m. ligustica*, 2,1%-ban az *Apis m. mellifera* és 1,7%-ban a *Buckfast* hibrid egyedei jelennek meg. A honos méhen belül nagyfokú heterozigotitást állapítottak meg (Hidas és munkatársai, 2004, Révay és munkatársai, 2009), ezért hazánkban a beltenyésztettség nem járul hozzá a leromláshoz. Honos pannon méhünk védelme és génmegőrzése érdekében nagy előrelépést jelentene hazai méhünk genomjának teljes körű feltérképezése (Zakar és munkatársai, 2014). Az *Apis* nem teljes genomszekvenciáját egy 2006-ban készült tanulmány mutatta be (*The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006*).

A génmegőrzést tájegységenként kialakított géncentrumokban lehetne végezni, ahol megfelelő méhlegelő területek állnak rendelkezésre és korlátozott a vándorméhészek letelepedése.



## A pannon méh *in vivo* génmegőrzése

A mézelő méh biológiai sokféleségét *Ruttner (1988)* mérte fel fajtajelleg-vizsgálatok alapján. 1988-ban a fajon belül 24 fajtát különböztettek meg, ezen belül pedig három evolúciós származású vonalat különítettek el.

A mézelő méh fajtabélyegeit a XIX. század végén kezdték vizsgálni. Ezen jellemzők megkülönböztetésének alapját Kozsevnyikov orosz tudós rakta le 1900-ban (*Akác, 1980*). Hazánkban az első tudományos vizsgálatot a mézelő méh fajtabélyegeinek kapcsán *Örösi Pál Zoltán* végezte 1934-ben Debrecenben. Fajtabélyeggel kapcsolatos kutatásokat Gödöllőn *Bakk Ferenc* folytatott (1952–1955 között). 1976-ban a gödöllői Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet (ÁTK) Méhtenyésztési Osztályán folytatták a kutatásokat, ahol a cél a tiszta krajnai fajtabélyegű és kiváló termelési tulajdonságú családok kiválogatása volt. A morfológiai vizsgálatok idővel rendszeressé váltak. A tenyésztéket a jó fajtabélyegeken kívül azonban a méhanya petéző képessége és a család szorgalma is befolyásolja (*Akác, 1980*). *Gromisz és Skowronek (1975)* szerint a leggyakrabban használt morfológiai jegyek a cubitalis index, a szipóka hossza, a discodiális távolság, valamint a harmadik és a negyedik potrohgyűrű szélessége. *Bornus és munkatársai (1966)* fontos bélyegként említik az első szárny hosszát, a kapcsolóhorgok számát, a színezetet és a test szőrözöttségét (*Zakar és munkatársai, 2013*).

A Magyarországon honos pannon méh (*Apis mellifera carnica pannonica*) genetikai védelme különösen fontos az engedély nélkül behozott idegen és tájidegen fajták, hibridek miatt (35. kép).

Az EU más országainak tenyésztelepeiről származó idegen méhfajták (olasz méh, Buckfast hibrid) külső megjelenésükben, viselkedésükben, áttelelési képességükben és még számos, a termelést közvetlenül vagy közvetve befolyásoló tulajdonságukban különböznek hazai méhünkötől. Az ezekről a telepekről származó méhanyak heréi idegen génállománnyal fertőzhetik a hazai pannon méhállományt. Azonban honos méhünk fennmaradása szerencsére még közel sem veszélyeztetett annyira, mint a szomszédos országok állományai, köszönhetően a szigorú rendeleti szabályozásnak és a folyamatos fajtajelleg-vizsgálatoknak. Az utóbbi évek tapasztalatai alapján mégis elmondható, hogy veszély fenyegeti a pannon méhet, amit a fajtajelleg-vizsgálati eredmények is mutatnak.

Hazánkban a pannon méhanyak tenyésztését, fenntartását és forgalmazását a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (MMOE) végzi a szervezet tagjainak tenyésztelepein, elfogadott tenyésztési program szerint, jogi (rendeleti) és intézményi háttérrel (*Szalainé, 1994; 1996*). Az MMOE jelenleg 75 fővel, országsszerte mintegy 78 telephellyel működik. Az 1982 óta ellenőrzött keretek között működő mai tenyésztő szervezet méhállományát jelenleg több mint 12 ezer méhcsalád alkotja. Nukleusztelepet 7 megyében alakítottak ki, melyek speciális rotációs szelekcióval



35. kép. Pannon méhanya dolgozói körében (Fotó: Ancsin Zsolt)

biztosítják a génmegőrzést. Az új gén vérfriessítés céljából történő beáramlását (immigrációt) a rendszerbe az újonnan létrehozott méhanyanevelő telepek biztosítják. Esetükben minimum 5 év tenyésztői munka után kerülhet az állomány, illetve a törzskönyvezett méhanyak családja a nukleuszprogramba. Ennek további feltétele, hogy a tenyésztő fajtajelleg-vizsgálatra beküldött mintái megfeleljenek az előírt határértékeknek.

A szelekciós munka rendjét a 123/2005. (XII. 27.) FVM rendelet a tenyésztő szervezeti és fajtaelismerés rendjéről, az MMOE belső szabályzata és a Tenyésztési Program irányelveinek betartása biztosítja (*Szalainé, 2009*). A telepek a tenyésztést irányítottan, a termelési eredmények értékelésével végzik, hatósági ellenőrzés mellett. A vizsgálat alapjául a *Méh teljesítményvizsgálati kódex (2003)* szolgál. A méhtenyésztők szelekciós munkáját a HÁGK Méhészeti és Méhbiológia Intézetében évenkénti rendszerességgel végzett fajtajelleg-vizsgálatok egészítik ki. A telepeken csak az előbbi vizsgálatokon megfelelt tenyészanyag biztosíthatják a következő évi anyai vonalat. A törzsanymak évente cserélődnek, azaz származásuk %-os megoszlása a telep évenkénti méhanya-csere ütemétől függ, mely általában 60–70% között változik. A nemesítés során a rokontenyésztés klasszikus módszereit alkalmazzák szigorú utóellenőrzéssel. A méhekre jellemző szűznemzés, illetve az ivari determináció miatt a nemesítést 1–4 évente 80%-ban cseppvér-kereszteléssel egészítik ki (*Szalainé, 1999*). A tenyészanyag (leánytestvér-utódok) csoportjai (F1) több évi szelekció és tenyészértékbecslés után vehetnek részt a párzásban.

### A pannon méh tenyésztési programja

A pannon méh szelekcióját Magyarországon kifejezetten a méhekre vonatkozó rendeletek és előírások szabályozzák. Az ezek alapján kidolgozott *Tenyésztési program* megvalósításának szakaszai több részre oszthatóak és nyomon követhetőek.

Az üzemi saját teljesítményvizsgálatot minden telep köteles elvégezni, ami telepenként min. 15 családot jelent 2 éves időszakban. A tenyésztők a méhcsalád termelési eredményeit és az ezeket közvetlenül és közvetve meghatározó viselkedési tulajdonságokat is (méhek kezelhetősége, lépről lefutása, anyabölcsők száma stb.) kaptárlapokon vezetik.

Az egyes méhanyanevelő telepek méhészeti technológiájáról, a méhcsaládok kezeléséről, a termeltetési, tenyész kiválasztási szokásokról, a méhanyanevelői, pároztatási és egyéb előkészületekről, illetve technikákról a Méhtenyésztési üzemleírás ad részletes tájékoztatást. Ezt a dokumentációt az MMOE adminisztrációban tartják nyilván, és az újonnan belépő tagoknál telephelyenként kötelezően beiktatásra kerül.

A további vizsgálatok a Központi Teljesítményvizsgáló Telepeken (KTV) történnek, ahol évente mintegy 200–250 méhanyát vizsgálnak szigorú előírások szerint. A KTV az egyes tenyésztelepeket 2–3 évente érinti. Ekkor egy tenyésztő telep 1 törzsanymától származó 10 db párzott leánytestvér méhanyát küld be tesztelésre.

A KTV telepi vizsgálatok és az eredmények értékelése 11 hónapot vesz igénybe. A vizsgálat összesen 3 telephelyen zajlik párhuzamosan, ahol a telep vezetői a beállított méhcsaládokkal az adott területre jellemző hordási körülményeket használják ki (nem vándorolnak). A telepeken gyűjtött adatok összehasonlítása révén a tenyésztésvezető rövid értékelést és elemzést készít az MMOE közgyűlés és a hatóság részére. A folyamatosan működő programba a méztermelési eredmények, az állományátlagot meghaladó értékek (min. 130%), illetve a saját

teljesítményvizsgálatok összes pontszáma alapján az MMOE egyes telepei által nevelt törzsanymű leányutódai kerülnek. A vizsgálat alapja tehát az egy telephelyről, egy törzskönyvezett tenyészanyműtől származó 10 frissen párzott leánytestvér méhanya.

A nemesítés során alkalmazott tenyészértékbecslés módszere az üzemi és a központi teljesítményvizsgálatokon alapul. Az értékelésnél kizáró ok lehet néhány viselkedési forma, pl. az erős támadó hajlam, a rajzó hajlam és a higiénias viselkedés hiánya. Folyamatosan vizsgálni kell a méhcsaládok mézhozamát és a bejelentési kötelezettség alá tartozó méhbetegségekre utaló jeleket. A teljesítményvizsgálatban résztvevő telepek közül azoknak az eredménye értékelhető egyedileg, amelyekből a beküldött 10 családból legalább 7 eredményesen fejezte be a szezonális vizsgálatokat. Az ennél kevesebbet elért csoportot (telepet) ki kell zárni az értékelésből. Telepenként meghatározásra kerül a teljesítményvizsgálati átlag és szórás, illetve a telepek relatív értéke a teljesítményvizsgálat átlagához viszonyítva.

A szelekciós munkákat a fajtajelleg-vizsgálatok egészítik ki. A telepeken előkészített 15–20 továbbtenyésztésre javasolt méhcsaládból évente kiválasztják a továbbtenyésztésre alkalmas családokat az üzemi teljesítményvizsgálati eredmények alapján. A mintavétel alkalmanként 5 méhcsalád dolgozó egyedeit érinti. A HáGK Méhészeti és Méhbiológiai Intézet az elvégzett vizsgálat eredményei alapján szakintézeti véleményt (törzskönyvi számot) ad ki.

### **A mézelő méh párzásbiológiája**

A méhanya kikelése után 2–5 nap múlva válik ivaréretté, ezután kerül sor a nászrepülésre. A szűz anya párzása a herékkel a kaptártól 1–3 km távolságra a levegőben, a pannon méhre jellemző 15–20 m magasságban, az ún. heregyülekező helyen történik.

A párzás aktusát ritkán lehet megfigyelni. Az anya ilyenkor egy, de általában több herével is párzik. A tenyészanyag kiválasztódása a herék versenye révén történik, így csak a legrátermettebbek képesek az anyával párzani. A méhanya párzási ösztöne az egyszeri vagy többszöri párzás után fejeződik be, nem jelentkezik újra, és a 2–4 éves élete további részében nem kerül sor újabb nászrepülésre (*Laidlaw és Eckert, 1968*).

A tenyészanyag kiválasztása a tenyésztési program kritikus része. A vizsgálat során mérni kell a tenyészértéket, azaz a családok közvetlen és közvetett, termelést meghatározó tulajdonságait. A tenyészanyag teljesítőképeségét folyamatosan kell vizsgálni. Ez azért fontos, hogy a termelő családok élén lévő nőnemű utódok is megfigyelhetők legyenek. Azok lehetnek tenyészanyagok, amelyek a két év után a legjobbak, azaz kimutatták teljesítőképeségüket, és bebizonyították, hogy jó tulajdonságaikat utódaikra át tudják örökíteni (*Laidlaw és Eckert, 1968*). Ebben az örökítésben fontos szerep jut a heréméhre, így azok előkészítése a származás ismeretében komoly feladat (*Szalai és munkatársai, 1986*). A pározott telepek mellett fontos szerep jut a herebankokra is, amelyek egyben a méhek mesterséges termékenyítésének alapjául szolgálnak (*Szalai és munkatársai, 1988*).

### **A méhanya mesterséges termékenyítése**

Az első írásos anyag a mézelő méheknel végzett sikeres mesterséges termékenyítésről 1927-ben jelent meg (*Watson, 1927*). A technikát az 1940–1950-es évek során tökéletesítették (*Cobey,*

*1983; Laidlaw, 1987*). Az eszközök gyorsan fejlődtek, tökéletesedtek az egyszerű, kézi manipulátoroktól az automata spermaadagoló készülékig (*Zsidei, 1987*). A mesterséges termékenyítés jelenleg rendkívül sikeres módszer a genetikai háttér ellenőrzésére és az állomány javítására (*Cobey, 2007*), jóllehet magát a termékenyítést nehéz elvégezni. A kereskedelembe történő bevezetése is nehéz a módszer összetettsége miatt, ezért főleg a tudományos kutatások során alkalmazzák (*Cobey és munkatársai, 2013*).

A méhanya mesterséges termékenyítésével Magyarországon eddig csak néhányan foglalkoztak. A hazai méhtenyésztők külföldi szakemberek segítségét veszik igénybe az inszeminációhoz. A mesterséges termékenyítés ugyanakkor a méhtenyésztés, nemesítés során nélkülözhetetlen (*Zsidei, 1987*), mivel ez az egyetlen módja, hogy ellenőrzött körülmények között, ismert származású apai vonallal történjen a genetikai szelekció. Pannon méhünk génmegőrzése, fajtafenntartása a hazánkban lévő nagy méhsűrűség miatt, mesterséges termékenyítés nélkül nem valósítható meg.

Az eljárás során az MMOE rendeleti szabályok szerint jár el (herebank létrehozása, a törzskönyvezés nyilvántartása, tenyésztésvezető irányítása, a méhegészségügyi felelősségvállalás, illetve a higiénia eljárások). A magyarországi inszeminációs programban évente 140–150 méhanyával, közel 20 tenyésztelep vesz részt. Az előkészítő munkát segítik a KTV telepek, az általuk tesztelt, kiemelkedő apai vonalából előkészített, ismert származású herevonallal (3–4 vonal/év biztosított).

A mesterséges termékenyítés egy megbízható módszer a mézelő méh párzásának ellenőrzéséhez, elengedhetetlen eszköz a kutatáshoz és a méhállomány javításához. Segítségével növelhetjük a méhcsaládon belüli genetikai diverzitást, ezen keresztül a méhcsalád állapotát, a túlélést az extrém környezeti feltételek során és a betegségekkel szembeni ellenálló képességet. Nélkülözhetetlen eszköze lehet a méhcsalád fejlődésének, jobb túlélést mutat betegségek esetén, fokozza a termelékenységet és az áttelelő képességet is (*Cobey, 2007*).

### **A pannon méh in vitro génmegőrzése**

A mézelő méh spermamélyhűtésének lehetőségét az 1970-es évektől kutatják változó és viszonylag kevés eredménnyel (*Harbo, 1977; 1983; Kaftanoglu és Peng, 1984*). Az *Apis mellifera* alfajai és ökotípusai esetében a spermamélyhűtés értékes eszköze lehet a különböző genotípusok *ex situ, in vitro* megőrzésének (*Wegener és munkatársai, 2014*). Ezért a világ több részén kutatják a mézelő méh hímvarsejtek mélyhűtéses megőrzésének lehetőségét (*Wegener és Bienefeld, 2012*). A korábbi kísérletek során, amikor a mesterséges termékenyítéshez mélyhűtött/felengedett ondót használtak, a dolgozó-here arány nem volt megfelelő a kaptárban, holott ez elengedhetetlen egy jól működő méhcsalád fenntartásához (*Harbo, 1983; Kaftanoglu és Peng, 1984*). Csak a közelmúltban végzett ondómélyhűtési kísérletek mutatnak ígéretes eredményeket (*Taylor és munkatársai, 2009; Hopkins és Herr, 2010; Hopkins és munkatársai, 2012; Wegener és Bienefeld, 2012; Wegener és munkatársai, 2012; Wegener és munkatársai, 2014*). A korábbi gyakorlat szerint a hígítás során leggyakrabban 40% ondót és 60% Kiev hígítót alkalmaztak (*Kaftanoglu és Peng, 1984*). *Taylor és munkatársai (2009)* vizsgálataik során megállapították, hogy az ondó 3-szorosnál nagyobb hígítási aránya kedvezően befo-

lyásolja a spermiumok túlélését a mélyhűtés/felengedés során, valamint így nagyobb számú anyát lehet termékenyíteni.

Az elmúlt években több krioprotektánsot teszteltek a méh ondójának mélyhűtésénél. Érdekes tény, hogy a más állatfajoknál jó eredménnyel alkalmazott glicerolt a méhspermiumok egyáltalán nem tolerálják (Curry, 2007). Hopkins és Herr (2010) összehasonlítva a különböző krioprotektánsokat, a DMSO-t találta a legkevésbé toxikusnak, azonban 15%-ban alkalmazva már a DMSO is károsítja a sejteket. A méhspermiumok mélyhűtése során a lassú, dinamikus hűtés mutatkozott a legmegfelelőbbnek. Az újabb vizsgálatok eredményeként egy speciális módszerrel 90%-ban találtak életképes spermiumokat a felolvasztás után. Magas életképességű és motilitású spermiumokat többször nyertek már vissza felengedést követően, azonban az ilyen spermiumok termékenyítőképesége mindig alacsony volt (Wegener és Bienefeld, 2012). A mélyhűtött ondóval termékenyített méhanya munkás fiasítás mennyisége (megtermékenyített peterakás produkciója) az egyetlen megbízható mérőeszköze a mélyhűtött ondóval történő termékenyítésnek. A spermamélyhűtés az *ex situ, in vitro* génmegőrzés egyik lehetséges módszere, mellyel elkerülhetjük a tenyésztési szezon vagy az időjárás limitáló tényezőit, azonban a mélyhűtött spermiumok a méhanya magtarisznyájában nem maradnak ugyanolyan sokáig életképesek, mint a friss spermiumok (Hopkins és munkatársai, 2012). Ráadásul viszonylag kevés irodalom foglalkozik a méhondó felolvasztásának optimalizálásával (Peng és munkatársai, 1992; Taylor és munkatársai, 2009; Hopkins és Herr, 2010; Wegener és Bienefeld, 2012).

A betegségekkel szemben ellenálló vonalakban alkalmazható ondómélyhűtési technikák iránt is jelentős érdeklődés mutatkozhat az *Apis mellifera* fajon belüli biodiverzitás fenyegetettsége, a nagymérvű méhcsaládupsztlulás és ezzel a méhtenyésztésre nehezedő nyomás miatt (Wegener és Bienefeld, 2012).

Intézetünkben az elkövetkező években kívánjuk megkezdeni az eddigi kutatási eredmények felhasználásával és a technikák fejlesztésével, a hazánkban honos izzó méh spermabankjának kialakítását.

## Irodalomjegyzék

- Akác J. (1980): Méhünk fajtavizsgálata. Méhészet 28(7): 123.
- Bakk F. (1955): A magyarországi mézelőméh fajtavizsgálata. Méhészet 3 (12): 223-227.
- Bornus, I., Demianowicz, A., Gromisz, M. (1966): Morfometryczne badania krajowej pszczoły miodnej. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe 10(1-4): 1-46.
- Bross (2011): Méhek, mézek, méhészek. Méhészet 59(1): 6-7.
- Cale, G., Gowen, J. (1964): Gamete backcross matings in honey bee. Genetics 50: 1443-1446.
- Cale, G., Rothenbuhler, W. (1979): Genetics and breeding of the honey bee. The hive and the honey bee. Dadant and Sons, Hamilton, Illinois, USA
- Cobey, S. (1983): The development of instrumental insemination. American Bee Journal 123: 108-111.
- Cobey, S. (2007): Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. Apidologie 38: 390-410.
- Cobey, S., Tarpy, D., Woyke, J. (2013): Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. Journal of Apicultural Research 52: 1-18.

- Curry, M. R. (2007): Cryopreservation of mammalian semen. Methods in molecular biology, vol. 368, Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Eds. Day, J. G., Stacey, G. N., Humana Press, Totowa, New Jersey, USA. 303-311 p.
- Gromisz, M., Skowronek, W. (1975): Ocena przesuniecia dyskoidalnego w systmatyce pszczoły miodnej. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe 19: 93-119.
- Gubicza A. (1981): Dolgozó méhek küllemi tulajdonságainak vizsgálata a tenyészanyag kiválasztása céljából. Méhészet 29(6): 105.
- Harbo, J. R. (1977): Survival of honey bee spermatozoa in liquid nitrogen. Annals of the Entomological Society of America 70: 257-258.
- Harbo, J. R. (1983): Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa after 2 years in liquid nitrogen (-196 °C). Annals of the Entomological Society of America 76: 890-891.
- Hidas, A., Edviné M., E., Szalai, M. E. (2004): Molecular genetic studies on honeybee of different varroa tolerance. Proceedings of the First European Conference of Apidology. EurBee Conference, September 19-23, Udine, Olaszország. Proc. 33.
- Hopkins, B. K., Herr, C. (2010): Factors affecting the successful cryopreservation of honey bee (*Apis mellifera*) spermatozoa. Apidologie 41: 548-556.
- Hopkins, B. K., Herr, C., Sheppard, W. S. (2012): Sequential generations of honey bee (*Apis mellifera*) queens produced using cryopreserved semen. Reproduction, Fertility and Development 24(8): 1079-1083.
- Horváth J., Szalai T., Szalainé M. E. (2013a): Hazai Pannon méhünk 1. Méhészet 61(4): 10-11.
- Horváth J., Szalai T., Szalainé M. E. (2013b): Hazai Pannon méhünk 2. Méhészet 61 (5): 10-11.
- Kaftanoglu, O., Peng, Y. S. (1984): Preservation of honeybee spermatozoa in liquid-nitrogen. Journal of Apicultural Research 23: 157-163.
- Kerr, W. E., Laidlaw, H. H. (1956): General genetics of bees. Advances in Genetics 8: 109-153.
- Kovács I., Szalainé M. E., Molnár J., Suhajda J., Kovács K. (1995): Méh teljesítményvizsgálati kódex. Hungapig Nyomda, Budapest
- Kovács I., Szalainé M. E., Molnár J.-né, Suhajda J., Kovács K. (1996): A méhek teljesítményvizsgálatának kódexe. Méhésztudomány 43(6): 7-10.
- Laidlaw, H. H., el Banby, M. A., Tucker, K. V. (1964): Five new eye colour mutants in the honey bee. Journal of Heredity 55: 207-210.
- Laidlaw, H. H., Eckert, Jr. E. (1968): Méhanya-nevelés. Mezőgazdasági kiadó, Budapest
- Laidlaw, H. H. (1987): Instrumental insemination of honeybee queens – Its origin and development. Bee World 68: 17-36.
- Mackensen, O., Nye, W. P. (1969): Selective breeding of honey bees for alfalfa pollen collection. Sixth generation and outcrosses. Journal of Apicultural Research 8(1): 9-12.
- Molnár J. (1981): Tenyésztés-Anyanevelés. Anyák és méhcsaládok teljesítményvizsgálata. Méhészet 29 (4): 66.
- Nye W. P., Mackensen, O. (1965): Preliminary report on selection and breeding of honeybees for alfalfa pollen collection. Journal of Apicultural Research 4(1): 43-48.
- Peng, C. Y. S., Yin, C. M., Yin, L. R. S. (1992): Effect of rapid freezing and thawing on cellular integrity of honey bee sperm. Physiological Entomology 17: 269-276.
- Pritsch, G. (2005): Kaposvári Méhésznapiak. Szóbeli közlés
- Révay T., Török É., Bodzsár N., Zajác E., Békési L., Szalai-Mátray Enikő, Hidas A. (2009): Genetic diversity of Hungarian honeybee colonies based on morphological and RAPD markers. COLOSS Work Shop New Molecular Tools, May 19-21, Bern, Svájc. 24. p.
- Rothenbuhler, W. C. (1960): A technique for studying genetics of colony behavior in honey bees. American Bee Journal 100: 176-191.
- Rothenbuhler, W. C. (1964): Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. VI. Responses of F1 and Backcross Generations to Disease-Killed Brood. American Zoologist 4(2): 111-123.
- Rothenbuhler, W. C., Kulincevic, J., Kerr, W. (1968): Bee genetics. Annual Review of Genetics 2: 413-438.
- Ruttner, F. (1966): The life and flight activity of drones. Bee World 47(3): 93-100.
- Ruttner, F. (1988): Biogeography and taxonomy of honeybees. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York



- Shimanuki, H, Lehnert, T., Stricker, M. H. (1967): Differential collection of cranberry pollen by honey bees. *Journal of Economic Entomology* 60:1031-1033.
- Suhayda J. (1980): Teljesítményvizsgálat. *Méhészet* 28(5): 86-87.
- Szalai M. E. (1994): Tenyésztési program. *Méhészet* 42(1): 14.
- Szalai M. E. (1999): Mézelő méh fajtán belüli tenyésztése. *Állattenyésztés és takarmányozás*. 48(6): 874-877.
- Szalai M. E. (2002): Méh. *Gazdasági állataink – Fajtan*. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Szalai-Mátray E., Pacs I.-né (1986): Herék nevelése pároztatásra. *Méhészet* 34(6): 3.
- Szalai M. E., Pacs I.-né (1988): A méhanyak mesterséges termékenyítése. *Méhészet* 36(7): 10-11.
- Szalai M. E., Halmágyi L., Molnár J.-né (1992): A szárny sejterezetének rendellenességei mézelő méhnél (*Apis mellifera carnica*). *Állattenyésztés és Takarmányozás* 41(5): 417-425.
- Szalai M. E., Molnár J.-né, Pacs Zs. (1996): Breeding program for *Apis mellifera carnica* densely areas of Hungary. III. Symposium: Honeybee and beekeeping in densely populated Middle Europe, Olsztyn, Poland.
- Szalai M. E., Kováts K., Békési L. (2009): Génmegőrzés a méhészetben. Országgyűlés Mezőgazdasági Bizottság kiadványa: Tájgazdálkodás, tájfajták, génmegőrzés. 186-187 p.
- Taylor, M. A., Guzmán-Novoa, E., Morfin, N., (2009): Improving viability of cryopreserved honey bee (*Apis mellifera L.*) sperm with selected diluents, cryoprotectants, and semen dilution ratios. *Theriogenology* 72(2): 149-159.
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium (2006): Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature* 443: 931-949.
- Vékey Á. (1984a): A méhcsalád genetikája. *Méhészet* 28(2): 4.
- Vékey Á. (1984b): Citogenetika. *Méhészet* 28(3): 3.
- Watson, L. R. (1927): Controlled mating of queenbees. Hamilton, Illinois, USA
- Wegener, J., Bienefeld, K. (2012): Toxicity of cryoprotectants to honey bee semen and queens. *Theriogenology* 77(3): 600-607.
- Wegener, J., May, T., Knollmann, U., Kamp, G., Muller, K., Bienefeld, K. (2012): *In vivo* validation of *in vitro* quality tests for cryopreserved honey bee semen. *Cryobiology* 65: 126-131.
- Wegener, J., May, T., Kamp, G., Bienefeld, K. (2014): A successful new approach to honeybee semen cryopreservation. *Cryobiology* 69 (2): 236-242.
- Zakar E., Zajác E., Rác T., Oláh J., Jávora A., Kusza Sz. (2013): A hazai mézelő méh (*Apis mellifera L.*) populációk fajtajelleg vizsgálata. *Agrártudományi Közlemények, Acta Agraria Debreceniensis* (51): 59-63.
- Zakar E., Oláh J., Kusza Sz. (2014): Vizsgálatok a méhfajták azonosításáért. *Méhészet* 62(4): 18-19.
- Zsidei B. (1987): Méhanya-nevelés. Akadémiai kiadó, Budapest
- Zsilinszky L., Demeterné P. T., Szalai M. E., Suhajda J., Kováts K., Harangozó L. (2003): Méh teljesítményvizsgálati kódex. OMMI Nyomda, Budapest